

# L'endothéline : pharmacologie cardiovasculaire et considérations physiopathologiques

Pedro D'Orléans-Juste  
Jean-Philippe Gratton  
Richard Leduc  
Ghassan Bkaily  
Audrey Claing

Les progrès dans la connaissance du système des endothélines, puissants peptides vasomoteurs produits par l'endothélium vasculaire, ont été spectaculaires, depuis leur biosynthèse grâce à l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE), jusqu'à la pharmacologie de leurs récepteurs, ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub>. La présence d'activités enzymatiques distinctes de l'ECE spécifiques de certains organes fait envisager le développement d'inhibiteurs sélectifs. Les récepteurs sur les cellules musculaires lisses vasculaires et sur les cellules endothéliales relaient, respectivement, des actions vasoconstrictrices (surtout ET<sub>A</sub>) et vasodilatatrices (essentiellement ET<sub>B</sub>). L'étude de la contribution des endothélines à la régulation du système cardiovasculaire et à l'étiologie de certaines affections vasculaires est l'objet d'une forte compétition car ces mises à jour pourraient conduire au développement d'agents thérapeutiques efficaces.

**L**es mécanismes qui régissent les propriétés paracrines et endocrines de l'endothélium vasculaire ont été analysés dans plusieurs milliers de publications scientifiques depuis le début des années 1980.

Il y a dix ans, qui aurait cru que cette simple monocouche cellulaire qui tapisse tous les vaisseaux sanguins joue un rôle si important dans la physiopathologie du système circulatoire? En fait, sa grande surface de distribution, sa localisation anatomique et les facteurs humoraux qu'elle sécrète confèrent à cette couche cel-

lulaire un rôle de premier plan dans les mécanismes d'homéostasie du tonus vasculaire et dans certaines anomalies du système circulatoire.

Le premier facteur endothélial connu a été la prostacycline, un inhibiteur de l'agrégation des plaquettes sanguines qui est en outre un puissant modulateur du tonus vasculaire systémique et pulmonaire [1, 2]. L'étude classique de Robert Furchgott a démontré par la suite que l'endothélium sécrète un facteur relaxant autre que les prostanoïdes, l'EDRF (*endothelium derived relaxing factor*) qui s'est révélé être le monoxyde

## ADRESSE

P. D'Orléans-Juste, R. Leduc : *chercheurs boursiers du Fonds de Recherche en Santé du Québec*. J-P. Gratton, A. Claing : *étudiants en thèse*. Département de pharmacologie. G. Bkaily : *chercheur boursier du Fonds de Recherche en Santé du Québec*. Département de physiologie et biophysique, Faculté de médecine, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, J1H 5N4 Canada.

## RÉFÉRENCES

1. Vane JR, Botting RM. Control of the circulation by vasoactive mediators from endothelial cells. *J Lip Med Cell Signal* 1994; 9: 1-8.
2. Corvol P, Alhenc-Gélas F, Soubrier F. L'endothélium, site de production et de métabolisme des peptides vaso-actifs. *médecine/sciences* 1993; 9: 1050-61.
3. Furchgott RF, Zawadzky JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
4. D'Orléans-Juste P, Dion S, Mizrahi J, Regoli D. Effects of peptides and non-peptides on isolated arterial smooth muscles: role of endothelium. *Eur J Pharmacol* 1985; 114: 9-21.
5. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5.
6. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyachi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2863-7.
7. Lotersztajn S. Les endothélines. *médecine/sciences* 1993; 9: 1084-93.
8. De Nucci G, Thomas R, D'Orléans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelin-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9797-800.
9. Denault JB, Claing A, D'Orléans-Juste P, Sawamura T, Kido T, Masaki T, Leduc R. Processing of proendothelin-1 by human furin convertase. *FEBS Lett* 1995; 362: 276-80.
10. Ihara M, Noguchi K, Saeki T, Fukuroda T, Tsuchida S, Kimura S, Fukami T, Ishikawa K, Nishikibe M, Yano M. Biological profiles of highly potent novel endothelin antagonists selective for the ET<sub>A</sub> receptor. *Life Sci* 1992; 50: 247-55.
11. Laporte S, Denault JB, D'Orléans-Juste P, Leduc R. Presence of furin mRNA in cultured bovine endothelial cells and possible involvement of furin in the processing of the endothelin precursor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: S7-10.

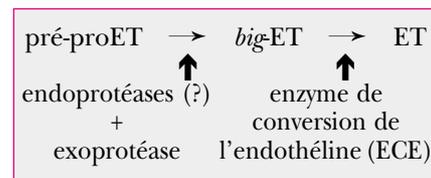
d'azote (NO). Le rôle essentiel de ce facteur labile dans les propriétés vasodilatatrices de plusieurs agents, tels l'acétylcholine, la substance P et la bradykinine, a été démontré dans des vaisseaux isolés de plusieurs espèces [3, 4].

Toutefois, il ne s'agit là que de deux des autacoïdes qui sont sécrétés de façon majoritairement constitutive par l'endothélium. Plusieurs autres facteurs ont été identifiés à partir des cellules endothéliales en culture (PAF (*platelet activating factor*), thromboxane, prostaglandine E<sub>2</sub>, interleukines, facteurs de croissance) (*figure 1*). L'influence de tous ces facteurs sur les fonctions sécrétoires de l'endothélium est complexe et importante à la fois puisqu'elle suggère que cette couche cellulaire possède ses propres mécanismes d'auto-régulation.

### La découverte de l'endothéline

Après la découverte de la prostacycline et de l'EDRF, l'endothélium normal fut longtemps perçu comme un ensemble homogène de cellules sécrétrices impliquées dans des phénomènes de vasodilatation.

En 1988, Masashi Yanagisawa extra-yaait, à partir de 40 litres de surnageants de cellules endothéliales d'aorte porcine en culture, un facteur thermolabile d'origine peptidique qui avait pour propriété d'induire une vasoconstriction très importante de l'artère coronaire porcine [5]. Intéressés par les puissantes propriétés vasoconstrictrices de ce facteur, Yanagisawa *et al.* ont poursuivi l'analyse biochimique moléculaire et génétique de ce peptide alors appelé endothéline-1 (ET-1) [5]. Par la suite, deux isoformes de l'ET-1 furent identifiées, l'ET-2 et l'ET-3 [6]. Il fut démontré que les trois endothélines sont codées par trois gènes distincts et qu'elles sont engendrées par un processus enzymatique identique [6, 7].



Dès 1988, nous avons rapporté que l'ET-1 induit une hypotension transitoire suivie d'un effet vasopresseur de longue durée lorsqu'elle est administrée par voie intraveineuse chez le rat anesthésié. Dans le cadre de cette première étude faite dans le laboratoire de Sir John Vane au William Harvey Research Institute (Londres), nous avons, en effet, rapporté que l'endothéline agissait sur l'endothélium lui-même en stimulant la libération d'autacoïdes, tels que le NO et/ou la prostacycline, qui agissent comme antagonistes physiologiques et autocrines des effets vasoconstricteurs puissants du peptide [8].

Contrairement aux cas d'autres peptides vasoactifs, tels les kinines, les neurokinines et l'angiotensine, la génétique de l'endothéline et de ses récepteurs s'est développée de concert avec les études fonctionnelles (pharmacologique, biochimique et immunologique), ce qui a permis de corréliser entre eux plusieurs concepts préalablement démontrés dans des systèmes pharmacologiques ou biochimiques à des études de biologie moléculaire.

### Voies de synthèse de l'endothéline

#### Rôle de la furine dans les voies de synthèse des endothélines

Nous avons récemment démontré qu'une convertase de type subtilisine, la furine, pouvait être responsable du clivage de la pré-proET-1 en big-ET-1 [9] (*figure 2A*). Puis, une enzyme de conversion de l'endothéline engendre l'ET-1 et un fragment carboxy-terminal inactif, la big-ET-1 (22-38). Comme il est montré dans la *figure 2B*, la protéine synthétisée dans des cellules BSC-40 à partir de l'ADNc de la pré-proET-1, induit des effets pharmacologiques sur l'artère carotide de lapin après incubation avec la furine et la chymosine. Dans ce dernier système, la protéine produite voit son effet vasoconstricteur aboli par un antagoniste sélectif des récepteurs ET<sub>A</sub>, le BQ-123 [10] (voir *Tableau 1*). Fait intéressant, la furine est constitutivement synthétisée dans les cellules endothéliales d'aorte bovine [11].

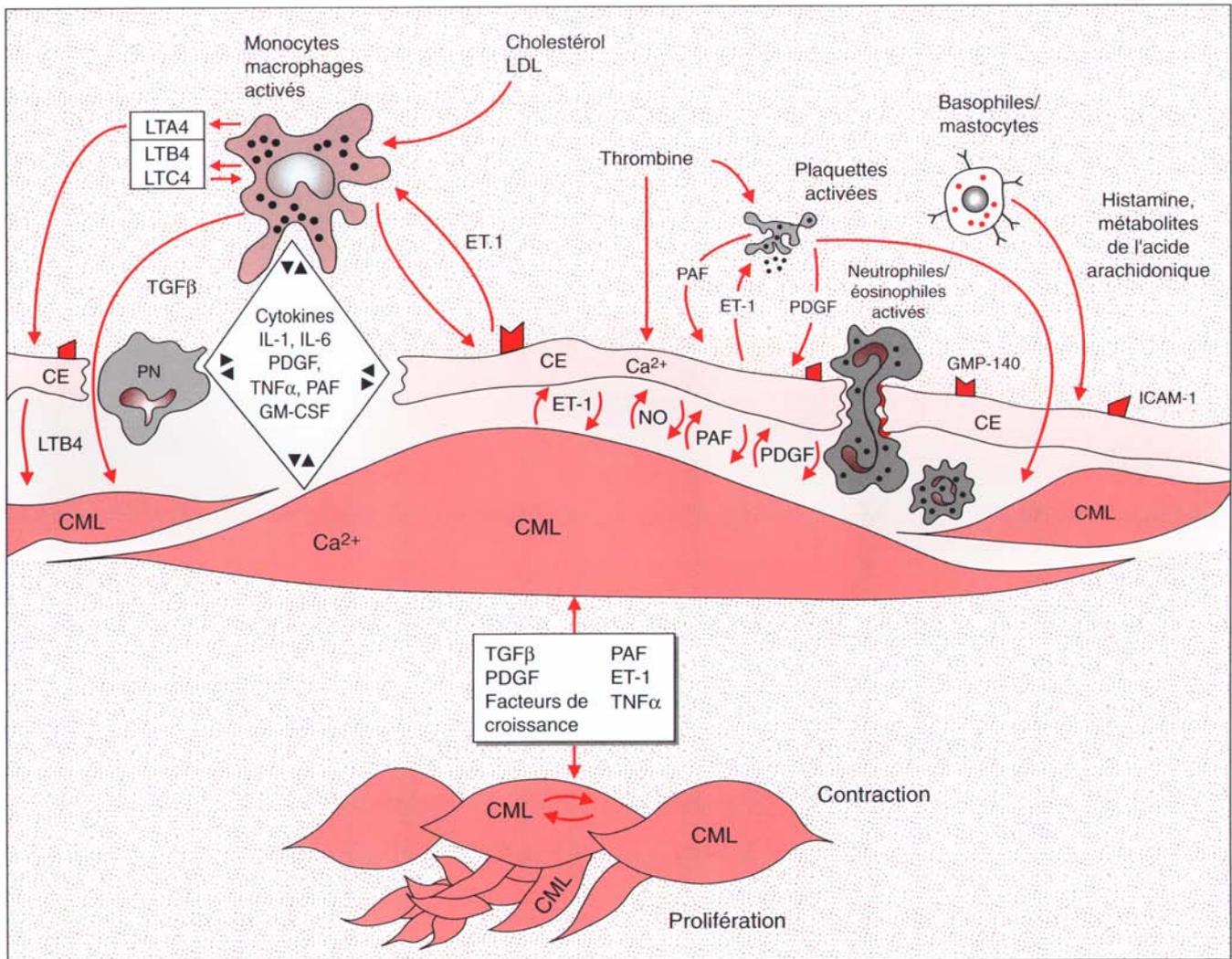


Figure 1. **Représentation schématique des interactions proposées et/ou connues entre les cytokines, les cellules endothéliales (CE) et du muscle lisse vasculaire (CML) avec plusieurs autres cellules dérivées du système immunitaire, telles que les polymorphonucléaires (PN) et autres leucocytes.** Les cellules stimulées du système immunitaire libèrent des leucotriènes, plusieurs cytokines (IL-1 et IL-6) et facteurs de croissance (facteur G), tels que le facteur de croissance dérivé de plaquettes (PDGF), le tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), le facteur activateur des plaquettes (PAF), le facteur stimulateur de colonies granulocytaires et macrophage (GM-CSF) et le transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ). Ces facteurs sécrétés agissent sur les différents composants du muscle lisse vasculaire qui, à leur tour, sécrètent des facteurs tels que l'EDRF et l'endothéline (ET). Quelques unes de ces cellules du système immunitaire peuvent se lier aux cellules endothéliales via des molécules d'adhérence telles la GMP-140 et ICAM-1 situées sur la membrane plasmique de l'endothélium activé lors de processus inflammatoires [64]. LTA4, LTB4, LTC4: leucotriènes A4, B4, C4; NO: monoxyde d'azote.

### Enzymes de conversion de l'endothéline

Chez l'homme, les endothélines-1, 2 et -3 sont dérivées de précurseurs de 38 (pour la big-ET-1 et 2) et 41 (pour la big-ET-3) acides aminés. Le groupe de Kashiwabara *et al.* a montré que la big-ET-1 et l'ET-1, aux mêmes doses, induisent *in vivo* des effets équivalents sur la pression artérielle [12]. En

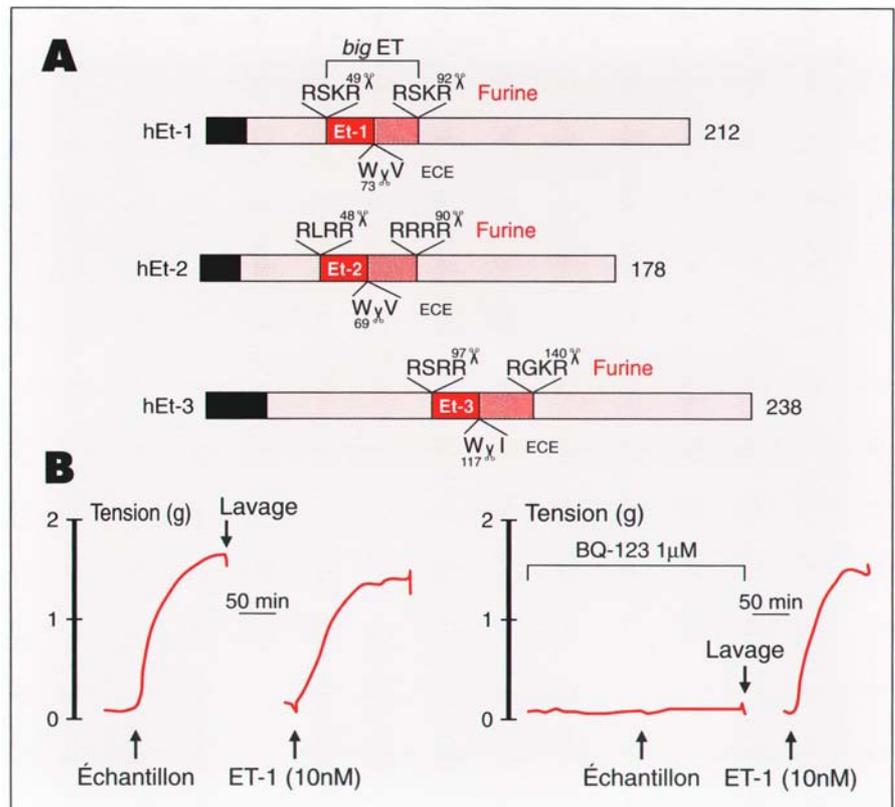
revanche, la big-ET-1 est environ 250 à 1 000 fois moins puissante que l'ET-1 comme agent vasoconstricteur sur les vaisseaux isolés. Cette observation a permis de suggérer qu'il existait *in vivo* une conversion dynamique du précurseur en son métabolite actif l'ET-1 [12].

En 1990, nous avons rapporté que la big-ET-1 est quasiment aussi active que l'ET-1 chez le lapin anesthésié et

que l'administration intraventriculaire gauche de la big-ET-1 induisait une augmentation de la concentration d'ET-1 circulante, probablement par conversion systémique du précurseur [13]. Ces observations ont été confirmées par Hemsén et Lundberg chez le porc et, plus récemment, chez l'homme [14]. L'utilisation d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE), le phospho-

## RÉFÉRENCES

12. Kashiwabara T, Inagaki Y, Ohta H, Iwamatsu A, Nomizu M, Morita A, Nishikori K. Putative precursors of endothelin have less vasoconstrictor activity *in vitro* but a potent pressor effect *in vivo*. *FEBS Lett* 1989; 247: 73-6.
13. D'Orléans-Juste P, Lidbury PS, Warner TD, Vane JR. Intravascular big endothelin increases circulating levels of endothelin-1 and prostanoids in the rabbit. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: R21-2.
14. Hemsén A, Ahlberg G, Ottosson-Seebéger A, Lundberg JM. Metabolism of big-endothelin-1 (1-38) and (22-38) in the human circulation in relation to production of endothelin-1 (1-21). *Regul Pept* 1995; 55: 287-97.
15. McMahon EG, Palomo MA, Moore WM, McDonald JF, Stern MK. Phosphoramidon blocks the pressor activity of porcine big-endothelin-1 (1-39) *in vivo* and conversion of big-endothelin-1 (1-39) to endothelin-1 (1-21) *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 703-7.
16. Télémaque S, Lemaire D, Claing A, D'Orléans-Juste P. Phosphoramidon-sensitive effect of big-endothelins in the perfused rabbit kidney. *Hypertension* 1992; 20: 518-23.
17. D'Orléans-Juste P, Lidbury PS, Télémaque S, Warner TD, Vane JR. Human big-endothelin releases prostacyclin *in vivo* and *in vitro* through a phosphoramidon-sensitive conversion to endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17: S251-5.
18. Rae GA, Calixto JB, D'Orléans-Juste P. Effects and mechanisms of action of endothelins on non-vascular smooth muscle of the respiratory, gastrointestinal and urogenital tracts. *Regul Pept* 1995; 55: 1-46.
19. Poulat P, D'Orléans-Juste P, de Champlain J, Yano M, Couture R. Cardiovascular effects of intrathecally administered endothelins and big endothelin-1 in conscious rats: receptor characterization and mechanism of action. *Brain Res* 1994; 648: 239-48.
20. Télémaque S, D'Orléans-Juste P. Presence of a phosphoramidon-sensitive endothelin-converting enzyme which converts big-endothelin-1, but not big-endothelin-3, in the rat vas deferens. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1991; 344: 505-7.
21. Lehoux S, Plante GE, Sirois MG, Sirois P, D'Orléans-Juste P. Phosphoramidon blocks big-endothelin-1 but not endothelin-1 enhancement of vascular permeability in the rat. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 996-1000.



**Figure 2. A. Représentation schématique des trois précurseurs de la famille des endothélines (h-ET) humaines.** Les trois pré-pro ET contiennent un site de reconnaissance de la furine RXX/RR (Arg-X-Lys/Arg-Arg) encadrant les portions big-ET. ECE indique l'enzyme de conversion de l'endothéline qui clive le polypeptide entre les résidus tryptophane (W) et valine (V) (ou isoleucine (I) pour la big-ET-3). Les séquences signal sont indiquées en noir et les portions rouges et roses indiquent les régions correspondant aux big-ET. Le nombre total d'acides aminés est indiqué à droite. R, Arg; L, Leu; S, Ser; K, Lys; G, Gly [10]. Les chiffres situés au-dessus et au-dessous des sites de clivage indiquent la position du résidu immédiatement en amont du site clivé. **B. Effet contractile de la pré-pro-ET-1 digérée par la furine et la chymosine (échantillon).** Contraction de l'artère carotide de lapin par l'échantillon en présence (droite) ou en l'absence (gauche) de l'antagoniste sélectif des récepteurs ET<sub>A</sub>, le BQ-123. Les échappillons témoins (tampon de digestion seul, la chymosine et la furine seulement), la pré-pro-ET-1 seule ou clivée par la furine seulement n'ont pas provoqué de réponse sur cette préparation [11].

ramidon [15], a permis d'identifier l'activité de l'ECE dans plusieurs organes: le rein, le poumon, le tractus gastrointestinal, le système nerveux central, l'appareil urogénital, la microcirculation, etc. [16-21]. Une étude récente de Corder et Vane [22] montre que, chez le rat, après administration intraventriculaire de big-ET-1, l'ET-1 n'est pas détectée dans la circulation sanguine. La conversion de la big-ET-1 en ET-1 serait donc un phénomène local, relayé par une enzyme située probablement sur la partie basale de

l'endothélium, ce qui permet une augmentation polarisée de la concentration d'ET-1 dans le tissu interstitiel sous-endothélial. Toutefois, ces observations chez le rat ne prennent pas en considération le fait que la big-ET-1 exogène puisse être convertie non seulement par l'ECE mais aussi par l'endopeptidase neutre 24.11 [23] dans cette espèce animale. L'absence d'élévation de l'ET-1 plasmatique chez le rat après administration de big-ET-1 pourrait donc être due à l'action locale d'autres entités enzymatiques que l'ECE. En dépit de

Tableau I		
CARACTÉRISTIQUES BIOCHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DES RÉCEPTEURS DES ENDOTHÉLINES		
Récepteur	ET <sub>A</sub>	ET <sub>B</sub>
Nombre d'acides aminés	427 (homme) 427 (bœuf) 426 (rat)	442 (homme) 441 (bœuf) 441 (rat)
Ordre de puissance des endothélines	ET-1 ≥ ET-2 >> ET-3	ET-1 = ET-2 = ET-3
Effecteurs	G <sub>q/11</sub>	G <sub>q/11</sub>
Mécanisme de transduction du signal	IP3/Ca <sup>2+</sup> /DG	IP3/Ca <sup>2+</sup> /DG
Agonistes sélectifs peptidiques	[Trp(For) <sup>21</sup> ]-ET-1	IRL 1620 BQ-3020 Sarafotoxin 6C (?)
Antagonistes sélectifs peptidiques	BQ-123 FR139317	BQ-788
Antagonistes non sélectifs peptidiques	PD147452 PD142893	
Agonistes sélectifs non peptidiques	–	RO 46-8443
Antagonistes sélectifs non peptidiques	BMS-182874	–
Antagonistes non sélectifs non peptidiques	Bosentan SB 209670	

IP3 : inositol triphosphate ; DG : diacylglycérol.

cette exception, dans plusieurs espèces animales (autres que le rat) et chez l'homme [14], l'administration intraveineuse de la *big*-ET-1 provoque généralement une augmentation des concentrations sanguines d'ET-1.

Récemment, les groupes de Shimada et de Yanagisawa [24, 25] ont identifié l'enzyme de conversion de l'endothéline comme une entité biochi-

mique distincte de l'endopeptidase neutre 24-11. En particulier, Shimada a rapporté l'étude de l'expression fonctionnelle de l'ECE dérivée des cellules endothéliales de la circulation pulmonaire de rat [24]. Cette enzyme possède une plus grande affinité pour la *big*-ET-1 que pour la *big*-ET-2 ou la *big*-ET-3, et a été très récemment identifiée chez l'homme [26]. Récemment, trois isoformes de

l'ECE (ECE-1a, ECE-1b, ECE-2) ont été caractérisées par leur structure moléculaire, leur localisation cellulaire et leur affinité pour les trois iso-peptides, les *big*-ET-1, 2 et 3 [25, 27, 28].

L'ECE-1a est localisée au niveau de la membrane plasmique et son domaine catalytique disposé sur la face externe de la cellule endothéliale [29]. Cette enzyme serait considérée comme l'entité physiologique prédominante impliquée dans la production d'endothéline-1. La localisation et la fonction des isoformes ECE-1b et ECE-2 demandent encore à être définies.

### L'ECE pulmonaire possède peu d'affinité pour la *big*-ET-2

Lorsqu'elle est administrée par voie intraveineuse chez le cobaye, la *big*-ET-1 induit une augmentation de la pression artérielle et de la résistance pulmonaire (pression d'insufflation pulmonaire). Ces deux effets de la *big*-ET-1 sont fortement réduits lorsque l'animal est prétraité par le phosphoramidon. Le précurseur de l'ET-2, la *big*-ET-2, est aussi un puissant agent hypertenseur sensible au phosphoramidon mais, contrairement à la *big*-ET-1, la *big*-ET-2 n'augmente pas la résistance pulmonaire [31] à des doses vasopressives supra-maximales chez le cobaye anesthésié. En outre, la *big*-ET-1, mais non la *big*-ET-2, stimule la libération de thromboxane bronchoconstricteur par le poumon perfusé de cobaye. A la suite de ces expériences, nous avons suggéré que, chez cette espèce animale, l'activité de l'enzyme de conversion de l'endothéline dans l'arbre vasculaire pulmonaire était différente de celle observée dans le circuit systémique. La faible affinité de l'ECE pulmonaire du cobaye pour la *big*-ET-2 peut donc expliquer son incapacité à induire des effets bronchoconstricteurs en relation avec son incapacité de stimuler la libération d'eicosanoïdes [31]. Cette caractéristique de l'ECE pulmonaire (faible affinité pour la *big*-ET-2) a également été retrouvée chez le rat [32].

Dans la *figure 3*, sont présentées les activités relatives de la *big*-ET-1 et de la *big*-ET-2 à celle de leur métabolite actif dans le rein et le poumon perfusé de lapin : les deux précurseurs

## RÉFÉRENCES

22. Corder R, Vane JR. Radioimmunoassay evidence that the pressor effect of big endothelin-1 is due to local conversion to endothelin-1. *Biochem Pharmacol* 1995; 49: 375-80.
23. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T. Effects of the neutral endopeptidase inhibitor, SQ28,603 on regional haemodynamic responses to atrial natriuretic peptide or proendothelin-1 [1-38] in conscious rats. *Br J Pharmacol* 1992; 106: 180-6.
24. Shimada K, Takahashi M, Tanzawa K. Cloning and functional expression of endothelin-converting enzyme from rat endothelial cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 18275-8.
25. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, DeWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyses the proteolytic activation of big-endothelin-1. *Cell* 1994; 78: 473-85.
26. Shimada K, Matsushita Y, Wakabayashi K, Takahashi M, Matsubara A, Iijima Y, Tanzawa K. Cloning and functional expression of human endothelin-converting enzyme cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 207: 807-12.
27. Emoto N, Yanagisawa M. Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. *J Biol Chem* 1995; 270: 15262-8.
28. Yorimitsu K, Moroi K, Inagaki N, Saito T, Masuda Y, Masaki T, Seino S, Kimura S. Cloning and sequencing of a human endothelin converting enzyme in renal adenocarcinoma (ACHN) cells producing endothelin-2. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208: 721-7.
29. Takahashi M, Fukuda K, Shimada K, Barnes K, Turner AJ, Ikeda M, Koike H, Yamamoto Y, Tanzawa K. Localization of rat endothelin-converting enzyme to vascular endothelial cells and some secretory cells. *Biochem J* 1995; 311: 657-65.
30. Kelly RA, Eid H, Kramer BK, O'Neill M, Liang BT, Reers M, Smith TW. Endothelin enhances the contractile responsiveness of adult rat ventricular myocytes to calcium by a pertussis toxin-sensitive pathway. *J Clin Invest* 1990; 86: 1164-71.
31. Gratton JP, Rae GA, Claing A, Télémaque S, D'Orléans-Juste P. Different pressor and bronchoconstrictor properties of human big-endothelin-1,2 (1-38) and 3 in ketamine/xylazine-anaesthetized guinea pigs. *Br J Pharmacol* 1995; 114: 720-6.
32. Gratton JP, Maurice MC, Rae GA, D'Orléans-Juste P. Pharmacological properties of endothelins and big-endothelins in ketamine/xylazine or urethane-anesthetized rats. *Am J Hypertens* 1995; 8: 1121-7.

sont aussi efficaces pour induire une vasoconstriction rénale chez le lapin. Par ailleurs, la *big-ET-2* est significativement moins puissante que la *big-ET-1* pour induire des effets vasoconstricteurs pulmonaires. La faible affinité de l'ECE pulmonaire pour la *big-ET-2* se retrouve donc chez trois espèces différentes, le cobaye, le rat et le lapin [31-33].

Cette mise en évidence de caractéristiques distinctes des ECE pulmonaire et rénale devrait permettre le développement d'inhibiteurs interférant avec la synthèse tissulaire de l'ET-1 de façon sélective. Certaines de ces molécules sont en cours de développement [34].

### Rôle de l'ECE vasculaire chez l'homme

Le groupe de Haynes et Webb a montré que, chez l'homme, l'administration de phosphoramidon dans l'artère brachiale induit une chute de résistance artérielle locale [35]. Ces observations illustrent bien l'importance de l'ECE dans la genèse de l'ET-1 et du rôle de cette dernière en tant que vasomodulateur endogène. Le phosphoramidon, partiellement constitué d'hydrates de carbone lui conférant des caractéristiques hydrophiles, pénètre difficilement la membrane plasmique et ne peut inhiber l'ECE intracellulaire (ECE-2), observation rapportée par Emoto *et al.* [27]. Le phosphoramidon semble agir de façon prédominante sur l'ECE-1a localisée à la surface externe de la membrane cellulaire. Cela est d'intérêt puisque cet inhibiteur semble avoir des propriétés vasodilatatrices dans les vaisseaux humains non pas à l'inhibition de la production d'endothéline intra-cellulaire (par blocage de l'ECE intracellulaire), mais à sa capacité d'inhiber la conversion extra-cellulaire en ET-1 de la *big-ET-1*, sécrétée par l'endothélium [35]. De façon similaire, un autre inhibiteur de l'ECE, le FR901533, a une faible capacité de pénétration intracellulaire et agit donc également de façon plus marquée sur l'ectoenzyme localisée sur la surface externe des membranes cellulaires de l'endothélium [27].

L'inhibition de l'ECE intracellulaire par le phosphoramidon ne peut toutefois être totalement exclue puisque cet inhibiteur des métalloendopepti-

dases réduit la production d'ET-1 des cellules endothéliales en culture [36]. Il est à noter que ces cellules en culture sécrètent peu de *big-ET-1* par rapport à l'ET-1.

### Récepteurs des endothélines

Les gènes codant pour les récepteurs ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> humains ont été clonés [37, 38]. Ces récepteurs possèdent sept domaines transmembranaires et sont couplés aux protéines G, plus spécifiquement G<sub>q/11</sub> [30]. Les gènes ETAR et ETBR possèdent au moins 85 % d'identité structurale avec ceux identifiés dans d'autres espèces de mammifères, telles que le rat, le porc et le bœuf. En revanche, il n'y a que 59 % de similitude entre les récepteurs ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> humains.

Lorsqu'ils sont activés, par le biais de protéines G (sensibles à la toxine pertussique dans le muscle lisse vasculaire), ces récepteurs activent la phospholipase C qui, à son tour, produit deux seconds messagers, l'inositide-triphosphate (IP<sub>3</sub>) et le diacylglycerol (DAG). Les IP<sub>3</sub> mobilisent le calcium cytoplasmique et le DAG est responsable de l'activation de la protéine kinase C. Cette cascade d'événements intracellulaires mène au développement des mécanismes contractiles (muscle) ou sécrétoires (cellules endothéliales) [39, 40].

Classiquement, les préparations vasculaires exprimant le récepteur de type ET<sub>A</sub> répondent aux trois endothélines selon l'ordre de puissance suivant: ET-1 ≥ ET-2 >> ET-3, alors que dans le cas du récepteur ET<sub>B</sub> les trois isoformes sont équipotentes. Un résumé des caractéristiques biochimiques et pharmacologiques des récepteurs ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> est présenté dans le *Tableau 1*.

Plusieurs outils pharmacologiques (agonistes et antagonistes) sont disponibles actuellement pour la caractérisation des récepteurs ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub> (*Tableau 1*). Parmi ces composés, les antagonistes sélectifs ET<sub>A</sub> (BMS-182874) et non sélectifs (bosentan et SB 209670) retiennent l'attention surtout pour leur caractéristiques non-peptidiques qui accentuent leur biodisponibilité et permettent leur administration *per os* [41-43].

### Pharmacologie des récepteurs ET<sub>B</sub> sur l'endothélium et sur le muscle lisse vasculaire

Le concept selon lequel les récepteurs de type ET<sub>B</sub> sont localisés uniquement sur l'endothélium et y relaient les signaux de vasodilatation et les récepteurs de type ET<sub>A</sub> uniquement au niveau du muscle lisse vasculaire et y relaient la vasoconstriction, a été mis en cause par le groupe de Moreland qui a démontré que, dans certains modèles animaux, une proportion importante de récepteurs de type ET<sub>B</sub> au niveau du muscle lisse vasculaire sont localisés dans certains vaisseaux d'origine veineuse [44].

Bien que Davenport *et al.* [45] aient suggéré une prédominance des récepteurs ET<sub>A</sub> au niveau du muscle lisse vasculaire de l'homme, la participation possible des récepteurs ET<sub>B</sub> aux effets vasoconstricteurs de l'endothéline dans certains modèles animaux a incité plusieurs compagnies pharmaceutiques à développer des antagonistes mixtes ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub> [42, 46].

Cependant, les agonistes sélectifs des récepteurs ET<sub>B</sub> (BQ-3020 et IRL-1620) n'ont pas d'action vasoconstrictrice sur les vaisseaux d'origine

humaine dont l'endothélium est éliminé mécaniquement. En outre, l'IRL-1620 stimule la libération d'EDRF des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine [47] alors qu'on ne retrouve sur celles-ci que des récepteurs de type ET<sub>B</sub>. L'identification de récepteurs ET<sub>B</sub> fonctionnels dans le muscle lisse vasculaire humain s'est faite à l'aide de la sarafotoxine 6C, une toxine possédant une forte homologie structurale avec les endothélines et utilisée comme agoniste sélectif des récepteurs ET<sub>B</sub> [7, 48]. Or, il apparaît que cette toxine peut activer des mécanismes intracellulaires au niveau du cervelet de rat *via* une voie qui n'implique pas le couplage du récepteur à une protéine G sensible à la toxine pertussique [49]. Il est donc possible que les effets vasoconstricteurs observés dans des tissus humains à l'aide de la sarafotoxine 6C impliquent l'activation de sites distincts de ceux proposés pour les récepteurs de type ET<sub>B</sub> comme l'a récemment suggéré Flynn *et al.* [50] chez le rat décérébré.

Des résultats récents de nos laboratoires aux niveaux rénal et pulmonaire [51] ainsi que *in vivo* [52] soulignent toutefois l'importance de

préserver la possibilité d'activer les récepteurs de type ET<sub>B</sub> lors de l'administration d'antagonistes de l'endothéline. En effet, dans les affections d'origine vasculaire comportant une hypersécrétion d'endothéline, bloquer les capacités vasodilatatrices dépendantes de l'endothélium des récepteurs ET<sub>B</sub> ne ferait qu'accroître les propriétés vasoconstrictrices du peptide. Ces considérations n'ont pu émerger qu'après l'avènement d'antagonistes sélectifs des récepteurs ET<sub>B</sub>, tel le BQ-788 [52].

A titre d'exemple, il a été démontré dans plusieurs études que l'ET-1, administrée par voie systémique, induit des effets presseurs vasoconstricteurs très puissants au niveau rénal avant que n'apparaissent des effets presseurs systémiques importants. Ces observations illustrent l'extrême sensibilité de la vascularisation rénale à l'ET-1 chez plusieurs mammifères dont l'homme. En outre, le groupe d'Ishikawa a montré que le BQ-788 (antagoniste sélectif du récepteur ET<sub>B</sub>) potentialise les effets hypertenseurs de l'ET-1 chez le rat [52]. Contrairement à l'homme, il avait été montré chez le rat, que les récepteurs de type ET<sub>B</sub> vasoconstricteurs participent à près de 40 %, avec

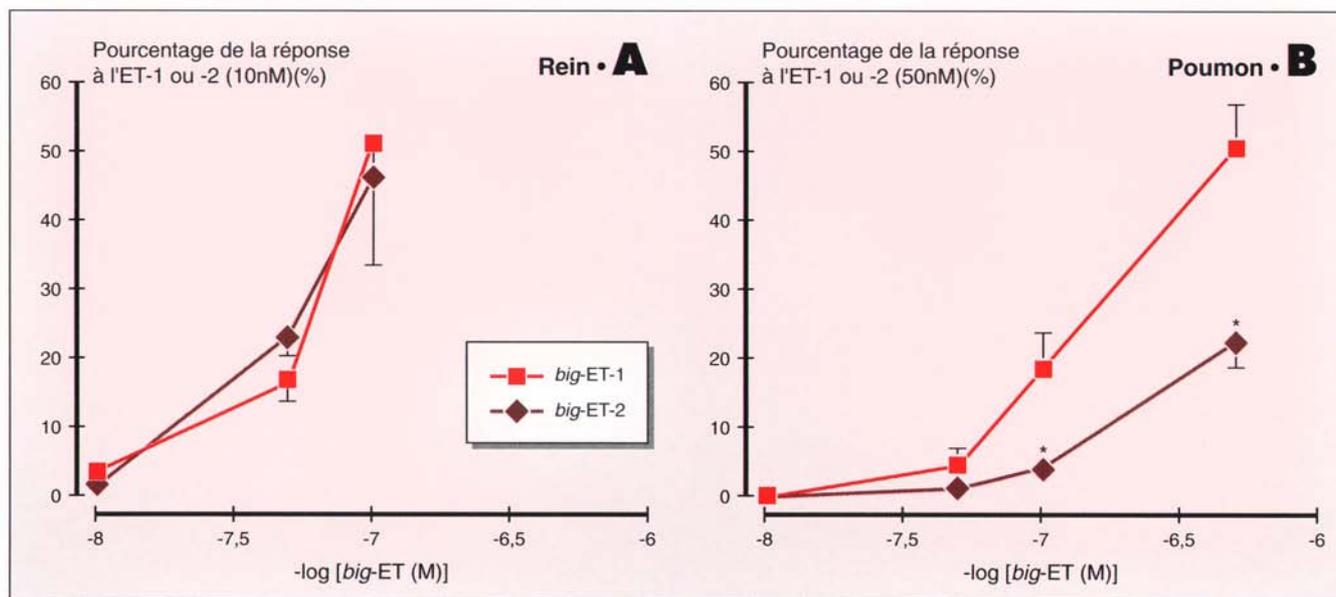


Figure 3. Effet de la big-ET-1 ou de la big-ET-2, exprimé en pourcentage de la réponse à l'ET-1 ou à l'ET-2 (10 nM dans le rein; 50 nM dans le poumon), sur la pression de perfusion du rein (A) ou du poumon (B) isolé de lapin. \* $P < 0,05$  lorsque comparé aux effets de big-ET-1,  $n = 4$ .

## RÉFÉRENCES

33. Gratton JP, Maurice MC, D'Orléans-Juste P. Characterization of endothelin receptors and endothelin-converting enzyme activity in the rabbit lung. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S88-90.
34. Claing A, Neugebauer W, Yano M, Rae GA, D'Orléans-Juste P. [Phe<sup>22</sup>]-big-endothelin-1[19-37]: a new and potent inhibitor of the endothelin-converting enzyme. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S72-4.
35. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994; 344: 852-4.
36. Sawamura T, Kasuya Y, Matsushita Y, Suzuki N, Shinmi O, Kishi N, Sugita Y, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T, Kimura S. Phosphoramidon inhibits the intracellular conversion of big-endothelin-1 to endothelin-1 in cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 174: 779-84.
37. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 1990; 348: 730-2.
38. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990; 348: 732-5.
39. Highsmith RF, Blackburn K, Schmidt DJ. Endothelin and calcium dynamics in vascular smooth muscle. *Annu Rev Physiol* 1992; 54: 257-77.
40. Rembold CM. Regulation of contraction and relaxation in arterial smooth muscle. *Hypertension* 1992; 20: 129-37.
41. Stein PD, Hunt J, Floyd D, Moreland S, Dickinson KE, Mitchell C, Liv EC, Webb ML, Murugesan N, Dickey J, et al. The discovery of sulfonamide endothelin antagonists and the development of the orally active ET<sub>A</sub> selective antagonist S-(dimethylamino)-N-(3,4-dimethyl-5-isoxazolyl)-1-naphthalenesulfonamide. *J Med Chem* 1994; 37: 329-31.
42. Clozel M, Breu V, Gray GA, Kalina B, Löffler BM, Burri K, Cassal JM, Hirth G, Müller M, Neidhart W, Ramuz H. Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 228-35.
43. Elliott JD, Amparo Lago M, Consins RD, Gao A, Leber JD, Erhard K, Eggleston D, Nambi P, Lee JA, Brooks DP, Feuerstein G, Ruffido RR, Weinstock J, Gleason JG, Peishoff CE, Ohlstein EH. 1,3-Diarylindan-2-Carboxylic acids, potent and selective nonpeptide endothelin receptor antagonists. *J Med Chem* 1994; 37: 1553-7.
44. Moreland S, McMullen DM, Delaney CL, Lee VG, Hunt JT. Venous smooth muscle contains vasoconstrictor ET<sub>B</sub>-like receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184: 100-6.
45. Davenport AP, Maguire JJ. Is endothelin-induced vasoconstriction mediated only by ET<sub>A</sub> receptors in humans? *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 9-11.
46. Ohlstein EH, Nambi P, Douglas SA, Edwards RM, Gellai M, Lago A, Leber JD, Cousins RD, Gao A, Frazee JS, Peishoff CE, Bean JW, Eggleston DS, Elshourbagy NA, Kumar C, Lee JA, Yue TL, Loudon C, Brooks DP, Weinstock J, Feuerstein G, Poste G, Ruffolo RR Jr, Gleason JG, Elliott JD. SB 209670, a rationally designed potent nonpeptide endothelin receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8052-6.
47. Tsukahara H, Ende H, Magazine HI, Bahou WF, Goligorsky MS. Molecular and functional characterization of the non-isopeptide selective ET<sub>B</sub> receptor in endothelial cells. Receptor coupling to nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1994; 269: 21778-85.
48. William DL, Jones KL, Pettibone DV, Lis EV, Clineschmidt BV. Sarafotoxin S6C: an agonist which distinguishes between endothelin receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 175: 556-61.
49. Shraga-Levine Z, Galron R, Sokolovsky M. Cyclic GMP formation in rat cerebellar slices is stimulated by endothelins via nitric oxide formation and by sarafotoxins via formation of carbon monoxide. *Biochemistry* 1994; 33: 14656-9.
50. Flynn, DA, Sargent, CA, Brazdil R, Brown TJ, Roach AG. Sarafotoxin S6C Elicits a non-ET<sub>A</sub> or non-ET<sub>B</sub>-mediated pressor response in the pithed rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26(suppl 3): S219-21.
51. D'Orléans-Juste P, Claing A, Télémaque S, Maurice MC, Yano M, Gratton JP. Block of endothelin-1-induced release of thromboxane A<sub>2</sub> from the guinea pig lung and nitric oxide from the rabbit kidney by a selective ET<sub>B</sub> receptor antagonist, BQ-788. *Br J Pharmacol* 1994; 113: 1257-62.
52. Ishikawa K, Ihara M, Noguchi K, Mase T, Mino N, Saeki T, Fukuroda T, Fukami T, Ozaki S, Nagase T, Nishikibe M, Yano M. Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective endothelin B receptor antagonist, BQ-788. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4892-6.
53. D'Orléans-Juste P, Yano M, Maurice MC, Gratton JP. Hyperresponsiveness to ET-1 following treatment with a mixture of ET<sub>A</sub> and ET<sub>B</sub> receptor antagonists in the rabbit *in vivo* and *in vitro*. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S369-72.

les récepteurs ET<sub>A</sub>, à l'effet hypertenseur provoqué par l'administration d'endothéline. Il apparaît donc que le récepteur ET<sub>B</sub> localisé sur l'endothélium, responsable de la vasodilatation, agit de façon prépondérante malgré la présence, dans cette espèce, de récepteurs de type ET<sub>B</sub> sur le muscle lisse des vaisseaux résistifs puisque la réponse hypertensive de l'endothéline est fortement augmentée chez les rats traités au BQ-788 [52]. Nous avons montré récemment que le BQ-788 bloque les propriétés vasodilatatrices de l'EDRF au niveau de la circulation rénale, un phénomène sensible à un inhibiteur de la NO synthase [51]. Cet effet potentiateur du BQ-788 *in vivo* et *in vitro* chez le lapin est illustré sur la figure 4. Nous suggérons donc que, dans des conditions dans lesquelles les concentrations d'endothéline circulante sont élevées (après les transplantations, par exemple), l'administration d'antagonistes sélectifs des récepteurs ET<sub>B</sub> ou mixtes ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub> devrait induire une hyperréactivité à l'endothéline endogène et exogène [52, 53].

### Sous-types de récepteurs ET<sub>B</sub> : entités pharmacologiques distinctes ?

Bien que les récepteurs de type ET<sub>B</sub> de rat et de l'homme aient une très grande similitude de séquence (plus de 95 % d'identité), l'antagoniste peptidique mixte ET<sub>A</sub>/ET<sub>B</sub>, le PD147452, ou l'antagoniste sélectif ET<sub>B</sub>, le BQ-788, ont une affinité différente pour le récepteur ET<sub>B</sub> humain et pour celui du rat [54]. Ces différences d'affinité semblent liées au fait que ces antagonistes se fixent sur des portions protéiques distinctes de ces deux types de récepteurs ET<sub>B</sub> dans ces deux espèces. De plus, des études de Warner *et al.* [55] ont suggéré l'existence de deux sous-types distincts de récepteurs ET<sub>B</sub>, le récepteur ET<sub>B1</sub> retrouvé sur l'endothélium et qui est responsable de la libération de l'EDRF, et le récepteur ET<sub>B2</sub> localisé sur le muscle lisse, vasculaire et non-vasculaire, et qui induit des effets constricteurs lorsqu'il est activé. Cette classification n'est toutefois pas justifiée par des études de caractérisation rigoureuse des récepteurs : sur les deux récepteurs ET<sub>B</sub>, l'ordre de puissance des agonistes naturels

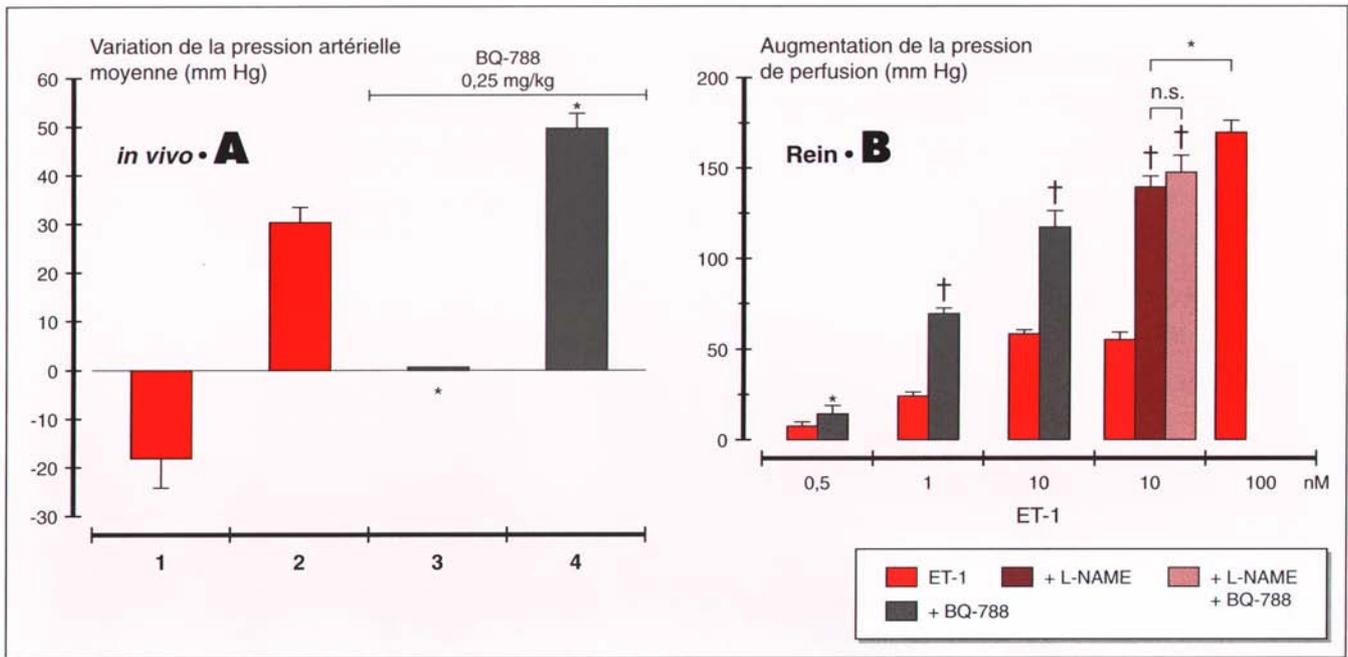


Figure 4. (A) Effet vasodilatateur suivi de l'effet vasoconstricteur produit par l'injection intra-artérielle de 0,25 nmol/kg d'endothéline-1 chez le lapin anesthésié en absence et en présence de l'antagoniste  $ET_B$ , le BQ-788 (0,25 mg/kg). (B) Effet de l'ET-1 sur la pression de perfusion du rein de lapin perfusé en absence ou en présence de BQ-788 (10 nM), de L-NAME (100  $\mu$ M) et de L-NAME (100  $\mu$ M) + BQ-788 (10 nM). \* $P < 0,05$ ; † $P < 0,01$  lorsque comparé aux valeurs témoins; n.s.: non-significatif.

est identique, les agonistes sélectifs des récepteurs  $ET_B$  sont actifs et les antagonistes sélectifs des récepteurs de type  $ET_B$ , tel le BQ-788, interfèrent efficacement avec l'effet de l'ET-1. De plus, Clozel et Gray ont récemment démontré, à l'aide de l'antagoniste  $ET_B$  RO 46-8443, que les récepteurs  $ET_B$ , responsables des effets opposés de constriction et de dilatation, ne représentaient pas des entités pharmacologiques distinctes [56].

Par conséquent, les caractéristiques distinctes de ces deux sous-types de récepteurs  $ET_{B1}$  et  $ET_{B2}$  devront être validées par des études de biologie moléculaire permettant de produire des récepteurs recombinants que l'on pourra caractériser au point de vue pharmacologique. Actuellement, seule la nomenclature  $ET_A$  et  $ET_B$  des récepteurs de l'ET-1 est retenue par IUPHAR (union internationale de pharmacologie).

### Implication des récepteurs de l'endothéline dans le contrôle de la pression artérielle

Des études récentes de Kurihara *et al.* et de Yanagisawa *et al.* ont montré que des souris transgéniques homozygotes déficientes en endothéline [57] ou en récepteurs  $ET_A$  [58] développent des malformations physiques sévères. Ces observations ont permis à ces groupes de suggérer que l'ET-1 et ses récepteurs  $ET_A$  sont impliqués de façon essentielle dans les mécanismes de croissance et de développement (*m/s n° 6-7, vol. 10, p. 740*). Chez les souris transgéniques chez lesquelles un allèle du gène de l'ET-1 était délété (hétérozygotes), une légère augmentation de la pression sanguine a toutefois été notée malgré une diminution des concentrations plasmatiques d'ET-1 [57]. Il s'agit là de mécanismes fort complexes et difficiles à expliquer puisqu'on a peu

d'information sur la pharmacologie cardiovasculaire de l'endothéline chez cette espèce animale. Notons qu'il a été récemment démontré que, chez ces animaux hétérozygotes, la fonction du système sympathique et des baroréflexes est altérée [59].

L'importance physiologique des récepteurs de type  $ET_A$  dans les vaisseaux humains intacts a été démontrée par Haynes et Webb [35]. Pour la première fois, ce groupe a rapporté que l'endothéline endogène joue un rôle important dans le maintien du tonus vasculaire des vaisseaux d'individus sains. En effet, l'administration par voie intra-artérielle de BQ-123 (un antagoniste sélectif du récepteur  $ET_A$ ) induit une vasodilatation marquée des vaisseaux sanguins intacts dans l'avant-bras chez l'homme (*figure 5*). Il faut aussi souligner que le BQ-123 réduit de façon très prononcée la pression artérielle moyenne chez le cobaye [60], suggé-

## RÉFÉRENCES

54. Reynolds EE, Hwang O, Flynn MA, Welch KM, Cody WL, Steinbaugh B, He JX, Chung FZ, Doherty AM. Pharmacological differences between rat and human endothelin B receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 506-12.

55. Warner TD, Allcock GH, Corder R, Vane JR. Use of the endothelin antagonists BQ-123 and PD142893 to reveal three endothelin receptors mediating smooth muscle contraction and the release of EDRF. *Br J Pharmacol* 1993; 110: 777-82.

56. Clozel M. and Gray G. Are there different ET<sub>B</sub> receptors mediating constriction and relaxation? *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S262-4.

57. Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, Oda H, Kuwaki T, Cao WH, Kamada N, Jishage K, Ouchi Y, Azuma S, Toyoda Y, Ishikawa T, Kumada M, Yazaki Y. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature* 1994; 368: 703-10.

58. Goto K, Warner TD. Endothelin versatility. *Nature* 1995; 375: 539-40.

59. Kuwaki T, Kurihara Y, Kurihara H, Cao WH, Ju KH, Ling GY, Onoder M, Unekawa M, Yazaki Y, Kumada M. Cardiorespiratory abnormalities in mice heterozygous for ET-1 mutation. *Fourth International Conference on Endothelin*, London, UK, 1995.

60. Veniant M, Clozel JP, Hess P, Clozel M. Endothelin plays a role in the maintenance of blood pressure in normotensive guinea pigs. *Life Sci* 1994; 44: 445-54.

61. Schiffrin EL. Endothelin in hypertension. *Curr Op Cardiol* 1995; 10: 485-94.

62. Schiffrin EL. Les endothélines sont-elles impliquées dans l'hypertension? *médecine/sciences* 1996; 12.

63. Goto K, Kasuya Y, Matsuki N, Takawa Y, Kurihara H, Ishikawa T, Kimura S, Yanagisawa M, Masaki T. Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3915-8.

64. Bkaily G. Regulation of R-type Ca<sup>2+</sup> channels by insulin and ET-1 in vascular smooth muscle. In: Bkaily G, ed. *Ion channels in vascular smooth muscle*. Austin: Molecular Biology Intelligence Unit, RG Landes Company, 199 : 41-52.

65. Bkaily G, Pothier P, Simaan M, Belzile F et Jaalouk D. The use of confocal microscopy in the investigation of cell structure and function in the cardiovascular system. *Mol Cell Biochem* 1996 (sous presse).

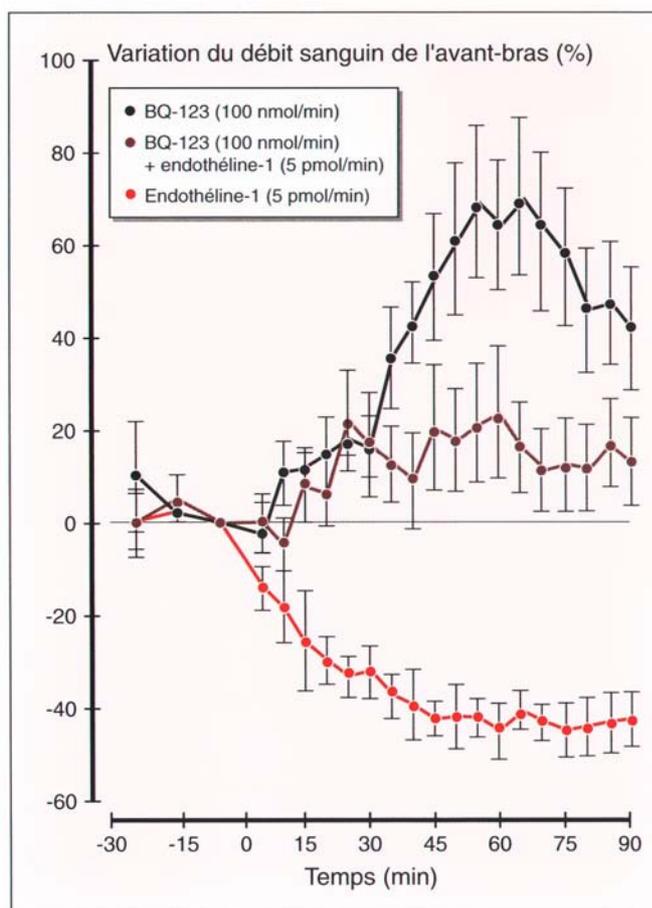


Figure 5. Débit sanguin de l'avant-bras chez l'homme après une perfusion intra-artérielle d'ET-1 et de BQ-123. La vasoconstriction de l'ET-1 est abolie par le BQ-123 ( $P=0,006$ ) et le BQ-123 seul induit une vasodilatation progressive de l'avant-bras ( $P = 0,007$ ) (Tiré de [35] avec autorisation des auteurs).

rant qu'au moins chez ce mammifère, l'endothéline joue un rôle important dans le maintien de la pression artérielle.

Une implication de l'endothéline comme stimulateur de l'hypertrophie vasculaire a aussi été suggérée dans certains modèles d'hypertension artérielle; pour plus de détails, le lecteur est prié de se référer à la revue de Schiffrin [61] ainsi qu'à l'article du même auteur dans ce numéro de *médecine/sciences* [62].

### Effet de l'endothéline sur la modulation calcique cytosolique et nucléaire

Bien qu'agissant sur des récepteurs qui ont été clonés et qui sont caractérisés au plan pharmacologique [37,

38], l'ET-1 peut également agir en ouvrant des canaux calciques de type L (sensibles aux composés dihydropyridines) sur le muscle lisse vasculaire [63], ou de type R (*resting potential calcium channels*) sur le muscle lisse vasculaire ou les cellules endothéliales [64]. La figure 6 illustre par microscopie confocale l'augmentation de [Ca], et sa distribution spécifique au niveau cytosolique et nucléaire dans une cellule de muscle lisse vasculaire, au repos ou en présence d'ET-1.

### Conclusion

Les récepteurs de type ET<sub>A</sub>, l'enzyme de conversion de l'endothéline et par conséquent l'ET-1 elle-même, semblent tous être impliqués dans le

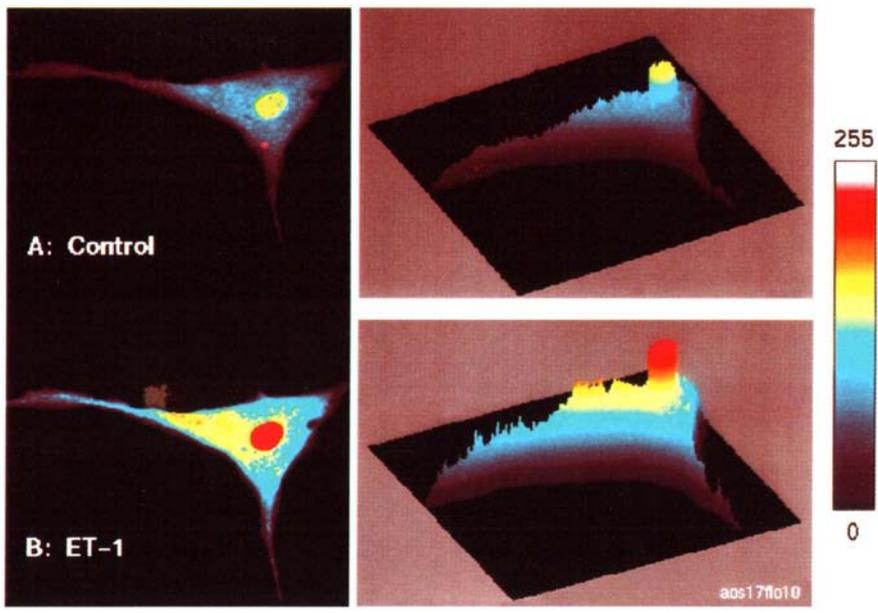


Figure 6. **Augmentation de calcium intracellulaire cytosolique ( $[Ca]_c$ ) et nucléaire ( $[Ca]_n$ ) dans une cellule musculaire lisse d'aorte humaine au repos ou stimulée avec l'ET-1 ( $10^{-7}$  M).** A: Vue en coupe transversale de la fluorescence du  $Ca^{2+}$  libre au niveau cytosolique et nucléaire. B: L'ET-1 à la concentration de  $10^{-7}$  M augmente à la fois le  $[Ca]_c$  et le  $[Ca]_n$ . Les panneaux de droite sont des représentations tridimensionnelles illustrant à la fois l'intensité et la distribution spatiale du signal donné par les ions calciques des cellules de gauches (A et B). L'échelle colorimétrique à droite de la figure représente le niveau d'intensité en pseudocouleurs des niveaux de la sonde calcique fluorescente (Fluo-3) (expérience # aoSMC17Flo10) [65].

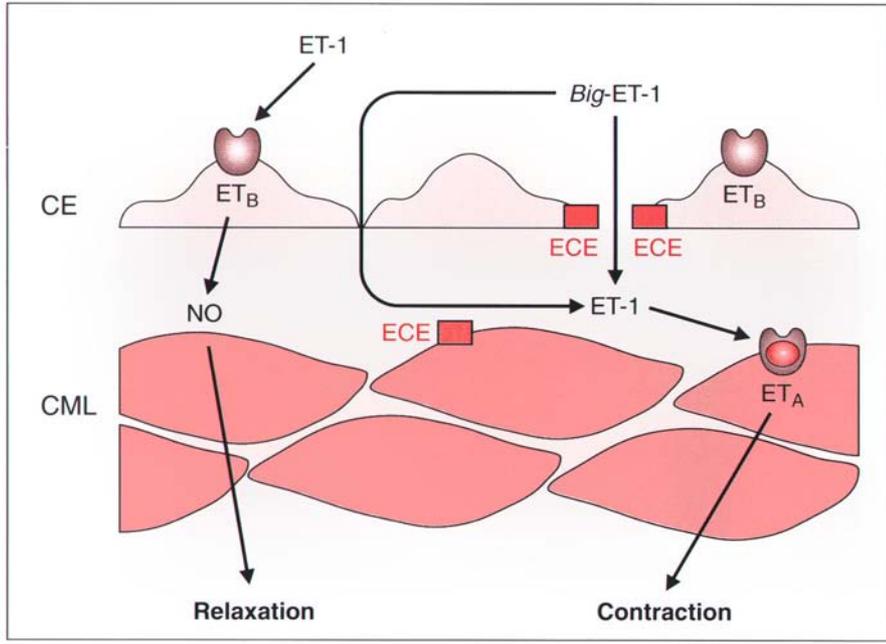


Figure 7. **Schéma illustrant les sites essentiels des effets de la big-endothéline-1 (big-ET-1) et de l'endothéline-1 (ET-1) chez l'homme.** CE: cellules endothéliales; CML: cellule musculaire lisse; ECE: enzyme de conversion de l'endothéline;  $ET_A$ : récepteur de type  $ET_A$ ;  $ET_B$ : récepteur de type  $ET_B$ .

maintien du tonus vasculaire chez l'homme. Qui plus est, l'hormone elle-même et ses récepteurs  $ET_A$  (mais non  $ET_B$ ) sont essentiels au développement. Il apparaît donc que, chez le sujet sain, il existe un juste équilibre entre la production d'ET-1 et l'activation de ses récepteurs  $ET_A$  (musculaires) et  $ET_B$  (endothéliaux). Dans des conditions pathologiques, un choix judicieux devra être fait dans l'utilisation d'antagonistes mixtes ou sélectifs pour les récepteurs  $ET_A$ ; nos résultats et les différents aspects discutés ici tendent à favoriser la deuxième proposition.

Bien que non exclusive, la figure 7 illustre les sites où les récepteurs et les activités enzymatiques de conversion de l'endothéline sont les plus abondants et jouent un rôle prédominant dans les effets vasculaires des endothélines chez l'homme. Ces sites pourraient être considérés comme des cibles de choix pour le développement d'outils thérapeutiques.

Chacune des quatre conférences internationales sur l'endothéline a marqué un tournant important dans l'étude de cette famille de peptides vasoactifs. La dernière conférence, tenue à Londres en avril 1995, a souligné l'ère des antagonistes des récepteurs de l'endothéline et de leur utilisation dans certaines conditions physiopathologiques dans lesquelles ce peptide pourrait être impliqué. La prochaine conférence qui se tiendra à Kyoto à l'automne 1997 devrait marquer l'ère des enzymes de conversion de l'endothéline et de leur rôle possible dans l'homéostasie et dans l'étiologie des maladies cardiovasculaires ■

**Remerciements**

Les auteurs sont reconnaissants à madame Louise Dubois pour son aide secrétariale et la Fondation des Maladies du Cœur du Québec et le Conseil Médical de la Recherche du Canada pour leur soutien financier. Les docteurs Pedro D'Orléans-Juste, Richard Leduc et Ghasan Bkaily sont chercheurs boursiers du Fonds de Recherche en Santé du Québec. Madame Audrey Claing et monsieur Jean-Philippe Gratton sont détenteurs de bourses d'études doctorales de la Fondation Canadienne des maladies du coeur et du fond FCAR/FRSQ santé respectivement.

## Summary

### Endothelin cardiovascular pharmacology and pathophysiology

Multidisciplinary approaches including pharmacology, biochemistry, immunology and rapidly developing molecular biology techniques have been instrumental in the gigantic leaps observed in the field of endothelins in recent years. With the receptors cloned as well as proposed biosynthetic pathways being rapidly elucidated, the role of endothelin in cardiovascular homeostasis as well as in the ethiology of vascular pathologies may lead to the development of therapeutically useful agents. This review succinctly describes some of the important aspects of the biology of endothelins from the processing of pre-pro-endothelin-1 to the active moiety of endothelin-1. Furthermore, physiopathological considerations are presented concerning the usefulness of mixed  $ET_A/ET_B$  receptors as opposed to selective  $ET_A$  receptors. Moreover, distinct endothelin-converting enzyme activity specific to particular organs is outlined. Finally, the nuclear and cytosolic calcium-mobilizing properties of ET-1 in the vascular smooth muscle are illustrated. As far as the contribution of endothelin in cardiovascular regulation is concerned, a correlation attempt will be made between the results obtained in animal models and