médecine/sciences 1997; 13: 790-8

Transmission des signaux mécaniques dans les cellules vasculaires

Alain Tedgui
Nathalie Bardy
Bernard I. Lévy

Les vaisseaux sont soumis à deux sortes de forces mécaniques : la pression et les forces de cisaillement dues au flux sanguin. Les mécanismes d'adaptation aux variations de contraintes permettent le remodelage vasculaire. Deux types cellulaires en sont responsables : les cellules musculaires lisses, sensibles à l'étirement, et les cellules endothéliales, sensibles à la fois à l'étirement et au flux sanguin. Les récepteurs sont des canaux cationiques sensibles au cisaillement et à l'étirement, mais aussi des structures d'adhérence focale ; celles-ci distribuent la tension induite dans la cellule à l'ensemble du cytosquelette et à la matrice extracellulaire par l'intermédiaire d'intégrines et des fibres de stress. La transmission du signal vers le noyau cellulaire des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales fait intervenir des cascades de phosphorylations relayées par les MAP kinases ; elle induit l'expression, notamment, du proto-oncogène *c-Fos* et aboutit à la synthèse des protéines impliquées dans la contraction musculaire et dans la constitution de la matrice extracellulaire.

Les vaisseaux sont en permanence soumis à des contraintes mécaniques associées à la pression artérielle et au flux sanguin. Celles-ci interviennent non seulement dans le contrôle de la vasomotricité, mais aussi dans la croissance et le développement physiologiques des vaisseaux. La paroi vasculaire est normalement exposée à deux types de forces mécaniques : (1) les contraintes circonférentielles agissant tangentiellement sur la paroi et liées directement à la pression et aux dimensions du vaisseau (diamètre, épaisseur) ; et (2) les contraintes de cisaillement agissant dans la direction longitudinale, à l'interface sang-endothélium, et liées directement au profil de vitesse de l'écoulement. Toute altération des contraintes mécaniques s'accompagne d'un processus d'adaptation au nouvel environnement hémodynamique, conduisant à terme au remaniement, « remodelage », de la paroi vasculaire. Le remodelage vasculaire est observé dans différentes situations dans lesquelles les pressions et les débits locaux peuvent être modifiés : hypertension artérielle, athérosclérose, fistule artério-

ADRESSE

A. Tedgui : *directeur de recherche à l'Inserm.* N. Bardy : *docteur ès sciences.* B. Lévy : *professeur de physiologie, directeur de l'unité Inserm 141.* Inserm U. 141, biologie vasculaire, IFR Circulation Lariboisière, 41, boulevard de la Chapelle, 75475 Paris, France.

veineuse, sténose, anévrisme. L'étude des interactions entre les facteurs mécaniques et la biologie des cellules vasculaires – cellules endothéliales et cellules musculaires lisses – a fait l'objet, au cours des dernières années, de très nombreux travaux de recherche. L'intégration du rôle des facteurs mécaniques dans le remodelage vasculaire permet aujourd'hui de mieux aborder du point de vue pathogénique et thérapeutique la plupart des maladies cardio-vasculaires [1].

Effet de la pression

Il existe un rapport direct entre la contrainte circonférencielle à laquelle la paroi est soumise et la structure pariétale [2]. Lorsque la contrainte augmente, par augmentation de la pression artérielle, on constate une hypertrophie du muscle lisse, associée à une augmentation du contenu en collagène et en élastine. A l'inverse, lorsque la contrainte circonférentielle diminue, on observe une atrophie de la paroi [3]. Plusieurs arguments physiologiques et expérimentaux confirment cette relation entre, d'une part, la contrainte circonférentielle et, d'autre part, l'épaisseur et la composition de la paroi. (1) D'une espèce animale à l'autre, lorsque le diamètre d'un même vaisseau augmente, le nombre d'unités lamellaires et l'épaisseur totale de la paroi augmentent également, de telle sorte que la contrainte circonférentielle reste constante quelle que soit la taille de l'animal, du rat jusqu'au cheval. Cette valeur « idéale » est de l'ordre de 2.10^6 dynes/cm^2 dans l'aorte thoracique descendante [4, 5]. Elle varie selon le territoire artériel et dépend essentiellement de la structure du vaisseau. (2) On retrouve dans tous les modèles expérimentaux d'hypertension artérielle une corrélation étroite entre le niveau de pression artérielle et la fréquence du polyploïdisme et de l'hypertrophie des cellules musculaires lisses de la paroi artérielle [6]. (3) Le développement de l'hypertrophie musculaire lisse de la paroi artérielle des gros troncs ne survient que lorsque la pression de distension a atteint des valeurs suffisantes et ne précède jamais l'hypertension, alors même que les anomalies neuro-humorales responsables de cette hypertension sont déjà présentes.

Pour simplifier la compréhension de ces phénomènes, on peut admettre que tout se passe comme si l'épaisseur de l'artère, dénominateur de l'équation déterminant la contrainte circonférentielle ($\sigma = Pr/h$)* augmente de manière à compenser l'accroissement de son numérateur (la tension pariétale), que celui-ci soit dû à l'augmentation de la pression ou du rayon. Toutefois, il existe dans la littérature récente des travaux qui tendent à démontrer qu'à effet hypotenseur égal, les différentes classes de médicaments anti-hypertenseurs pourraient avoir des effets différents sur la paroi artérielle. Il a été démontré, en particulier, que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II sont les plus efficaces pour réduire l'hypertrophie et la fibrose artérielle chez l'animal hypertendu [7-9].

Dans un travail récent réalisé sur des vaisseaux maintenus en culture organotypique pendant plusieurs jours, nous avons pu montrer que la synthèse protéique par les cellules musculaires lisses est fortement augmentée lorsque les vaisseaux sont soumis à des pressions intraluminales élevées [10]. En outre, l'élévation de la pression et l'angiotensine II sont capables d'induire la synthèse de la fibronectine dans la paroi artérielle de façon synergique [11]. Les mécanismes effecteurs de cette synthèse accrue de fibronectine par la pression impliquent l'activation locale du système rénine-angiotensine vasculaire [11]. Les facteurs mécaniques et humoraux peuvent donc interagir pour favoriser le remodelage vasculaire.

L'élévation de la pression transmurale engendre une augmentation des contraintes pariétales circonférencielles, à l'origine de la distension de la paroi. Les mécanismes de transduction de ces contraintes ne sont pas connus à ce jour, mais il est clair que c'est la déformation des cellules musculaires lisses par étirement qui déclenche une réponse biologique au niveau cellulaire. Si l'étirement des cellules est prévenue, en empêchant la distension de la paroi par la

σ : contrainte circonférentielle; Pr : tension pariétale; h : épaisseur de la paroi.

RÉFÉRENCES

1. Glagov S. Intimal hyperplasia, vascular remodeling, and restenosis problem. *Circulation* 1994; 89: 2888-91.

2. Owens GK. Growth response of aortic smooth muscle cells in hypertension. In: Lee RMKW, ed. *Blood vessel changes in hypertension: structure and function.* Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990: 45-64.

3. Bomberger RA, Zarins CK, Taylor KE, Glagov S. Effect of hypotension on atherogenesis and aortic wall composition. *J Surg Res* 1980; 28: 401-9.

4. Wolinsky H. Response of the rat aortic media to hypertension: Morphological and chemical studies. *Circ Res* 1970; 26: 507-22.

5. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man for usual pattern. *Circ Res* 1969; 25: 677-86.

6. Owens GK. Control of hypertrophic versus hyperplastic growth of vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1989; 257: H1755-65.

7. Albaladejo P, Bouaziz H, Duriez M, Gohlke P, Levy BI, Safar ME, Benetos A. Angiotensin converting enzyme inhibition prevents the increase in aortic collagen in rats. *Hypertension* 1994; 23: 74-82.

8. Freslon JL, Giudicelli JF. Compared myocardial and vascular effects of captopril and dihydralazine during hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 1983; 80: 533-43.

9. Schachter M. Drug-induced modification of vascular structure - effects of antihypertensive drugs. *Am Heart J* 1991; 122: 316-23.

10. Bardy N, Karillon GJ, Merval R, Samuel J-L, Tedgui A. Differential effects of pressure and flow on DNA and protein synthesis, and on fibronectin expression by arteries in a novel organ culture system. *Circ Res* 1995; 77: 684-94.

11. Bardy N, Merval R, Benessiano J, Samuel J-L, Tedgui A. Pressure and angiotensin II synergistically induce aortic fibronectin expression in organ culture model of rabbit aorta. Evidence for a pressure-induced tissue renin-angiotensin system. *Circ Res* 1996; 79: 70-8.

12. Batellier J, Wassef M, Merval R, Duriez M, Tedgui A. Protection from atherosclerosis in vein grafts by a rigid external support. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 379-84.

13. Leung DYM, Glagov S, Mathews MB. Cyclic stretching stimulates synthesis of matrix components by arterial smooth muscle cells *in vitro*. *Science* 1976; 191: 475-7.

pose d'un manchon rigide externe, par exemple, la réponse hypertrophique de la paroi est nettement réduite [12]. Les études *in vitro* sur cellules en culture ont permis de mettre en évidence l'effet stimulateur direct de l'étirement sur les cellules musculaires lisses et d'identifier certaines des voies de transmission du signal impliquées dans la reconnaissance et la traduction du signal mécanique (« mécanotransduction »).

La mécanotransduction dans la cellule musculaire lisse

En accord avec les études *in vivo*, les modèles de culture cellulaire ont montré que la biosynthèse protéique est accrue dans les cellules musculaires lisses soumises à un étirement cyclique, semblable à celui induit par la pression artérielle. C'est en particulier le cas pour la synthèse du collagène [13, 14]. La production de collagène par les cellules étirées est inhibée par l'élévation de la concentration intracellulaire d'AMPc qui interviendrait dans la modulation du contenu en protéines structurales vasculaires lorsque les cellules sont soumises à des forces de tension [15]. Cependant, l'étirement continu de cellules musculaires lisses pulmonaires de rat en culture n'entraîne pas d'augmentation de la synthèse protéique totale, suggérant que la nature du stimulus mécanique, continue ou cyclique, est importante pour déclencher la synthèse protéique [16].

Les cellules exposées à des cycles d'étirement/relaxation, présentent des altérations significatives de la croissance cellulaire, de la production des prostanglandines, ou encore de la synthèse de collagène. La morphologie des cellules est également altérée : les cellules s'allongent et s'orientent perpendiculairement à la direction de l'étirement [17]. De plus, l'étirement cyclique conduit à la formation de réticulum endoplasmique rugueux ou à la préservation des myofilaments, alors que l'absence de stimulation mécanique des vaisseaux se traduit par la disparition des myofilaments et la dégradation cytoplasmique [18].

Les modèles de culture cellulaire ont également permis d'évaluer l'effet de l'étirement cyclique sur l'expression des marqueurs phénotypiques des cellules musculaires lisses vasculaires : la h-caldesmone, la calponine et la myosine du muscle lisse, protéines impliquées dans la contraction des cellules musculaires lisses vasculaires. L'expression de la h-caldesmone, qui s'effondre lorsque les cellules musculaires lisses sont cultivées en absence de stimulation mécanique, est maintenue proche de son niveau de base par l'étirement cyclique des cellules [19].

L'étirement induit la sécrétion de facteurs de croissance, dont le PDGF *(platelet-derived growth factor)* à action autocrine [20], l'activation du métabolisme des phosphoinositols [21], ainsi que l'élévation de la concentration du Ca^{2+} intracellulaire [22]. Il semble que l'étirement entraîne des modifications de l'organisation du cytosquelette auquel sont associés les canaux ioniques sensibles à l'étirement *(stretch-activated channels)* présents à la surface cellulaire. Ces canaux sont présents aussi bien chez les invertébrés que chez les verbétrés [23]. Ils sont retrouvés sur de très nombreux types cellulaires, dont le muscle squelettique, le muscle cardiaque, les cellules mésangiales, les fibroblastes, les ostéoclastes et ostéoblastes (*voir* revue [23]). Les canaux ioniques activés par l'étirement cellulaire sont des canaux spécifiques de cations possédant une activité électrique, principalement détectée lors de leur ouverture. L'activation de ces canaux conduit à un influx de calcium (Ca^{2+}) suivi d'une dépolarisation membranaire [24]. L'implication de ces canaux dans la réponse à l'étirement des cellules musculaires lisses vasculaires a été récemment confirmée par l'utilisation d'un bloqueur spécifique de ces canaux, le gadolinium [25]. L'augmentation de l'expression des marqueurs protéiques des cellules musculaires lisses, en particulier la h-caldesmone, induite par l'étirement cellulaire, est inhibée par le gadolinium, alors que des inhibiteurs des canaux calciques insensibles à l'étirement, tels que le vérapamil, n'ont aucun effet. Par ailleurs, l'induction de l'expression du proto-oncogène *c-Fos* est observée lorsque les cellules musculaires lisses d'artère mésentérique de rat sont soumises à un étirement soutenu et prolongé [26]. Le proto-oncogène *c-Fos*, d'induction précoce, est impli-

RÉFÉRENCES

14. Leung DYM, Glagov S, Mathews MB. A new *in vitro* system for studying cell response to mechanical stimulation. *Exp Cell Res* 1977 ; 109 : 285-98.

15. Kollros PR, Bates SR, Mathews MB, Horwitz AL, Glagov S. Cyclic AMP inhibits increased collagen production by cyclically stretched smooth muscle cells. *Lab Invest* 1987 ; 56 : 410-7.

16. Kulik TJ, Alvarado SP. Effect of stretch on growth and collagen synthesis in cultured rat and lamb pulmonary arterial smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 1993 ; 157 : 615-24.

17. Harris RC, Haralson MA, Badr KF. Continuous stretch-relaxation in culture alters rat mesangial cell morphology, growth characteristics, and metabolic activity. *Lab Invest* 1992 ; 66 : 548-54.

18. Sottiurai VS, Kollros P, Glagov S, Zarins CK, Mathews MB. Morphologic alteration of cultured arterial smooth muscle cells by cyclic stretching. *J Vasc Surg* 1983 ; 35 : 490-7.

19. Birukov KG, Shirinsky VP, Stepanova OV, Tkatchuk VA, Hahn AWA, Resink T, Smirnov VN. Stretch affects phenotype and proliferation of vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Biochem* 1995 ; 144 : 131-9.

20. Wilson E, Mai Q, Sudhir K, Weiss RH, Ives HF. Mechanical strain induces growth of vascular smooth muscle cells via autocrine action of PDGF. *J Cell Biol* 1993 ; 123 : 741-7.

21. Kulik TJ, Bialecki RA, Colucci WS, Rothman A, Glennon ET, Underwood RH. Stretch increases inositol trisphosphate and inositol tetrakisphosphate in cultured pulmonary vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991 ; 180 : 982-7.

22. Davis MJ, Donovitz JA, Hood JD. Stretch-activated single-channel and whole cell currents in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1992 ; 262 : C1083-8.

23. French AS. Mechanotransduction. *Annu Rev Physiol* 1992 ; 54 : 135-52.

24. Sackin H. Mechanosensitive channels. *Annu Rev Physiol* 1995 ; 57 : 333-53.

25. Shirinsky VP, Birukov KG, Stepanova OV, Tkachuk VA, Hahn AWA, Resink TJ. Mechanical stimulation affects phenotype features of vascular smooth muscles. In : Woodford FP, Davignon J, Sniderman A, eds. *Atherosclerosis X.* Amsterdam : Elsevier Science, 1995 : 822-6.

qué dans la croissance vasculaire. L'étirement mécanique, stimulant les événements précoces de transmission du signal associés à la croissance des cellules musculaires lisses vasculaires, pourrait jouer un rôle important dans le développement de l'hypertrophie vasculaire.

Les cellules musculaires lisses vasculaires dans leur environnement naturel sont au contact permanent des protéines de la matrice extracellulaire *via* leurs récepteurs membranaires de la famille des intégrines. Ces intégrines, couplées à l'intérieur de la cellule aux protéines du cytosquelette, jouent un rôle essentiel dans la transmission intracellulaire des signaux mécaniques [27-29]. Des travaux récents, démontrant que la réponse des cellules musculaires lisses à la déformation mécanique dépend du substrat de protéines extracellulaires sur lequel les cellules sont cultivées, indiquent clairement que la capacité des cellules musculaires lisses de sentir et transduire les contraintes mécaniques dépend de l'interaction entre des récepteurs spécifiques et les substrats de matrice extracellulaire [19, 30]. Le rôle des intégrines comme « mécanotransducteurs » a pu être objectivé par des expériences réalisées sur du muscle de grenouille montrant que la libération de neurotransmetteurs déclenchée par l'étirement du muscle est totalement supprimée par des peptides contenant la séquence d'acides aminés arginine-glycine-acide aspartique (RGD) qui bloquent la liaison aux intégrines [31]. Le domaine cytoplasmique des intégrines interagit avec des protéines du cytosquelette et sont fonctionnellement liées à une protéine tyrosine kinase, la $pp125^{FAK}$, également nommée *focal adhesion kinase* (FAK) *(m/s n° 2, vol. 9, p. 228)*. Il est possible que la phosphorylation de la paxilline et de la $pp125^{FAK}$ intervienne dans la transduction intracellulaire de l'étirement dans les cellules musculaires lisses, comme cela a été rapporté sur des cellules endothéliales soumises à un flux sanguin élevé [32].

Un grand nombre de signaux intracellulaires sont transmis et traduits au niveau nucléaire *via* une cascade de phosphorylations. L'étirement de carotides porcines se traduit par une augmentation soudaine de l'activité MAP kinase [33]. Les deux MAP kinases, JNK *(c-Jun amino-terminal protein kinases)*, et ERK *(extracellular signal-regulated kinases)* sont également activées *in vivo* de façon transitoire par l'élévation aiguë de la pression artérielle [34]. L'activation des MAP kinases pourraient contribuer au processus hypertrophique des cellules musculaires lisses au cours du remodelage vasculaire dû à l'hypertension artérielle.

L'ensemble des voies possibles impliquées dans la transmission du signal mécanique sont résumées sur la *figure 1*.

Effet du débit

Fonctions endothéliales et contraintes de cisaillement

Les contraintes de cisaillement, liées à l'action mécanique du flux sanguin sur l'endothélium vasculaire ont elles aussi une action sur la croissance artérielle. Une restriction du débit sanguin par la pose d'une bague sténosante autour de la carotide commune chez le rat jeune entraîne, dans les semaines qui suivent, un retard de croissance de la carotide significatif, son diamètre étant réduit de 25 % par rapport à celui de la carotide controlatérale [35]. La composition en protéines fibreuses dans la paroi artérielle est également contrôlée par le débit et la contrainte de cisaillement. Chez le lapin, la réduction du calibre de la carotide primitive associée à la réduction de son débit sanguin s'accompagne d'une diminution du contenu en élastine de la paroi de la carotide [36]. L'illustration la plus spectaculaire du phénomène de croissance dépendante du débit est offerte par le modèle de fistule artério-veineuse. Dans ce modèle, le débit est très fortement augmenté [37-39]. Tant que le débit n'augmente pas exagérément, la contrainte de cisaillement se normalise par l'augmentation compensatoire du diamètre carotidien. Pour des augmentations supérieures du débit sanguin, les mécanismes de régulation peuvent être dépassés et les contraintes incomplètement normalisées par l'adaptation structurale du vaisseau aux nouvelles conditions d'écoulement. A côté de ces adaptations à long terme des dimensions et

RÉFÉRENCES

26. Lyall F, Deehan MR, Greer IA, Boswell F, Brown WC, Mcinnes GT. Mechanical stretch increases proto-oncogene expression and phosphoinositide turnover in vascular smooth muscle cells. *J Hypertens* 1994 ; 12 : 1139-45.

27. Schaller MD, Parsons JT. Focal adhesion kinase : an integrin-linked protein tyrosine kinase. *Trends Cell Biol* 1993 ; 3 : 258-62.

28. Juliano RL, Haskill S. Signal transduction from the extracellular matrix. *J Cell Biol* 1993 ; 120 : 577-85.

29. Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* 1993 ; 260 : 1124-7.

30. Wilson E, Sudhir K, Ives HE. Mechanical strain of rat vascular smooth muscle cells is sensed by specific extracellular matrix/integrin interactions. *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 2364-72.

31. Chen B-M, Grinnell AD. Integrins and modulation of transmitter release from motor nerve terminals by stretch. *Science* 1995 ; 269 : 1578-80.

32. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995 ; 75 : 519-60.

33. Adam LP, Franklin MT, Raff GJ, Hathaway DR. Activation of mitogen-activated protein kinase in porcine carotid arteries. *Circ Res* 1995 ; 76 : 183-90.

34. Xu QB, Liu YS, Gorospe M, Udelsman R, Holbrook NJ. Acute hypertension activates mitogen-activated protein kinases arterial wall. *J Clin Invest* 1996 ; 97 : 508-14.

35. Guyton J. Flow restrictionof one carotid artery in juvenile rats inhibits growth of arterial diameter. *Am J Physiol* 1985 ; 248 : H540-6.

36. Langille BL, Bendeck MP, Keeley FW. Adaptations of carotid arteries of young and mature rabbits to reduced carotid blood flow. *Am J Physiol* 1989 ; 256 : H931-9.

37. Kamiya A, Togawa T. Adaptive regulation of wall shear stress to flow change in the canine carotid artery. *Am J Physiol* 1980 ; 239 : H14-21.

38. Tronc F, Wassef M, Esposito B, Glagov S, Tedgui A. Role of NO in flow-induced remodeling of the rabbit common carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996 ; 16 : 1256-62.

39. Ben Driss A, Benessiano J, Poitevin P, Levy BI, Michel JB. Arterial expansive remodeling induced by high flow rates. *Am J Physiol* 1997 ; 272 : H851-8.

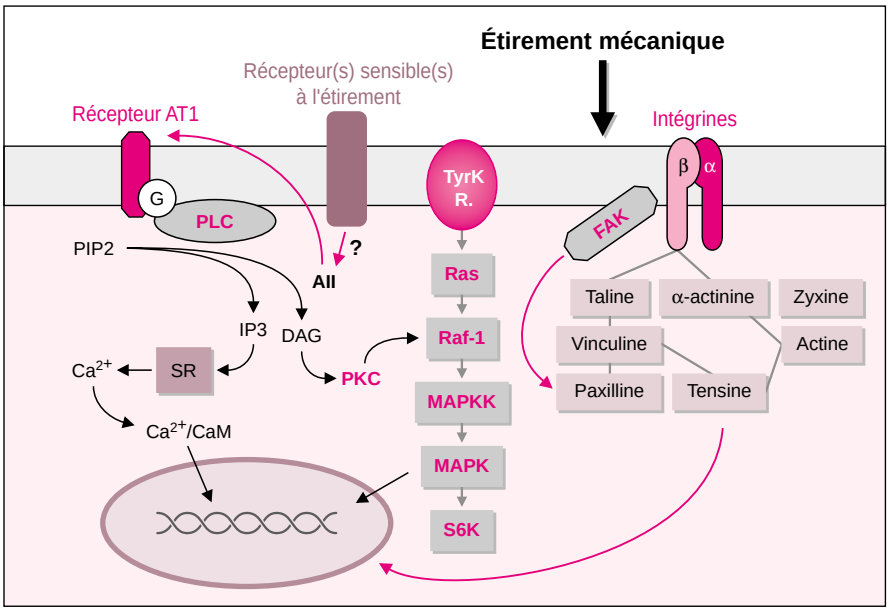

Figure 1. ***Voies de transmission du signal impliquées dans la réponse de la cellule musculaire lisse vasculaire à l'étirement mécanique.*** *AII: angiotensine II, PLC: phospholipase C, PIP2: phosphatidylinositol bisphosphate, IP3: inositol triphosphate, DAG: diacyglycerol, PKC: protéine kinase C, Ca/CaM: Calcium/Calmoduline kinase, SR: reticulum sarcoplasmique, TyrK R: récepteur à activité tyrosine kinase, MAP:* mitogen-activated protein, *MAPK: MAP kinase, MAPKK: MAP kinase kinase, S6K: S6 kinase, FAK:* focal adhesion kinase. *L'étirement cellulaire, par des voies encore inconnues mettant en jeu des récepteurs sensibles à l'étirement, stimule la production d'AII qui agit de façon autocrine sur son récepteur AT1 et active la voie de la phospholipase C. L'étirement active également la voie des MAP kinases, couplées classiquement aux récepteurs de tyrosine kinase. L'activation de la S6 kinase stimule la synthèse protéique. Enfin, les intégrines membranaires couplées aux protéines du cytosquelette, ainsi que la FAK* (focal adhesion kinase) *qui phosphoryle la paxilline, pourraient servir de relais pour la transmission intracellulaire du signal mécanique entre la membrane et le noyau.*

de la structure vasculaire liées aux variations de flux sanguin, il existe aussi des variations à court terme du diamètre artériel, elles aussi dépendantes des contraintes de cisaillement endothéliales. Cette action se fait principalement par l'intervention du monoxyde d'azote (NO) et de la prostacycline, dont la libération par les cellules endothéliales est très augmentée par le flux sanguin, entraînant une relaxation du muscle lisse sous-jacent et une augmentation du diamètre vasculaire [39]. Dans les conditions physiologiques, la contrainte de cisaillement moyenne à laquelle est soumise la surface endoluminale vasculaire est remarquablement constante et proche de 10-15 dynes/cm^2, quelle que soit la partie du réseau vasculaire considérée : artérielle, capillaire ou veineuse [40]. Une augmentation de 50 % de la contrainte de cisaillement s'accompagne de modifications sensibles de la morphologie et du métabolisme des cellules endothéliales. La quantité et la nature de nombreuses substances produites par les cellules endothéliales sont modifiées par les contraintes de cisaillement auxquelles les cellules endothéliales sont soumises [32].

Le sens général des différents mécanismes se fait vers une relaxation du muscle lisse artériel et, en conséquence, une augmentation du diamètre vasculaire permettant la normalisation des contraintes de cisaillement. Toutefois, la simple relaxation du muscle lisse vasculaire ne suffit pas à expliquer l'augmentation très importante du calibre vasculaire, qui peut quasiment doubler en réponse à de fortes augmentations du débit. L'endothélium soumis à des contraintes de cisaillement doit sécréter des protéases qui dégradent la limitante élastique interne, favorisant la distension du vaisseau. Cet élargissement du calibre vasculaire entraîne une augmentation proportionnelle de la contrainte circonférentielle (par augmentation du rayon à pression constante), ayant pour conséquence à long terme une hypertrophie de la média [38].

Très schématiquement, on peut retenir qu'une augmentation de pression et/ou une augmentation du débit sanguin dans un vaisseau entraînent une augmentation de sa contrainte pariétale circonférentielle, à l'origine d'un processus d'hypertrophie.

La mécanotransduction endothéliale

Sous l'effet d'un stimulus mécanique tel que le flux sanguin, un déplacement local des structures réceptrices s'effectue à la surface des cellules endothéliales. Deux types de forces sont engendrées en réponse à cette stimulation mécanique de la cellule endothéliale *(figure 2)*: (1) une force de transmission qui, *via* les éléments du cytosquelette, distribue la tension mécanique à travers la cellule ; (2) une force de transduction qui, *via* la membrane plasmique, induit la formation de seconds messagers qui peuvent activer les voies métaboliques et régulatrices dans la cellule endothéliale et conduire à une réponse cellulaire rapide. Parallèlement, des facteurs de transcription sont produits en réponse aux stimulus mécaniques et aboutissent à une régulation adaptative de la cellule après régulation génique.

Les adaptations structurales comme mécanotransducteurs

Le transfert des forces de cisaillement induites par le flux sanguin dans les cellules endothéliales s'effectue initialement à la surface luminale des cellules. Les structures composant la membrane plasmique représentent donc probablement les éléments initiaux de la mécanotransduction. Le glycocalyx est peut être une structure importante dans les mécanismes de mécanotransduction. Il renferme des

glycoprotéines transmembranaires qui se déplacent sous l'effet du cisaillement, induisant des réponses intracellulaires rapides, à l'origine d'une cascade d'événements biochimiques.
Deux sortes de mécanismes cellulaires sont relayées par les molécules membranaires. D'une part, elles participent au transfert passif du stimulus mécanique dans une partie de la cellule. D'autre part, elles répondent à la déformation mécanique du cytosquelette en modifiant activement leur arrangement à la surface cellulaire.
Ce processus actif nécessite des interactions mécaniques entre le cytosquelette et la membrane plasmique. Wang *et al.* [29] ont démontré l'existence de ces interactions *via* des protéines transmembranaires. En utilisant des microbilles ferromagnétiques recouvertes de peptides d'adhérence ou d'anticorps dirigés contre des protéines transmembranaires (intégrines), ils ont mesuré la résistance mécanique du cytosquelette soumis à une déformation induite par la rotation des billes lors d'une modification du champ magnétique. Ils rapportent que la résistance à la rotation dépend de l'association bille/membrane et de l'intégrité du cytosquelette. Seules les billes recouvertes par les ligands des intégrines permettent le maintien d'une connexion mécanique efficace. Les intégrines fonctionnent donc comme des éléments de transfert de la force mécanique à travers la surface cellulaire *via* les fibres d'actine *(stress fibers)*.
La mécanotransduction dans la cellule endothéliale est donc une voie de signalisation complexe qui, relayée par des modifications structurales de la surface cellulaire, induit une succession d'événements cellulaires : (1) l'activation des protéines transmembranaires ; (2) la libération des seconds messagers ; (3) l'expression des facteurs de transcription.

Les protéines membranaires comme mécanorécepteurs

Certaines protéines de la membrane plasmique possèdent les caractéristiques nécessaires pour fonctionner comme des mécanorécepteurs. Ces protéines possèdent une longue séquence extracellulaire organisée sous forme de boucles ou d'une queue linéaire et sont transmembranaires, ce qui leur permet de transférer les signaux à travers la paroi vers l'intérieur de la cellule. Les principales familles de récepteurs membranaires remplissant ces critères sont les canaux ioniques et les intégrines.

• *Les canaux ioniques sensibles à la déformation*
Deux types de canaux sensibles aux stimulus mécaniques sont décrits dans les cellules endothéliales : les canaux potassiques activés par le cisaillement *(shear stress)* et les canaux ioniques activés par l'étirement (*stretch activated channels*, semblables à ceux décrits dans la cellule musculaire lisse, *voir ci-dessus*) [24].
L'activation mécanique des canaux K^+, sensibles au flux sanguin, conduit à leur ouverture et ainsi à une hyperpolarisation de la membrane plasmique [41]. L'activation des canaux K^+, associée à une modification de la charge électrique membranaire, est à l'origine du processus de libération par la cellule endothéliale de nitrovasodilatateurs endogènes (NO) pouvant induire la formation de seconds messagers au sein des cellules musculaires lisses voisines [42].
Cependant, les mécanismes mis en place par les forces mécaniques pour contrôler les phénomènes d'ouverture/fermeture de ces canaux sont mal connus. L'hypothèse la plus vraisemblable serait la connexion des canaux avec le cytosquelette, dont la déformation induirait leur activation. Par ailleurs, le rôle physiologique des différents canaux sensibles, soit au cisaillement, soit à l'étirement, semble résulter de la variabilité élevée des forces hémodynamiques dans la circulation artérielle. Dans les régions où le flux sanguin est en alternance laminaire et turbulent, et où les forces de frottement et les pressions varient sur de courtes distances, le cisaillement et l'étirement peuvent induire des effets synergiques ou antagonistes relayés par les canaux ioniques [43].

• *Les sites d'adhérence focale*
Les sites d'adhérence focale sont situés dans les régions abluminales des cellules endothéliales. Ces structures interviennent dans la régulation des signaux mécaniques agissant sur la morphologie, la prolifération et la différenciation des cellules endothéliales. Les sites d'adhérence

RÉFÉRENCES

40. Langille BL. Remodeling of developing and mature arteries : endothelium, smooth muscle and matrix. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993 ; 21(suppl 1) : S11-7.

41. Nakache M, Gaub HE. Hydrodynamic hyperpolarization of endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 1841-3.

42. Cooke JP, Rossitch E, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1663-71.

43. Davies PF. How do vascular endothelial cells respond to flow ? *N Physiol Sci* 1989 ; 4 : 22-6.

44. Davies PF, Robotewskyj A, Griem ML. Quantitative studies of endothelial cell adhesion - directional remodeling of focal adhesion sites in response to flow forces. *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 2031-8.

45. Girard PR, Nerem RM. Endothelial cell signaling and cytosqueletal changes in response to shear stress. *Front Med Biol Eng* 1993 ; 5 : 31-6.

46. Ingber D. Integrins as mechanochemical transducers. *Curr Op Cell Biol* 1991 ; 3 : 841-8.

47. Schnittler HJ, Franke RP, Akbay U, Mrowietz C, Drenckhahn D. Improved *in vitro* rheological system for studying the effect of fluid shear stress on cultured cells. *Am J Physiol* 1993 ; 265 : C289-98.

48. Robishaw JD, Foster KA. Role of G proteins in the regulation of the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 1989 ; 51 : 229-44.

49. Hansen CA, Schroering AG, Carey DJ, Robishaw JD. Localization of a heterodimeric G protein γ subunit to focal adhesions and associated stress fibers. *J Cell Biol* 1994 ; 126 : 811-29.

50. Arcangeli A, Becchetti A, Mannini G, Mugnai P, Philippi G, Tarone G, Del Bene M, Barletta E, Wanke E, Olivotto M. Integrin-mediated neurite outgrowth in neuroblastoma cells depend on activation of potassium channels. *J Cell Biol* 1993 ; 122 : 1131-43.

51. Ohno M, Gibbons GH, Dzau VJ, Cooke JP. Shear stress elevated endothelial cGMP. Role of a potassium channel and G protein coupling. *Circulation* 1993 ; 88 : 193-7.

52. Hsieh HJ, Li NQ, Frangos JA. Shear-induced platelet-derived growth factor gene expression in human endothelial cells is mediated by protein kinase-c. *J Cell Physiol* 1992 ; 150 : 552-8.

53. Hsieh HJ, Li NQ, Frangos JA. Pulsatile and steady flow induces c-fos expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1993 ; 154 : 143-51.

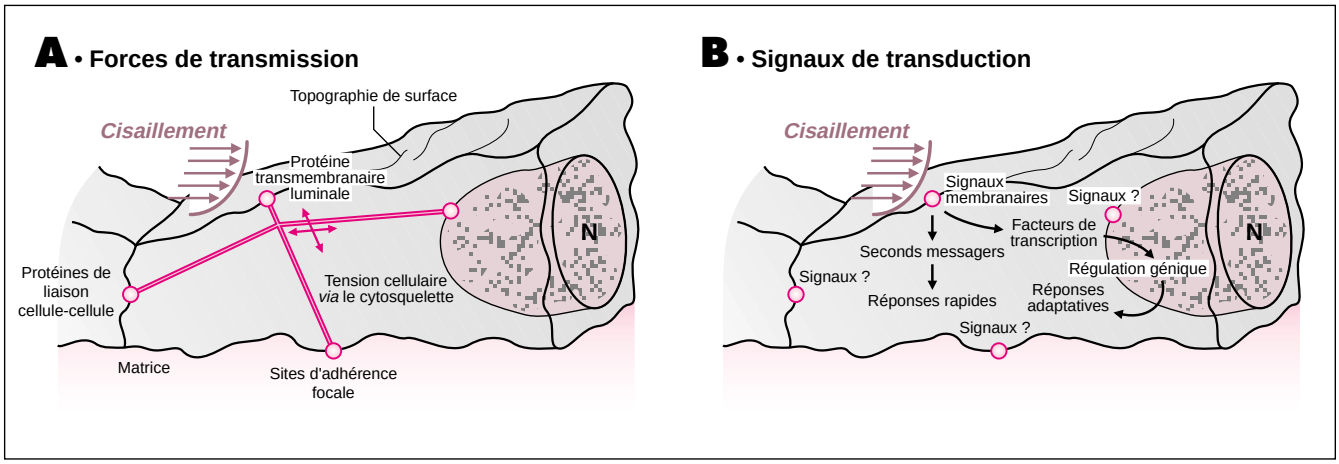

Figure 2. ***Rôle du cisaillement : A : Forces de transmission.*** *Les contraintes de cisaillement, appliquées par le flux sanguin à la surface luminale de la cellule endothéliale, sont distribuées par l'intermédiaire du cytosquelette à l'ensemble de la cellule et, en particulier, aux sites d'adhérence focale sur la membrane abluminale et aux liaisons intercellulaires.* ***B : Signaux de transduction.*** *Le cisaillement, de même que l'étirement, entraîne l'ouverture de canaux cationiques sensibles à ces forces mécaniques. Des protéines G leur seraient couplées et activeraient une cascade de phosphorylations transmettant les signaux au noyau. Les variations de diamètre à court terme sont principalement dues à l'action du NO et de la prostacycline : leur libération augmente avec l'élévation du débit sanguin, entraînant la relaxation du muscle lisse sous-jacent et l'augmentation du diamètre vasculaire. N : noyau. (D'après Davies [32].)*

focale permettent l'ancrage des cellules en associant des fibres d'actine *(stress fibers)* à la surface cytoplasmique de la membrane par l'intermédiaire de protéines cytoplasmiques alignées, qui lient le cytosquelette aux intégrines transmembranaires. Ces structures créent donc un lien de continuité entre le cytosquelette intracellulaire et les protéines d'adhérence, permettant la transmission de la tension induite par le flux sanguin dans la cellule. Les points d'adhérence focale se regroupent sous l'action du flux sanguin pour former un large site d'adhérence orienté dans la direction du flux sanguin [44]. On observe, en réponse au flux sanguin, une redistribution directionnelle des protéines, telles que la protéine kinase d'adhérence focale ($p125^{FAK}$), la vinculine et les intégrines, associées aux sites d'adhérence focale [45].

• *Les intégrines*

Les intégrines transmembranaires permettent la liaison des molécules d'adhérence à la matrice extracellulaire à l'extérieur de la cellule, et connectent le cytosquelette *via* des protéines de liaison à l'intérieur de la cellule. Le remodelage conformationnel des sites d'adhérence focale sous l'effet du flux sanguin induirait des modifications dans l'association des protéines d'adhérence aux intégrines. On observe des mouvements latéraux des complexes protéines d'adhérence-intégrines et/ou une association des éléments du cytosquelette et des intégrines avec des protéines de liaison (taline, vinculine, tensine, paxilline et α-actinine) pour établir une continuité structurale de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule *(figure 2)*. Les intégrines pourraient donc agir comme des mécanorécepteurs endothéliaux contrôlant la transmission des forces de la matrice extracellulaire vers le cytosquelette par un processus de transduction mécanochimique, principalement relayé par les changements dans l'organisation du cytosquelette provoqués par les forces mécaniques [46]. Les intégrines les plus vraisemblablement impliquées dans les mécanismes endothéliaux sont les récepteurs de la fibronectine ($\alpha_5\beta_1$ et $\alpha_v\beta_1$), de la laminine ($\alpha_6\beta_1$), et de la vitronectine ($\alpha_v\beta_3$ et $\alpha_v\beta_5$). La spécificité des intégrines vis-à-vis des différentes protéines d'adhérence souligne l'importance de la matrice extracellulaire dont la composition influence le remodelage des sites d'adhérence focale [44] et les mécanismes d'adhérence endothéliale [47] sous l'effet du flux sanguin.

• *Les récepteurs membranaires*

D'autres classes de récepteurs transmembranaires, principalement constituées par les récepteurs purinergiques, les récepteurs des neurotransmetteurs et ceux des facteurs de croissance, interviennent dans le processus de mécanotransduction. Ils sont, en fait, activés de façon autocrine par leurs agonistes spécifiques sécrétés par les cellules endothéliales stimulées par le flux sanguin. Les forces hémodynamiques modifient donc indirectement ces structures membranaires couplées à une protéine G ou activées par des agents mitogènes.

Les seconds messagers : médiateurs de la mécanotransduction

Bien qu'actuellement aucun résultat ne permette d'élucider totalement les mécanismes de transduction et de modulation de l'expression génique, de nombreuses équipes tentent d'identifier les seconds messagers impliqués dans les processus de régulation relayés par les facteurs hémodynamiques.

• *Les protéines G*

Les protéines G qui ont un rôle important dans la régulation du système cardio-vasculaire [48] pourraient participer à la mécanotransduction des forces hémodynamiques dans la cellule endothéliale. En effet, la sous-unité γ de la protéine G hétérodimérique est présente au niveau des

sites d'adhérence focale riches en intégrines et adjacente aux fibres d'actine-F [49]. La co-localisation des protéines G et des intégrines permettrait à un même signal d'activer simultanément deux familles de récepteurs transmembranaires (les récepteurs couplés à une protéine G et les intégrines). Par conséquent, la protéine G pourrait être indirectement impliquée dans la voie de signalisation induite par les intégrines. L'inhibition d'une protéine G bloque les canaux potassiques activés par l'adhérence cellule-matrice extracellulaire *via* une intégrine dans des cellules de neuroblastome [50]. L'ouverture des canaux K^+ dans les cellules endothéliales est contrôlée par le couplage cytosquelette-protéine G [51]. L'efflux de K^+ relayé par l'ouverture des canaux potassiques induit une hyperpolarisation de la membrane favorisant l'ouverture des canaux calciques et l'entrée de Ca^{2+}, aboutissant à l'augmentation de la concentration de GMPc. Les flux d'ions augmentés par les forces mécaniques semblent donc régler la formation des seconds messagers *via* l'activation de la protéine G. L'expression du gène de PDGF induite par le cisaillement est réglée par un mécanisme dépendant de la PKC, nécessitant la présence de Ca^{2+} et l'induction d'une protéine G [52]. Le flux sanguin induit également l'expression de *c-Fos* par un mécanisme de mécanotransduction complexe impliquant la PKC, les protéines G, la phospholipase C et le Ca^{2+} [53].

Les protéines G interviennent donc dans diverses voies de la mécanotransduction *(figure 1)*, mais les résultats actuels ne permettent pas de déterminer de façon précise s'il s'agit de médiateurs proximaux de la réponse des cellules endothéliales au flux sanguin (les premiers mécanorécepteurs stimulés par le flux), ou secondaires (couplés à des ligands activés par le flux, ou par une hormone réglée elle-même par le flux).

• *Les kinases*

L'association de certains agonistes à leurs récepteurs transmembranaires liés à une protéine G active une cascade de protéine kinases (MAP kinase) qui transmettent les signaux de croissance et de différenciation de la surface cellulaire au noyau, par l'intermédiaire de Ras, une enzyme permettant la phosphorylation du GTP. La cascade des MAP kinases est activée par phosphorylation des tyrosines des sous-unités GTPα, β, et γ de la protéine G [54]. Ras intervient en interagissant avec une MAP kinase, Raf, qui phosphoryle les MAP kinases ERK-1 et ERK-2. Après translocation dans le noyau, ERK-1 et ERK-2 phosphorylent les facteurs de transcription nucléaires.

Un mécanisme d'activation semblable a été mis en évidence dans les cellules endothéliales en réponse au flux sanguin. On observe sur des cellules endothéliales en culture soumises à des forces de cisaillement variant entre 3,5 et 117 dynes/cm^2, la phosphorylation des MAP kinases de 42 et 44 kDa [55]. L'effet maximal du flux sanguin, obtenu à 35 dynes/cm^2, est prévenu par l'inhibition ou la régulation négative de la PKC. Cette voie d'activation des MAP kinases, elles-mêmes activées par des agents mitogènes, est indépendante du Ca^{2+} intracellulaire, et n'est pas affectée par l'inhibition des canaux K^+ sensibles au cisaillement et des canaux sensibles à l'étirement; mais elle est affectée par l'inhibition de l'activité tyrosine kinase. Cette voie de mécanotransduction dépend donc de processus de phosphorylation, liés à la cascade des MAP kinases, elle-même probablement couplée à l'activation des protéines G. D'autres tyrosine kinases situées en aval des MAP kinases sont également activées par le flux sanguin [56, 57]. En effet, l'inhibition de l'activité tyrosine kinase diminue le taux de protéines phosphorylées et inhibe la formation des liaisons entre les points d'adhérence focale et les fibres d'actine-F. La phosphorylation des protéines de liaison, telle la paxilline, semble donc intervenir dans la réorganisation du cytosquelette lors de l'exposition des cellules endothéliales au flux sanguin.

Les facteurs de transcription et les promoteurs géniques comme mécanotransducteurs

Outre la cascade des seconds messagers et les modifications structurales du cytosquelette, les facteurs de transcription qui lient l'ADN ont un rôle actif dans le relais du signal de

RÉFÉRENCES

54. Crespo PN, Xu N, Simons WF, Gutkind JS. Ras-dependent activation of MAP kinase pathway mediated by G protein βγ subunits. *Nature* 1994 ; 369 : 418-20.

55. Tseng H, Peterson TE, Berk BC. Fluid shear stress stimulates mitogen-activated protein kinase in endothelial cells. *Circ Res* 1995 ; 77 : 869-78.

56. Burridge K, Turner CE, Romer LH. Tyrosine phosphorylation of paxillin and pp125FAK accompagnies cell adhesion to extracellular matrix : a role in cytoskeletal assembly. *J Cell Biol* 1992 ; 119 : 893-903.

57. Ishida T, Peterson TE, Kovach NL, Berk BC. MAP kinase activation by flow in endothelial cells. Role of β1 integrins and tyrosine kinases. *Circ Res* 1996 ; 79 : 310-6.

58. Nollert MU, Panaro NJ, Mcintire LV. Regulation of genetic expression in shear stress-stimulated endothelial cells. *Ann NY Acad Sci* 1992 ; 665 : 94-104.

59. Ranjan V, Diamond SL. Fluid shear stress induces synthesis and nuclear localization of c-foc in cultured human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 196 : 79-84.

60. Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF, Gimbrone MA. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive-element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 4591-5.

61. Malek AM, Izumo S. Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress. *J Cell Sci* 1996 ; 109 : 713-26.

62. Nagel T, Resnick N, Atkinson WJ, Dewey CF, Gimbrone MA. Sheer stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1994 ; 94 : 885-91.

63. Ohtsuka A, Ando J, Korenaga R, Kamiya A, Toyamasorimachi N, Miyasaka M. The effect of flow on the expression of vascular adhesion molecule-1 by cultured mouse endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 193 : 303-10.

64. Lan QX, Mercurius KO, Davies PF. Stimulation of transcription factors NFκB and AP1 in endothelial cells subjected to shear stress. *Biochem Biophys Res Commun* 1994 ; 201 : 950-6.

transduction mécanique entre le cytosol et le noyau de la cellule endothéliale [58]. Le cisaillement et l'étirement augmentent l'expression de *c-Fos* [59] et *c-Jun*, dont les produits sous forme de protéines dimériques se fixent aux éléments de réponse de type TRE *(tumor promoting agent [TPA] response element)* et activent ainsi la transcription. Les dimères c-Jun/c-Fos (complexe AP1) peuvent aussi, directement ou indirectement, inhiber la transcription de gènes normalement activés par l'acide rétinoïque, les hormones thyroïdiennes ou les hormones stéroïdes *(m/s n° 10, vol. 6, p. 1003; n° 2, vol. 8, p. 156)*. Par ailleurs, certains gènes semblent transcriptionnellement activés par le cisaillement ou l'étirement qui agissent, par un mécanisme encore inconnu, sur un élément de réponse dénommé SSRE *(shear stress responsive element)* de type GAGACC, trouvé notamment dans les promoteurs des gènes codant pour la NO synthase, PDGF-B, t-PA, TGF-β1, MCP-1, c-Fos et c-jun [60, 61]. La synthèse de la molécule d'adhérence ICAM-1 est également réglée positivement par le flux sanguin [62], alors que VCAM-1 est réglée négativement [63]. Le gène de ICAM-1 contient l'élément SSRE dans son promoteur, alors qu'il n'apparaît pas dans le promoteur du gène *VCAM-1*. Il semble que les facteurs de transcription AP-1 et NFκB soient également stimulés par les forces de cisaillement dans les cellules endothéliales [64].

Conclusion

De nombreux récepteurs présents à la surface des cellules musculaires lisses ou des cellules endothéliales sont sensibles aux forces mécaniques engendrées par la pression ou par le flux sanguin. Le cytosquelette et autres composants structuraux ont un rôle établi dans les processus de mécanotransduction. Ils peuvent transmettre et moduler la tension dans la cellule par l'intermédiaire des sites d'adhérence focale et des intégrines, de la matrice extracellulaire et des jonctions cellulaires. L'évolution des études de conformation tridimensionnelle des structures cellulaires par l'utilisation de la microscopie confocale ou de techniques d'analyse d'image couplée à la fluorescence permettra l'acquisition d'informations spatiales concernant l'organisation pariétale sous différentes conditions mécaniques. Outre les modifications structurales induites par les forces mécaniques, celles-ci déclenchent des cascades complexes d'événements biochimiques qui conduisent à des changements dans la composition ionique de la cellule, relayés par des canaux ioniques et/ou des jonctions communiquantes, ainsi que des modifications nucléaires relayées par les facteurs de transcription. De plus, de nombreuses voies intracellulaires, telles que la voie d'activation des protéines G, de la PKC et des MAP kinases sont stimulées par les contraintes mécaniques ■

Summary

Mechanotransduction in vascular cells

Mechanoreception is the most widely distributed sensory modality in animals. Mechanical forces regulate cell growth and biosynthesis in many tissues. Vessels are permanently exposed to two kinds of stresses: tensile stress originating from the arterial pressure, and shear stress, resulting from the blood flow. In arteries and veins, mechanical forces related to pressure and flow are crucial in determining blood vessel wall adaptation in normal and disease states. Blood flow regulates the diameter of arteries, both acutely and chronically through reorganisation of vascular wall cellular and extracellular components. Endothelium is involved in the response, thus functioning as a mechanically sensitive signal transduction interface between blood and artery wall, aimed at maintaining constant the wall shear stress. On the other hand, increased arterial pressure promotes total protein synthesis and vascular hypertrophy. This overview will focus on the possible signaling pathways involved in the transduction of the mechanical signal in endothelial and smooth muscle cells.

TIRÉS À PART

A. Tedgui.

LE COMITÉ CONSULTATIF NATIONAL D'ÉTHIQUE POUR LES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

a été créé en 1983 par le président de la République et est désormais inscrit dans la loi. Il rassemble une quarantaine de membres venant d'horizons très variés, qui réfléchissent aux dangers que les avancées de la science peuvent susciter. Organisme purement consultatif, sa mission est de « donner des avis sur les problèmes éthiques soulevés par les progrès de la connaissance dans les domaines de la biologie, de la médecine et de la santé et de publier des recommandations sur ces sujets ».

- Le Comité souhaitant participer à l'information du public et de toutes les professions intéressées publie, chaque trimestre, **« Les Cahiers du Comité consultatif national d'éthique »**.
- Chaque numéro des **« Cahiers du Comité »** est centré sur un thème ayant fait l'objet d'un avis récent du Comité. Il diffuse le texte intégral de l'avis accompagné de son rapport. Il présente une bibliographie, une étude de la situation à l'étranger et de libres propos d'intervenants extérieurs au Comité. Cette présentation des travaux du Comité faisant place à des données internationales, à de libres opinions permet d'avoir une appréciation plus globale des problèmes abordés.

L'abonnement aux « Cahiers du Comité consultatif national d'éthique » (4 numéros par an) est de 185 F.

Pour tout renseignement, s'adresser à madame Anne Bernard au Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé, 71, rue Saint-Dominique, 75007 Paris. Tél. : 01 44 42 48 52/53 - Fax : 01 44 42 48 48.