

ENDOTHÉLINE, NÉPHROPATHIES ET HYPERTENSION ARTÉRIELLE

par

J.-C. DUSSAULE*, J.-J. BOFFA**, P.-L. THARAUX**, F. FAKHOURI**,
R. ARDAILLOU** et C. CHATZIANTONIOU**

Durant les 20 dernières années, il est apparu que l'endothélium n'était pas une simple barrière vasculaire mais un organe capable de synthétiser des substances vasoactives exerçant de nombreux effets biologiques. Parmi ces substances, la découverte de la prostacycline, puis du monoxyde d'azote révolutionna les théories sur la régulation du débit cardiaque en mettant en évidence l'existence d'un tonus vasodilatateur actif, intrinsèque à la paroi vasculaire, s'opposant au tonus vasoconstricteur extrinsèque dû aux cathécolamines. En 1988, Yanagisawa [1] isolait un peptide vasoconstricteur d'un poids moléculaire de 2492 daltons qu'il nomma endothéline, à partir de surnageants de cellules endothéliales de porc en culture. Cette découverte suscita alors des interrogations, qui restent d'actualité, sur la signification physiologique de la synthèse d'un peptide vasoconstricteur par l'endothélium. Plus tard, l'utilisation de souches de souris transgéniques invalidées pour le peptide [2] ou l'un ou l'autre de ses récepteurs [3, 4] démontra le rôle vital de l'endothéline au cours du développement et, en particulier, dans la morphogénèse et dans la maturation cardiaque et de l'appareil digestif.

De manière paradoxale, l'implication en pathologie, notamment rénale, de l'endothéline est, actuellement, mieux comprise que son rôle physiologique à l'âge adulte (tableau I). L'endothéline est le plus puissant vasoconstricteur de l'organisme connu à ce jour et s'apparente au principe actif d'un venin, la sarafotoxine. Elle est impliquée dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires telles que l'hémorragie méningée, l'insuffisance cardiaque congestive ou l'infarctus du myocarde [5]. Une abondante littérature confirme la participation de l'endothéline à

* Service de physiologie, UFR Saint-Antoine, hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris.

** INSERM U489, hôpital Tenon, 4 rue de Chine, 75970 Paris Cedex 20.

TABLEAU I. — RÔLE SUPPOSÉ OU AVÉRÉ DE L'ENDOTHÉLINE EN PHYSIOPATHOLOGIE HUMAINE

1. EXCÈS D'ENDOTHÉLINE : IMPLICATION VRAISEMBLABLE DU RÉCEPTEUR ETA

ORGANE	PATHOLOGIE
Rein	Insuffisance rénale aiguë Ischémique Toxicité de la ciclosporine Toxicité des produits de contraste Syndrome hépatorénal Rhabdomyolyse Progression de l'insuffisance rénale chronique Complications de la transplantation Rejet aigu Rejet chronique
Cœur	Complications rénales de la sclérodermie Insuffisance cardiaque congestive Infarctus du myocarde Resténose après angioplastie coronaire
Vaisseaux	Hypertension artérielle pulmonaire Hypertension artérielle systémique Athérome Artériosclérose
Système nerveux	Hémorragie cérébro-méningée : spasme artériel
2. DÉFAUT D'ENDOTHÉLINE : ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT	
Récepteur ETA	Malformations craniofaciales Malformations cardiovasculaires
Récepteur ETB	Mégacôlon Maladie de Hirschsprung Défaut de différenciation des mélanoblastes

différents modèles ou circonstances cliniques d'insuffisance rénale aiguë. Le rôle de l'endothéline dans l'hypertension artérielle et dans la progression de l'insuffisance rénale chronique reste débattu. Ces questions présentent un intérêt thérapeutique potentiel car des antagonistes des récepteurs de l'endothéline et des inhibiteurs de sa synthèse sont ou seront disponibles.

Après avoir rappelé les notions essentielles de la biochimie et de la physiologie de cet autacoïde, nous envisagerons les néphropathies aiguës dans la genèse desquelles l'endothéline a été incriminée et insisterons davantage sur son implication potentielle dans la progression de l'insuffisance rénale chronique et dans la survenue d'une hypertension artérielle.

ASPECTS BIOCHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

Biochimie et effets propres de l'endothéline

L'endothéline est un peptide de 21 acides aminés, dont il existe 3 isoformes : ET-1, ET-2, ET-3. Les deux dernières isoformes diffèrent d'ET-1 respectivement par 2 et 6 acides aminés. Chez l'homme, les gènes codant pour ces peptides sont situés respectivement sur les chromosomes 6, 1 et 20. L'endothéline est synthétisée sous forme d'un précurseur inactif, la préproendothéline, clivé en proendothéline, ou *big endothelin* (big ET) par des endopeptidases. La *big endothelin* est transformée en endothéline active par l'enzyme de conversion de l'endothéline ou ECE dont il existe plusieurs isoformes [6, 7].

Dans la paroi vasculaire et le rein, l'ET-1 est majoritaire. La production d'ET-1 n'est pas limitée à l'endothélium. D'autres types cellulaires vasculaires et rénaux sont susceptibles de synthétiser ce peptide tels que les cellules musculaires lisses, mésangiales, épithéliales glomérulaires et tubulaires dans des conditions physiologiques ou pathologiques [8, 9]. La libération d'ET-1 est favorisée par des agents vasoconstricteurs (angiotensine II, vasopressine), la thrombine, des cytokines (interleukine-1, *tumor necrosis factor*, *transforming growth factor-β*), des facteurs physico-chimiques comme les forces de cisaillement s'exerçant sur la paroi des vaisseaux (*shear stress*) ou l'hypoxie et des médicaments comme la ciclosporine. À l'inverse, la production d'ET-1 est diminuée essentiellement par des agents vasodilatateurs (PGI₂, PGE₂, bradykinine, peptide auriculaire natriurétique, monoxyde d'azote) et les œstrogènes [5].

L'action de l'endothéline passe par sa liaison à des récepteurs spécifiques dont deux sous-types, ETA et ETB, ont été clonés chez les mammifères [10]. Les caractéristiques cinétiques de la liaison de l'endothéline à ses récepteurs se singularisent par une vitesse de dissociation extrêmement lente à laquelle on attribue le caractère prolongé des effets biologiques de l'endothéline exogène. La distribution tissulaire, en particulier rénale, des récepteurs ETA et ETB est connue grâce à l'utilisation d'antagonistes spécifiques. Ces récepteurs, à sept domaines transmembranaires, sont couplés à des protéines G. Les deux récepteurs coexistent en abondance dans les artérioles du cortex rénal, les glomérules, les vasa recta et les tubes collecteurs de la médullaire profonde [11]. Le récepteur ETA, exprimé en abondance par les cellules musculaires lisses, a une affinité plus élevée pour ET-1 et ET-2 que pour ET-3. L'affinité du récepteur ETB, préférentiellement exprimé par les cellules endothéliales est identique pour les différentes isoformes d'endothéline [6]. Classiquement, la liaison de ET-1 au récepteur ETA du muscle lisse vasculaire explique les effets vasoconstricteurs et mitogènes du peptide tandis que sa liaison à l'ETB endothéliale est à l'origine d'un effet vasodilatateur transitoire par libération de monoxyde d'azote (NO) et de prostacycline. En réalité, cette distinction est schématique, les récepteurs de type B (dont il existerait pour certains deux isoformes) étant également exprimés par les cellules musculaires lisses et mésangiales de façon variable selon les espèces.

Les voies de signalisation décrites pour l'ET-1 l'ont déjà été pour d'autres agents vasoconstricteurs. Il n'existe pas d'arguments clairs en faveur de voies de transduction distinctes pour les deux types de récepteurs, la signalisation intracellulaire dépendant des types cellulaires exprimant ces récepteurs. L'élévation de la concentration intracellulaire de calcium induite par l'endothéline est la conséquence d'une activation de la phospholipase C et de l'ouverture de canaux calci-

ques dépendant ou non du voltage (respectivement VOC et ROC). Comme l'angiotensine II, l'ET-1 stimule la phospholipase A2 (d'où une production d'acide arachidonique et de ses dérivés), la phospholipase D et la protéine kinase C [12]. Les effets mitogènes et ceux portant sur le remodelage vasculaire de l'ET-1 s'expliquent par l'activation de la voie de la protéine kinase C mais aussi de la cascade des MAP kinases qui aboutit à la transcription de proto-oncogènes comme c-fos et c-jun [13]. Ces voies de signalisation favorisent également la transcription de gènes de protéines de la matrice extracellulaire, notamment par les cellules mésangiales et musculaires lisses [14].

La colocalisation des sites rénaux de synthèse de l'ET-1 et de ses récepteurs, le caractère polarisé de sa production endothéliale et sa faible concentration dans l'artère rénale (inférieure au seuil associé à un effet biologique) sont en faveur d'une action autocrine ou paracrine de ce peptide. En investigation clinique, la mesure de l'ET-1 urinaire est un reflet de la production rénale. En revanche, l'ET-1 n'est quasiment pas détectable dans la veine rénale, ce qui témoigne des capacités de dégradation du peptide par cet organe, en partie liées à l'expression vasculaire, glomérulaire et tubulaire d'endopeptidase neutre [15].

La vasoconstriction est l'effet biologique le plus anciennement connu de l'ET-1. L'administration d'ET-1 exogène entraîne une augmentation des résistances vasculaires rénales et une diminution marquée du flux sanguin rénal [16-18]. Des concentrations plasmatiques plus élevées d'ET-1 diminuent le coefficient d'ultrafiltration glomérulaire. La mesure des flux sanguins rénal, bronchique, fémoral et coronaire après administration d'ET-1 montre que la sensibilité du lit vasculaire rénal à ce peptide est 10 fois supérieure à celle des autres lits vasculaires. Cependant, la majorité des études ont conclu à un effet peu marqué ou nul, chez l'animal normal, des antagonistes des récepteurs de l'ET-1 sur le flux sanguin rénal et sur la filtration glomérulaire, ce qui suggère l'absence de rôle physiologique majeur de ce peptide dans le contrôle de l'hémodynamique rénale [19]. Cette observation s'explique vraisemblablement par les interactions, envisagées ultérieurement, entre le NO et l'ET-1. L'étude des effets de l'ET-1 sur l'excrétion urinaire de l'eau et du sodium a abouti à des résultats contradictoires selon les espèces. Ainsi chez le rat, l'ET-1 exogène est natriurétique tandis que chez l'homme, elle favorise la réabsorption de sodium. En fait, les effets tubulaires propres de l'ET-1 tendent à diminuer la réabsorption d'eau (par un effet antagoniste de celui de l'hormone antidiurétique) et de sodium. Cependant, la diminution des flux sanguins cortical et médullaire induite par ce peptide s'oppose à cette action tubulaire et peut s'avérer prépondérante [19-21].

Interactions entre NO et ET-1

Différents modèles *in vitro* et *in vivo* démontrent l'existence d'interactions entre le NO et l'ET-1. Ainsi, l'augmentation de la production de NO par des cellules endothéliales humaines réduit l'expression de l'ARNm de l'ET-1 tandis que sa diminution l'amplifie [22]. Dans des cellules CHO transfectées, le NO empêche la mobilisation du calcium intracellulaire par l'ET-1 [23]. Dans l'aorte, la production d'ET-1 est inhibée en présence de NO et stimulée en cas de carence de NO [24]. Les mêmes exemples s'observent en physiologie rénale. Les antagonistes des récepteurs ETA préviennent la vasoconstriction rénale, la diminution du flux sanguin rénal et de la filtration glomérulaire induites par les inhibiteurs

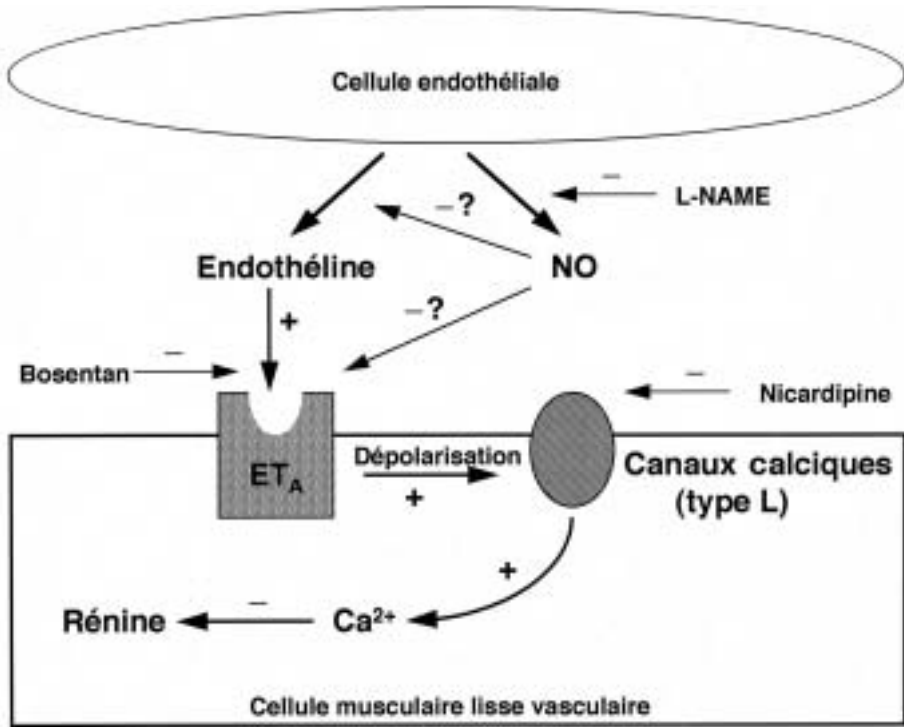


FIG. 1.— Interactions entre le monoxyde d’azote et l’endothéline sur la sécrétion de rénine. Le mode d’action direct du monoxyde d’azote sur les cellules productrices de rénine ne figure pas car son rôle semble secondaire dans les conditions expérimentales choisies [26].

des NO synthases [25]. Dans notre laboratoire, l’étude du rôle des facteurs endothéliaux sur la synthèse de rénine [26] a confirmé l’interaction entre les deux auto-coïdes. Chez des animaux préalablement traités par un inhibiteur de l’enzyme de conversion pour stimuler la synthèse de rénine, l’expression de l’ARNm et l’activité de l’enzyme ont été mesurées dans des artérioles préglomérulaires isolées. Le traitement des rats par un inhibiteur des NO synthases, le L-NAME, a prévenu la stimulation de la synthèse de rénine induite par l’inhibiteur de l’enzyme de conversion. Chez les animaux traités par l’association de bosentan, un antagoniste mixte des récepteurs de l’endothéline, et de l’inhibiteur de l’enzyme de conversion, la production de rénine était identique à celle des animaux traités par l’inhibiteur de l’enzyme de conversion seul. En revanche, le bosentan a quasi entièrement empêché l’action inhibitrice du L-NAME. Ainsi, l’effet physiologique inhibiteur de l’ET-1 endogène sur la rénine, constaté *in vitro* [27], ne s’est démasqué que lorsque la production rénale de NO a été supprimée. Dans cette situation, l’ET-1 endogène, en augmentant la concentration de calcium intracellulaire dans les cellules productrices de rénine (puisque l’effet du bosentan était mimé par celui d’inhibiteurs de canaux calciques dépendant du voltage), a inhibé la synthèse de l’enzyme (fig. 1). En revanche, lorsque le NO était produit

par les cellules endothéliales, l'ET-1 endogène était sans influence sur la synthèse de rénine. Des expériences ultérieures ont permis de confirmer que la production artériolaire rénale d'ET-1 était augmentée en cas de carence en NO [28]. On ne peut exclure que l'absence de NO favorise l'activité de l'ET-1 dans des étapes ultérieures, par une « *up-regulation* » des récepteurs ETA ou par une levée de l'inhibition par le NO des voies de signalisation intracellulaires de l'ET-1 [23, 29]. Enfin, il faut noter que l'ET-1, en activant les récepteurs ETB endothéliaux pourrait renforcer la production de NO et, par ce mécanisme de rétrocontrôle négatif indirect, limiter sa propre action.

Interactions entre l'angiotensine II et l'ET-1

L'angiotensine II et l'ET-1 partagent un certain nombre d'effets hémodynamiques rénaux ainsi que la capacité de stimuler la prolifération cellulaire et la synthèse de protéines de la matrice extracellulaire. Certains auteurs [30] ont suggéré que l'absence d'effets significatifs des antagonistes des récepteurs de l'ET-1 s'expliquait par la capacité de l'angiotensine II à relayer l'action vasculaire et glomérulaire de l'ET-1 endogène lorsque celle-ci était bloquée. Cette proposition est vraisemblable lorsque le système rénine-angiotensine est stimulé mais ne doit pas faire conclure à la redondance des deux systèmes vasoconstricteurs. En réalité, l'interaction entre l'angiotensine II et l'ET-1 est asymétrique, ne serait-ce que dans le contrôle réciproque de leur synthèse. Nous avons vu précédemment que l'ET-1 inhibait la production de rénine et donc indirectement celle d'angiotensine II. Au contraire, la production d'ET-1 par les cellules endothéliales ou mésenchymateuses est stimulée par l'angiotensine II [31, 32]. Lors de la perfusion prolongée d'angiotensine II chez le rat, le contenu en ET-1 de l'aorte et du rein est augmenté [33]. Chez le volontaire sain, la perfusion d'angiotensine II augmente la concentration plasmatique d'ET-1 [34]. En faveur de l'implication de l'ET-1 dans les effets de l'angiotensine II, deux séries d'arguments peuvent être relevées. D'une part, les traitements par inhibiteurs de l'enzyme de conversion diminuent ou normalisent la production d'ET-1, en particulier rénale, dans des cardiopathies expérimentales s'accompagnant d'une activation du système rénine-angiotensine [35, 36]. De même, chez des patients hypertendus ou en insuffisance cardiaque congestive, le losartan, un antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine II, diminue significativement la concentration plasmatique d'ET-1 [37]. D'autre part, plusieurs exemples démontrent qu'au moins les effets mitogènes et de remodelage vasculaire attribués à l'angiotensine II dépendent de l'activité de l'endothéline. Ainsi, dans le modèle d'hypertension artérielle expérimentale par perfusion d'angiotensine II, le traitement préventif des animaux par des antagonistes des récepteurs de l'endothéline limite les modifications structurales des vaisseaux artériels et réduit de façon marquée l'intensité des lésions rénales alors même que l'effet hémodynamique de ce traitement est inconstant [38, 39]. Dans notre laboratoire, des résultats similaires ont été observés lors de l'étude des effets de l'angiotensine II sur la synthèse aortique et rénale de collagène de type I [40, 41]. Le modèle d'étude a consisté en une souche de souris transgéniques exprimant la luciférase et la galactosidase sous le contrôle du promoteur de la chaîne alpha 2 du collagène de type I (coll I $\alpha 2$). Chez ces animaux, l'administration par voie intrapéritonéale ou intraveineuse d'angiotensine II entraîne l'élévation rapide de l'activité luciférase (après 1 h lors de

l'injection intraveineuse) qui traduit l'activation de la transcription de coll I $\alpha 2$. L'action de l'angiotensine II est totalement bloquée, non seulement par le candésartan, un antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine II mais aussi par la décorine, un chélateur du TGF- β actif et par le bosentan. L'administration d'ET-1 stimule l'activité luciférase sans que cet effet soit inhibé par la décorine ou le candésartan. Ces résultats démontrent que l'effet profibrosant immédiat de l'angiotensine II exogène nécessite la présence d'ET-1 et de TGF- β actifs alors que l'ET-1 a un effet propre, indépendant de l'activation du système rénine-angiotensine et du TGF- β . Dans un autre modèle, les effets hémodynamiques rénaux de l'ET-1 exogène n'ont pas été modifiés après le blocage de la synthèse d'angiotensine II par un inhibiteur de l'enzyme de conversion [42]. L'ensemble de ces données expérimentales confirme l'existence d'interactions fortes entre l'angiotensine II et l'ET-1 dans la paroi vasculaire et le rein telles que le second peptide se comporte comme un effecteur du premier, au moins pour ses effets sur le remodelage vasculaire et le développement de la fibrose.

ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES

Endothéline et insuffisance rénale aiguë

De nombreux arguments plaident en faveur de l'implication de l'ET-1 dans l'insuffisance rénale aiguë ischémique. L'expression du gène de l'ET-1 et sa synthèse peptidique sont augmentées dans le modèle d'insuffisance rénale aiguë post-ischémique du rat [43] comme l'affinité du peptide pour ses deux types de récepteur [44]. Il a été observé de manière reproductible, que les anticorps anti-endothéline et les antagonistes mixtes ou anti-ETA avaient un effet protecteur sur la filtration glomérulaire et réduisaient la mortalité dans ce modèle expérimental [45, 46]. D'un intérêt particulier sont les travaux dans lesquels les antagonistes des récepteurs ont été administrés au décours de la phase d'ischémie [46] puisqu'ils s'apparentent à un traitement curatif et non préventif de l'insuffisance rénale aiguë.

Ces données sont d'autant plus importantes que l'ischémie rénale est un mécanisme physiopathologique fréquemment en cause dans l'insuffisance rénale aiguë humaine. Elle participe à la néphrotoxicité de la ciclosporine et des produits de contraste, à la nécrose tubulaire aiguë par rhabdomyolyse et à la première étape de l'ischémie-reperfusion du rein transplanté [47]. Dans les modèles reproduisant ces situations cliniques, l'utilisation préventive des antagonistes des récepteurs de l'endothéline s'est avérée efficace comme l'indiquent les résultats expérimentaux rappelés ci-dessous :

– la néphrotoxicité de la ciclosporine se caractérise par une réduction aiguë du flux sanguin rénal et de la filtration glomérulaire suivie par une détérioration progressive de la fonction rénale. Le fait que la ciclosporine stimule la libération d'ET-1 par les cellules endothéliales et musculaires lisses *in vitro* [48], sa synthèse rénale chez l'animal vivant [49] et vraisemblablement chez l'homme [50] est un argument en faveur de l'implication du peptide dans les effets rénaux toxiques de ce médicament. Plusieurs études chez l'animal ont, de plus, conclu à l'effet protecteur des antagonistes des récepteurs de l'endothéline vis-à-vis des effets hémodynamiques rénaux délétères induits par un tel traitement [51], même si les

lésions chroniques rénales obéissent à d'autres mécanismes physiopathologiques [47] ;

– des résultats prometteurs ont également été obtenus avec les antagonistes des récepteurs de l'endothéline dans la prévention de l'insuffisance rénale aiguë expérimentale, induite par un produit de contraste (en présence d'inhibiteurs des NO synthases et de la cyclooxygénase) [52, 53], sachant que les produits de contraste ioniques favorisent, *in vitro* et *in vivo*, la production d'ET-1 [54, 55] ;

– des travaux plus récents témoignent également de la réduction du risque d'insuffisance rénale aiguë au décours de la transplantation rénale chez le rat après traitement par des antagonistes des récepteurs de l'endothéline [47].

Il reste à prouver par des études cliniques que ces données expérimentales s'appliquent à la pathologie humaine. Le même type de remarque peut être fait, nous le reverrons, à propos de la prévention de la progression de l'insuffisance rénale chronique et des complications rénales de l'hypertension artérielle.

Endothéline et progression de l'insuffisance rénale chronique

Limiter la progression de l'insuffisance rénale chronique pour éviter son évolution spontanée vers un stade terminal est un objectif thérapeutique d'une importance majeure. Si, sur ce thème, des résultats positifs ont été obtenus ces dernières années, en particulier avec l'utilisation des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine [56, 57], des progrès restent à accomplir en testant de nouvelles hypothèses physiopathologiques. La capacité de l'ET-1 à induire une prolifération cellulaire, en particulier mésangiale [14] et à stimuler la synthèse de la matrice extracellulaire, ses effets vasoconstricteurs propres s'exerçant sur la glomérule et sa responsabilité vraisemblable dans les effets à long terme de l'angiotensine II ont conduit de nombreux groupes à envisager son rôle pathogène dans la progression de l'insuffisance rénale chronique. Venant confirmer cette proposition, la surexpression du gène de l'ET-1 humaine sous le contrôle de son promoteur chez la souris a eu pour conséquence la survenue d'une glomérulosclérose et d'une fibrose interstitielle sévères avec réduction progressive de la filtration glomérulaire sans hypertension artérielle [58]. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la surexpression du gène de l'ET-2 humaine chez le rat [59].

De nombreuses études ont démontré que la production rénale d'ET-1 ou l'expression de son récepteur ETB (ce qui pourrait témoigner d'un mécanisme compensateur encore mal compris) étaient augmentées au cours de l'évolution des néphropathies expérimentales ou humaines. Divers exemples peuvent être cités. Ainsi, chez le rat rendu diabétique par injection de streptozotocine, l'expression glomérulaire de l'ARNm de l'ET-1 augmente parallèlement à la progression de la néphropathie [60]. Dans le modèle de glomérulonéphrite proliférative par injection d'anticorps antithymocytes, l'expression glomérulaire d'ET-1 et des récepteurs ETB s'élève également [61]. Dans l'insuffisance rénale chronique du rat par réduction néphronique, l'expression rénale de l'ARNm de l'ET-1 et l'excrétion urinaire d'ET-1 augmentent de manière corrélée à la protéinurie et à la dégradation de la fonction rénale [62]. Les travaux d'investigation clinique sont moins nombreux mais suggèrent qu'il existe chez l'homme une élévation du taux d'ET-1 rénal au cours des néphropathies compliquées d'insuffisance rénale. Dans

une étude contrôlée comparant insuffisants rénaux chroniques et sujets sains, l'excrétion d'ET-1 urinaire était significativement élevée chez les urémiques par rapport aux témoins [63]. Au cours de l'évolution de la néphropathie diabétique, l'ET-1 plasmatique et urinaire augmente en même temps que la fonction rénale se dégrade [64]. Dans les néphropathies à IgA, il existe une corrélation positive entre l'expression de l'ARNm de l'ET-1 monocytaire d'une part, la créatininémie, la sévérité histologique de la néphropathie et la protéinurie, d'autre part [65].

Plusieurs théories ont été avancées pour expliquer l'augmentation de la production rénale d'ET-1 au cours de l'évolution des néphropathies. Dans le modèle d'insuffisance rénale accélérée par réduction de la masse rénale chez des souris invalidées pour le gène de la vimentine, l'excès d'ET-1 rénale pourrait provenir d'une synthèse accrue dans le compartiment vasculaire. L'absence de vimentine entraînerait une dysfonction endothéliale avec réduction de la production de NO et augmentation de celle de l'ET-1 selon le schéma préalablement envisagé [66]. Par ailleurs, l'activité accrue de l'angiotensine II sur les cellules glomérulaires pourrait également stimuler la synthèse locale d'ET-1 [67]. D'autre part, l'augmentation de la réabsorption d'albumine par le tubule proximal lorsque la perméabilité du filtre glomérulaire aux protéines est accrue, favoriserait la production d'ET-1 dans l'interstitium [68]. Enfin, l'activation plaquettaire dans les capillaires glomérulaires serait également en cause puisqu'elle provoque la libération de substances vasoactives et de cytokines tel le TGF- β dont on sait qu'il induit la libération d'ET-1 par l'endothélium [69].

Dans le prolongement de ces données physiopathologiques, l'efficacité des antagonistes des récepteurs de l'endothéline a été démontrée dans divers modèles animaux de néphropathie chronique, ce qui justifie la mise en œuvre de protocoles d'investigation clinique afin de vérifier que ces résultats expérimentaux s'appliquent à la pathologie humaine. Ainsi, chez la souris, l'action préventive au long cours des antagonistes spécifiques des récepteurs ETA a été mise en évidence dans la néphropathie lupique (souris NZB /W F1) et la néphropathie à IgA (souris ddY) [70, 71]. Dans les deux modèles, ce traitement a permis une réduction de la protéinurie et des lésions histologiques, une amélioration de la filtration glomérulaire et une moindre élévation de la pression artérielle. Dans un modèle de rejet chronique après transplantation rénale chez le rat, le traitement préventif par un antagoniste des récepteurs ETA a également diminué la valeur moyenne de la protéinurie et significativement augmenté le débit de filtration glomérulaire [72]. Les effets bénéfiques des antagonistes des récepteurs de l'endothéline vis-à-vis du développement de la glomérulosclérose ont également été constatés dans la néphropathie diabétique [73]. Dans les modèles de réduction néphronique [74, 75] et de glomérulonéphrite proliférative à complexes immuns [76], un traitement par antagoniste des récepteurs de l'endothéline a été entrepris à titre curatif et non préventif. Dans ces conditions, plus aisément transposables aux situations cliniques, le bosentan, dans le modèle d'insuffisance rénale chronique par néphrectomie des 5/6 chez le rat [74], a diminué la protéinurie et limité la diminution du débit de filtration glomérulaire, de sorte que la mortalité était largement réduite dans le groupe traité par rapport au groupe témoin. Des travaux comparables portant sur l'utilisation d'antagonistes des récepteurs de l'endothéline dans des modèles de réduction néphronique ont conclu, dans leur majorité [66, 75, 77] mais pas dans leur totalité [78], à un effet protecteur prolongé de ce traitement.

Endothéline et hypertension artérielle

L'endothéline, dès sa découverte, est apparue comme susceptible d'intervenir dans la régulation de la pression artérielle et d'être impliquée dans le développement et/ou les complications de l'hypertension artérielle. Ces hypothèses reposaient sur des données *in vitro* et *in vivo* qui témoignaient du caractère vasoconstricteur de l'endothéline et sur l'élévation de la pression artérielle induite par l'administration des différentes isoformes de l'endothéline chez l'animal comme chez l'homme [5]. À l'heure actuelle, ce sujet reste débattu, les auteurs cherchant à répondre aux questions suivantes :

1) L'une des isoformes de l'endothéline est-elle davantage synthétisée ou plus active dans les modèles animaux ou dans l'hypertension artérielle dite essentielle ? Dans la majorité des modèles expérimentaux d'hypertension artérielle, il a effectivement été observé que la concentration d'ET-1 était accrue dans la paroi vasculaire et/ou dans le rein [7] (tableau II). Deux modèles d'hypertension artérielle fournissent les données les plus claires. Il s'agit du rat DOCA-sel [79] qui reproduit le syndrome minéralo-corticoïde humain et du rat Dahl sensible au sel qui est également un modèle volodépendant d'hypertension artérielle [80]. À l'inverse, chez le rat SHR [81], la production d'ET-1 est soit normale (dans les vaisseaux), soit abaissée (dans le rein). Il est intéressant de noter que la surexpression de l'ET-1,

TABLEAU II. — EXPRESSION VASCULAIRE D'ET-1 ET CONSÉQUENCES DU BLOCAGE PRÉVENTIF DES RÉCEPTEURS DE L'ENDOTHÉLINE DANS DIFFÉRENTS MODÈLES D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

MODÈLES D'HYPERTENSION	EXPRESSION D'ET-1 DANS LES VAISSEaux ARTÉRIELS	BLOCAGE DES RÉCEPTEURS ETA OU ETA/ETB	
		PRESSION ARTÉRIELLE	HYPERTROPHIE VASCULAIRE OU FIBROSE RÉNALE
DOCA-Sel	Augmentée	Diminue	Protection
Dahl-sensible au sel	Augmentée	Diminue	Protection
Angiotensine II (perfusée)	Augmentée	Pas d'effet ou diminution modérée	Protection
Réno-vasculaire 1 clip deux reins	Augmentée (cœur et rein)	Pas d'effet	Protection
L-NAME	Augmentée (cœur et rein)	Pas d'effet ou diminution modérée	Protection
SHR	Normale	Pas d'effet	Protection faible
SHR + L-NAME	Augmentée (aorte)	Pas d'effet	Protection faible
SHR + DOCA	Augmentée (rein)	Diminution	Protection modérée
SHR « stroke-prone »	Augmentée	Diminution modérée	Protection

lorsqu'elle est constatée, est localisée dans des vaisseaux hypertrophiés (dans le modèle DOCA-sel) ou altérés (modèle de perfusion d'angiotensine II ou de carence en NO). La démonstration d'une synthèse vasculaire exagérée d'ET-1 est moins aisée chez l'homme hypertendu que chez l'animal parce que le contenu artériel en ET-1 est peu corrélé à sa concentration plasmatique, d'autant que 80 p. 100 de sa sécrétion vasculaire s'effectue sur le versant non luminal de l'endothélium. On notera cependant qu'au cours de l'hypertension artérielle maligne et de la toxémie gravidique, des concentrations particulièrement élevées d'ET-1 ont été mesurées dans le plasma [5]. Récemment, l'activité de l'endothéline sur la vasomotricité artérielle a été comparée chez des sujets hypertendus et des volontaires sains [82]. Les auteurs ont conclu, en utilisant des antagonistes de ses récepteurs, à un excès d'activité vasoconstrictrice de l'endothéline endogène chez les patients hypertendus. L'expression de l'ET-1 vasculaire mesurée à partir de prélèvements artériels réalisés pendant un acte chirurgical est cohérente avec ce résultat puisque, dans cette étude, la synthèse du peptide était corrélée à la pression artérielle et intéressait non seulement l'endothélium mais la média chez les sujets hypertendus (ou athéroscléreux) [83].

Chez l'homme comme chez l'animal, il faut noter que les mécanismes conduisant à la surexpression du gène de l'ET-1 *in vivo* restent mal compris même si l'existence d'une « dysfonction endothéliale » a souvent été invoquée. Par ailleurs, les modifications d'expression des récepteurs ETA et ETB pourraient également moduler l'activité de l'ET-1 en pathologie mais les travaux sur ce thème sont encore rares chez l'animal hypertendu et n'ont pas montré, jusqu'à présent, de lien entre une surexpression des récepteurs et un effet antihypertenseur prolongé des antagonistes de l'endothéline [84, 85].

2) Les animaux invalidés pour les gènes codant pour l'une des isoformes de l'endothéline ou pour leurs récepteurs ont-ils une pression artérielle abaissée ? Compte tenu du rôle de l'endothéline au cours du développement [2, 3, 4], les résultats des mesures de pression artérielle chez les souris génétiquement modifiées pour les isoformes de l'endothéline ou de leurs récepteurs, doivent être interprétés avec précaution du fait des mécanismes de compensation vraisemblablement mis en place au cours de la vie fœtale. Il est cependant paradoxal de constater que les souris hétérozygotes invalidées pour le gène codant pour ET-1 sont hypertendues [2]. L'hypertension artérielle chez les souris exprimant faiblement le récepteur ETB s'explique mieux puisque ce récepteur, présent de façon majoritaire dans l'endothélium, favorise la synthèse de prostacycline et de NO [86]. Globalement, ces modèles s'avèrent donc d'un intérêt limité pour appréhender le rôle de l'ET-1 dans la régulation de la pression artérielle chez l'animal adulte.

3) Existe-t-il une association entre l'augmentation primitive de la production d'ET-1 et une hypertension artérielle ? À cette question, la pathologie humaine apporte une réponse positive puisque les exceptionnelles tumeurs vasculaires de type hémangioendothéliome associent ces deux symptômes [87]. On pourra rapprocher de cette observation, les complications hypertensives de la ciclosporine, dont on sait qu'elle augmente la production endothéliale d'ET-1 *in vitro* et *in vivo* [48, 49]. Chez l'animal, la surexpression permanente des gènes de l'une ou l'autre des isoformes de l'endothéline n'aboutit pas à des résultats univoques. Lorsque le gène de l'ET-1 humaine sous le contrôle d'un promoteur viral est surexprimé dans le foie de rats, les animaux sont hypertendus [88]. Ce type d'expérience est cependant difficile à interpréter en l'absence de régulation de l'expression du gène. Dans

des conditions plus proches de la physiopathologie, lorsque les gènes codant pour l'ET-1 ou l'ET-2 humaines [58, 59] sous le contrôle de leur propre promoteur sont surexprimés respectivement chez la souris et le rat, les animaux ne deviennent pas hypertendus mais développent une glomérulosclérose.

4) Finalement, la dernière question posée est d'ordre pharmacologique. Quelle est l'efficacité des antagonistes des récepteurs de l'endothéline dans l'hypertension artérielle ? Des résultats contradictoires ont été rapportés sur les conséquences du blocage des récepteurs de l'endothéline sur la pression artérielle de l'animal normal. Ceci s'explique vraisemblablement par des modalités expérimentales différentes tant à propos de l'espèce étudiée que des délais choisis pour mesurer la pression artérielle après l'administration des antagonistes [19]. Chez le sujet volontaire sain, un résultat positif a été obtenu avec un antagoniste mixte puissant [89]. La perfusion de TAK-044 a entraîné la réduction de 4 p. 100 de la pression systolique, de 18 p. 100 de la diastolique et de 26 p. 100 des résistances vasculaires périphériques sur une période de 24 h. Ce résultat a été la première démonstration que l'endothéline intervenait dans la régulation de la pression artérielle chez l'homme (8 ans après sa découverte). La baisse de la pression artérielle, sous l'effet du TAK-044, s'explique très vraisemblablement par le blocage des récepteurs ETA puisque l'utilisation d'un anti-ETB spécifique chez l'homme normotendu entraîne une élévation des résistances périphériques [90].

L'efficacité anti-hypertensive des antagonistes mixtes ou anti-ETA varie selon les modèles expérimentaux en fonction de l'expression vasculaire du peptide (voir tableau II). Ainsi, ces substances s'avèrent efficaces dans le modèle DOCA-sel [91] et chez le rat Dahl sensible au sel [92], y compris lorsqu'elles sont administrées de manière curative et non préventive. Elles le sont également, à un moindre degré, dans les modèles animaux reproduisant l'hypertension artérielle humaine accélérée ou maligne (rat SHR traité par un inhibiteur des NO synthases [93] ou par la DOCA [94] ou appartenant à la souche « *stroke prone* » caractérisée par la précocité des accidents vasculaires cérébraux [95]). En revanche, les antagonistes des récepteurs de l'endothéline ont un effet hypotenseur faible ou nul dans les modèles d'hypertension artérielle par carence en NO [28, 96, 97], l'hypertension rénine-dépendante (hypertension rénovasculaire à 1 clip et 2 reins [98] ou obtenue par perfusion d'angiotensine II [99], modèle transgénique avec surexpression de la rénine et de l'angiotensinogène [100]) ainsi que chez le rat SHR [85]. À ce jour, peu d'études ont été publiées sur l'action antihypertensive chez l'homme des antagonistes des récepteurs de l'endothéline. Une seule [101], incluant un nombre important de patients hypertendus dont la diastolique était comprise entre 95 et 107 mmHg, a conclu à une efficacité équivalente des doses les plus élevées de bosentan et de celles habituellement utilisées avec un inhibiteur de l'enzyme de conversion (énalapril à la posologie de 20 mg/j).

Au-delà de leurs effets hémodynamiques systémiques, variables chez l'animal et encore peu documentés chez l'homme, un concept général émerge des études expérimentales sur le caractère protecteur des antagonistes des récepteurs de l'ET-1 pour les organes cibles de l'hypertension artérielle [102]. Les données actuelles permettent de conclure que l'usage des antagonistes des récepteurs de l'endothéline limite le remodelage vasculaire cardiaque et périphérique, le risque d'accident vasculaire cérébral et/ou de détérioration de la fonction rénale et/ou la fréquence des décès prématuré, indépendamment de leur action sur les chiffres de pression artérielle, dans la totalité des modèles animaux d'hypertension artérielle testés, y

compris celui du rat SHR. Ces observations sont à rapprocher de l'influence bénéfique, précédemment évoquée, de ces substances sur la progression de l'insuffisance rénale chronique. Il faut toutefois noter que la grande majorité des travaux réalisés témoignent de l'action préventive et non curative de ces antagonistes. Les mécanismes physiopathologiques sous-tendant cet effet protecteur sont encore mal compris et pourraient faire intervenir des effets vasodilatateurs locaux difficiles à appréhender. À titre d'exemples, un certain nombre d'études seront citées. Ainsi dans les modèles rénine-dépendants, l'altération des vaisseaux artériels [100], l'hypertrophie cardiaque [98], et le développement d'une néphro-angiosclérose [99] sont partiellement prévenus par les antagonistes des récepteurs de l'endothéline alors que la pression artérielle reste élevée. La protection rénale et vasculaire induite par un anti-ETA dans le modèle DOCA-sel était escomptée puisqu'elle est associée à une baisse de la pression artérielle mais, a contrario, il est intéressant de noter qu'un anti-ETB aggrave ces lésions sans modifier les chiffres de pression [91]. Dans le modèle de carence en NO caractérisé par des lésions rénales précoces, les anti-ETA et les inhibiteurs mixtes limitent le développement de la glomérulosclérose malgré une efficacité antihypertensive faible [97] ou nulle [103]. Dans notre laboratoire, nous avons eu l'opportunité d'étudier l'action du bosentan sur le développement de la fibrose rénale dans le modèle de carence en NO par administration de L-NAME. Le principal paramètre étudié a été la production anormale de collagène de type I par les artérioles rénales et les glomérules. Chez la souris [96] comme chez le rat [28], nous avons observé un effet protecteur majeur du bosentan vis-à-vis du développement de la néphro-angiosclérose et de la glomérulosclérose bien que l'hypertension artérielle perdurât à un niveau identique à celui des animaux recevant le L-NAME seul. Au cours de ces travaux, il est également apparu que la production vasculaire anormale d'ET-1 coïncidait avec les lésions artériolaires rénales. Enfin, le losartan, un antagoniste des récepteurs AT1 de l'angiotensine II, utilisé à une posologie insuffisante pour abaisser la pression artérielle de souris traitées par le L-NAME a simultanément diminué la fibrose et la production d'ET-1 rénales [40]. Compte tenu des interactions entre NO, ET-1 et angiotensine II préalablement évoquées, nous avons proposé un schéma physiopathologique dans lequel le NO endogène réprime la synthèse de collagène de type I par le rein tandis que l'angiotensine II et l'ET-1 la stimulent, l'ET-1 apparaissant comme un effecteur secondaire de cet effet délétère de l'angiotensine II (fig. 2).

En conclusion, il existe un faisceau d'arguments pour penser que la production vasculaire et rénale d'endothéline (et plus précisément d'ET-1) est augmentée dans une majorité de modèles d'hypertension artérielle et que cette surexpression participe à la maladie hypertensive expérimentale et humaine. L'un des objectifs thérapeutiques que devraient se fixer les travaux d'investigation clinique à venir serait de prouver que le fait de diminuer l'activité rénale de l'ET-1 apporte un élément bénéfique supplémentaire, par rapport aux moyens thérapeutiques actuels, dans la prévention de la progression de l'insuffisance rénale aussi bien pour les néphropathies primitives qu'au cours des complications rénales du diabète ou de l'hypertension artérielle. Le choix de la meilleure cible pharmacologique chez l'homme est encore discuté. Logiquement, les antagonistes des récepteurs ETA apparaissent plus appropriés que les antagonistes mixtes en pathologie humaine mais des doutes subsistent encore à cet égard. L'importance du débat s'atténuera peut-être dans l'avenir si les inhibiteurs de la synthèse de l'ET-1 s'avèrent aussi ou même plus efficaces que les antagonistes des récepteurs de l'endothéline [104].

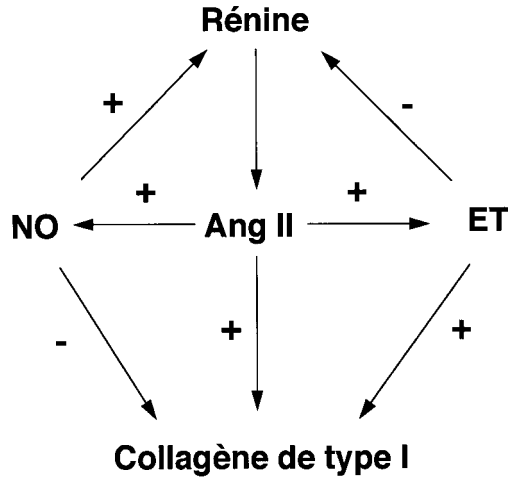


FIG. 2. — Interactions vraisemblables du monoxyde d'azote, de l'ET-1 et de l'angiotensine II dans l'activation pathologique de la synthèse rénale du collagène de type I et boucles de régulation entre ces trois agents vasomoteurs.

BIBLIOGRAPHIE

1. YANAGISAWA M, KURIHARA H, KIMURA S et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, **332**, 411-415.
2. KURIHARA Y, KURIHARA H, SUZUKI H et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature*, 1994, **368**, 703-710.
3. HOSODA K, HAMMER RE, RICHARDSON JA et al. Targeted and natural (Piebald-lethal) mutations of endothelin-B receptor gene produce megacolon associated with spotted coat color in mice. *Cell*, 1994, **79**, 1267-1276.
4. CLOUTHIER DE, HOSODA K, RICHARDSON JA et al. Cranial and cardiac neural crest defects in endothelin-A receptor deficient mice. *Development*, 1998, **125**, 813-824.
5. HOCHER B, THÖNE-REINEKE C, BAUER C et al. The paracrine endothelin system : Pathophysiology and implications in clinical medicine. *Eur J Chem Clin Biochem*, 1997, **35**, 175-189.
6. SIMONSON MS. Endothelins : multifunctional renal peptides. *Physiol Rev*, 1993, **2**, 375-411.
7. BARTON M, LUSCHER TF. Endothelin antagonists for hypertension and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1999, **8**, 549-556.
8. CYBULSKY AV, STEWART DJ, CYBULSKY MI. Glomerular epithelial cells produce endothelin-1. *J Am Soc Nephrol*, 1993, **3**, 1398-1404.
9. KOHAN DE. Endothelin synthesis by rabbit renal tubule cells. *Am J Physiol*, 1991, **261**, F221-F226.
10. SAKURAI T, YANAGISAWA M, MASAKI T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, **13**, 103-108.
11. JONES CR, HILEY CR, PELTON JT et al. Autoradiographic localisation on endothelin binding sites in kidney. *Eur J Pathol*, 1989, **163**, 379-382.
12. NORD EP. Signalling pathways activated by endothelin stimulation of renal cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1996, **23**, 331-336.
13. SIMONSON MS, JONES JM, DUNN MJ. Differential regulation of fos and jun gene expression and AP-1 cis element activity by endothelin isopeptides : possible implications for mitogenic signaling by endothelin. *J Biol Chem*, 1992, **267**, 8643-8649.

14. GOMEZ-GARRE D, RUIZ-ORTEGA M, ORTEGO M et al. Effects and interactions of endothelin-1 and angiotensin II on matrix protein expression and synthesis and mesangial cell growth. *Hypertension*, 1996, **27**, 885-892.
15. EDWARDS RM, PULLEN M, NAMBI P. Distribution of neutral endopeptidase activity along the rat and the rabbit nephron. *Pharmacology*, 1999, **59**, 45-50.
16. KING AJ, BRENNER BM, ANDERSON S. Endothelin : a potent renal and systemic vasoconstrictor peptide. *Am J Physiol*, 1989, **256**, F1051-F1058.
17. GOETZ KL, WANG BC, MADWED JB et al. Cardiovascular, renal and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs. *Am J Physiol*, 1988, **255**, R1064-R1068.
18. PERNOW J, BOUTIER JF, FRANCO-CERECEDA A et al. Potent selective vasoconstrictor effects of endothelin in the pig kidney in vivo. *Acta Physiol Scand*, 1988, **134**, 573-574.
19. GELLAI M. Physiological role of endothelin in cardiovascular and renal hemodynamics : studies in animals. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1997, **6**, 64-68.
20. NITTA K, NARUSE M, SANAKA T et al. Natriuretic and diuretic effects of endothelin in isolated perfused rat kidney. *Endocrinol Jpn*, 1990, **36**, 887-890.
21. ONO N, MATSUI T, YOSHIDA M et al. Renal effects of endothelin in anesthetized rabbits. *Eur J Pharmacol*, 1998, **359**, 177-184.
22. PHELAN M, PERRINE SP, BRAUER M et al. Sickle erythrocytes, after sickling, regulate the expression of the endothelin-1 gene and protein in human endothelial cells in culture. *J Clin Invest*, 1995, **96**, 1145-1151.
23. GOLIGORSKI MS, TSUKAHARA H, MAGAZINE H et al. Termination of endothelin signaling : role of nitric oxide. *J Cell Physiol*, 1994, **158**, 485-494.
24. BOULANGER C, LÜSCHER T. Release of endothelin from the porcine aorta. *J Clin Invest*, 1990, **85**, 587-590.
25. FORTEPIANI LA, JANVIER JJ, ORTIZ MC et al. Effect of endothelin blockade on pressure natriuresis in nitric-oxide deficient hypertensive rats. *J Hypertens*, 1999, **17**, 287-291.
26. THARAUX PL, DUSSAULE JC, PAUTI MD et al. Activation of renin synthesis is dependent on intact nitric oxide production. *Kidney Int*, 1997, **51**, 1780-1787.
27. KRAMER BK, SCHRICKER K, SCHOLZ H et al. Role of endothelins for renin regulation. *Kidney Int*, 1996, **55**, S119-S121.
28. THARAUX PL, CHATZIANTONIOU C, CASELLAS D et al. Vascular endothelin-1 gene expression, synthesis and effect on renal type I collagen synthesis and nephroangiosclerosis during nitric oxide synthase inhibition in rats. *Circulation*, 1999, **99**, 2185-2191.
29. DOWELL FJ, HENRION D, DURIEZ M et al. Vascular reactivity in mesenteric resistance arteries following chronic nitric oxide synthase inhibition in Wistar rats. *Br J Pharmacol*, 1996, **117**, 341-346.
30. BERTHOLD H, MUNTER K, JUST A et al. Contribution of endothelin to renal vascular tone and autoregulation in the conscious dog. *Am J Physiol*, 1999, **276**, F417-F424.
31. SPATZ M, STANIMIROVIC D, BACIC F et al. Vasoconstrictive peptides induce endothelin-1 and prostanoïds in human cerebro-microvascular endothelium. *Am J Physiol*, 1994, **266**, C654-C660.
32. SUNG CP, ARLETH AJ, STORER L et al. Angiotensin type I receptors mediate smooth muscle proliferation and endothelin biosynthesis in rat vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther*, 1994, **271**, 429-437.
33. RAJAGOPALAN S, LAURSEN JB, BORTHAYRE A et al. Role for endothelin-1 in angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension*, 1997, **30**, 29-34.
34. JILMA B, KREJCY K, DIRNBERGER E et al. Effects of angiotensin II infusion at pressor and subpressor doses on endothelin-1 plasma levels in healthy men. *Life Sci*, 1997, **60**, 1859-1866.
35. CLAVELL AL, MATTINGLY MT, STEVENS TL et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition modulates endogenous endothelin in chronic canine thoracic inferior vena caval constriction. *J Clin Invest*, 1996, **97**, 1286-1292.
36. LARGO R, GOMEZ-GARRE D, LIU XH et al. Endothelin-1 upregulation in the kidney of uninephrectomized spontaneously hypertensive rats and its modification by the angiotensin-converting enzyme inhibitor quinapril. *Hypertension*, 1997, **29**, 1178-1185.
37. RODRIGUEZ-GARCIA JL, PAULE A, DOMINGUEZ J et al. Effects of the angiotensin II antagonist losartan on endothelin 1 and norepinephrine plasma levels during cold pressor test in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*, 1999, **70**, 293-301.
38. D'USCIO LV, MOREAU P, SHAW S et al. Effects of chronic ETA receptor blockade in angiotensin II induced hypertension. *Hypertension*, 1997, **29**, 435-441.
39. HERIZI A, JOVER B, BOURIQUET N et al. Prevention of the cardiovascular and renal effects of angiotensin II by endothelin blockade. *Hypertension*, 1998, **31**, 10-14.

40. BOFFA JJ, THARAUX PL, PLACIER S et al. Angiotensin II activates collagen type I gene in the renal vasculature of transgenic mice during inhibition of nitric oxide synthesis : evidence for an endothelin-mediated mechanism. *Circulation*, 1999, **100**, 1901-1908.
41. FAKHOURI F, PLACIER S, THARAUX PL et al. Angiotensin II interacts with endothelin and TGF Beta to produce activation of collagen type I gene in the renal and aortic vasculature of transgenic mice. *J Am Soc Nephrol*, 1999, **10**, 344A.
42. WILKINS FC, KASSAB S, KATO T et al. Chronic endothelin-induced pressor and renal actions in conscious dogs do not require altered ANG II formation. *Am J Physiol*, 1995, **268**, R395-R402.
43. FIRTH JD, RATCLIFFE PJ. Organ distribution of the three rat endothelin messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. *J Clin Invest*, 1992, **90**, 1023-1031.
44. NAMBI P, PULLEN M, JUGUS M et al. Rat kidney endothelin receptors in ischemia-induced acute renal failure. *J Pharmacol Exp Ther*, 1993, **264**, 345-349.
45. KON V, YOSHIOKA T, FOGO A et al. Glomerular actions of endothelin in vivo. *J Clin Invest*, 1989, **83**, 1762-1767.
46. GELLAI M, JUGUS M, FLETCHER T et al. Reversal of posts ischemic acute renal failure with a selective endothelin-A receptor antagonist in the rat. *J Clin Invest*, 1994, **93**, 900-906.
47. ROHMEISS P, BIRCK R, BRAUN M et al. Targets for endothelin in the diseased kidney : clues for therapeutic intervention. *Exp Nephrol*, 1999, **7**, 1-10.
48. HAUG C, DUELL T, VOISARD R et al. Cyclosporin A stimulates endothelin release. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995, **26**, S239-S241.
49. IWASAKI S, HOMMA T, KON V. Site specific regulation in the kidney of endothelin and its receptor subtypes by cyclosporine. *Kidney Int*, 1994, **45**, 592-597.
50. GRIEFF M, LOERTSCHER R, SHOAB SA et al. Cyclosporine-induced elevation in circulating endothelin-1 in patients with solid organ transplants. *Transplantation*, 1993, **56**, 880-884.
51. FOGO A, HELINGS SE, INAGAMI T et al. Endothelin receptor antagonism is protective in in vivo acute cyclosporine toxicity. *Kidney Int*, 1992, **42**, 770-774.
52. BIRD JE, GIANCARLI MR, MEGILL JR et al. Effects of endothelin in radiocontrast-induced nephropathy in rats are mediated through endothelin-A receptors. *J Am Soc Nephrol*, 1996, **7**, 1153-1157.
53. OLDROYD SD, HAYLOR JL, MORCOS SK. Bosentan, an orally active endothelin antagonist : effect on the renal response to contrast media. *Radiology*, 1995, **196**, 661-665.
54. MARGULIES KB, HILDEBRAND FL, HEUBLEIN DM et al. Radiocontrast increases plasma and urinary endothelin. *J Am Soc Nephrol*, 1991, **2**, 1041-1045.
55. CLARK BA, KIM D, Epstein FH Endothelin and atrial natriuretic peptide levels following radiocontrast exposure in humans. *Am J Kidney Dis*, 1997, **30**, 82-86.
56. LEWIS EJ, HUNSICKER L, BAIN RP et al. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Eng J Med*, 1993, **329**, 1456-1462.
57. MASCHIO G, ALBERTI D, JANIN D et al. Effect of the angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency the angiotensin-converting-enzyme inhibition in progressive renal insufficiency study group. *N Eng J Med*, 1996, **334**, 939-945.
58. HOCHER B, THÖNE-REINEKE C, ROHMEISS P et al. Endothelin-1 transgenic mice develop glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, and renal cysts but not hypertension. *J Clin Invest*, 1997, **99**, 1380-1389.
59. HOCHER B, LIEFELDT L, THONE-REINEKE C et al. Characterization of the renal phenotype of transgenic rats expressing the human endothelin-2 gene. *Hypertension*, 1996, **28**, 196-201.
60. FUKUI M, NAKAMURA T, EBIHARA I et al. Gene expression for endothelins and their receptors in glomeruli of diabetic rats. *J Lab Clin Med*, 1993, **122**, 149-156.
61. YOSHIMURA A, IWASAKI S, INUI K et al. Endothelin-1 and endothelin B type receptor are induced in mesangial proliferative nephritis in the rat. *Kidney Int*, 1995, **48**, 1290-1297.
62. ORISIO S, BENIGNI A, BRUZZI I et al. Renal endothelin gene expression is increased in remnant kidney and correlates with disease progression. *Kidney Int*, 1993, **43**, 354-358.
63. OHTA K, HIRATA Y, SHICHIRI M et al. Urinary excretion of endothelin-1 in normal subjects and patients with renal disease. *Kidney Int*, 1991, **39**, 307-311.
64. SHIN SJ, LEE YJ, TSAI JH. The correlation of plasma and urine endothelin-1 with the severity of nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Scand J Clin Lab Invest*, 1996, **56**, 571-576.
65. NAKAMURA T, EBIHARA I, SHIRATO I et al. Endothelin-1 mRNA expression by peripheral blood monocytes in IgA nephropathy. *Lancet*, 1993, **342**, 1147-1148.
66. TERZI F, HENRION D, COLLUCCI-GUYON E et al. Reduction of renal mass is lethal in mice lacking vimentin. Role of endothelin-nitric oxide imbalance. *J Clin Invest*, 1997, **100**, 1520-1528.

67. BARTON M, SHAW S, D'USCHIO LV et al. Differential modulation of the renal and myocardial endothelin system by angiotensin II in vivo. Effects of chronic selective ETA receptor blockade. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, **31**, S265-S268.
68. REMUZZI G. Role of endothelin in the development of glomerulosclerosis. *Kidney Blood Pressure Res*, 1996, **19**, 182-183.
69. PERICO N, REMUZZI G. Role of endothelin in glomerular injury. *Kidney Int*, 1993, **43**, S76-S80.
70. NAKAMURA T, EBIHARA I, TOMINO Y et al. Effect of a specific endothelin A receptor antagonist on murine lupus nephritis. *Kidney Int*, 1995, **47**, 481-489.
71. NAKAMURA T, EBIHARA I, FUKUI M et al. Effect of a specific endothelin receptor A antagonist on glomerulonephritis of ddY mice with IgA nephropathy. *Nephron*, 1996, **72**, 454-460.
72. BRAUN C, CONZELMANN T, VETTER S et al. Prevention of chronic renal allograft rejection in rats with an oral endothelin A receptor antagonist. *Transplantation*, 1999, **68**, 739-746.
73. NAKAMURA T, EBIHARA I, FUKUI M et al. Effect of a specific endothelin receptor A antagonist on mRNA levels for extracellular matrix components and growth factors in diabetic glomeruli. *Diabetes*, 1995, **44**, 895-899.
74. BENIGNI A, ZOJA C, CORNA D et al. Blocking both type A and B endothelin receptors in the kidney attenuates renal injury and prolongs survival in rats with remnant kidney. *Am J Kidney Dis*, 1996, **27**, 416-423.
75. BENIGNI A, ZOJA C, CORNA D et al. A specific endothelin subtype A receptor antagonist protects against injury in renal disease progression. *Kidney Int*, 1993, **44**, 440-444.
76. GOMEZ-GARRE D, LARGO R, LIU XH et al. An orally active ET-A/ET-B receptor antagonist ameliorates proteinuria and glomerular lesions in rats with proliferative nephritis. *Kidney Int*, 1996, **50**, 962-972.
77. BROCHU E, LACASSE S, MOREAU C et al. Endothelin ETA receptor blockade prevents the progression of renal failure and hypertension in uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, **14**, 1881-1888.
78. CLOZEL M, QIU C, OSTERWALDER R et al. Effects of nonpeptide endothelin receptor antagonists in rats with reduced renal mass. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, **33**, 611-618.
79. DENG LY, DAY R, SCHIFFRIN E. Localisation of sites of enhanced expression of endothelin-1 in the kidney of DOCA-salt hypertensive rats. *J Am Soc Nephrol*, 1996, **7**, 1158-1164.
80. IKEDA T, OHTA H, OKADA M et al. Pathophysiological roles of endothelin-1 in Dahl salt-sensitive hypertension. *Hypertension*, 1999, **34**, 514-519.
81. DENG LY, SCHIFFRIN EL. Endothelin-1 gene expression in blood vessels and kidney of spontaneously hypertensive rats, SHR L-NAME-treated, and renovascular hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998, **31**, S380-S383.
82. CARDILLO C, KILCOYNE CM, WACLAWIW M et al. Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension. *Hypertension*, 1999, **33**, 753-758.
83. ROSSI GP, COLONNA S, PAVAN E et al. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries ex vivo. *Circulation*, 1999, **99**, 1147-1155.
84. GELLAI M, DEWOLF R, PULLEN M et al. Distribution and functional role of a renal ET receptor subtypes in normotensive and hypertensive rats. *Kidney Int*, 1994, **46**, 1287-1294.
85. LI JS, SCHIFFRIN EL. Effect of chronic treatment of adult spontaneously hypertensive rats with an endothelin receptor antagonist. *Hypertension*, 1995, **25**, 495-500.
86. OHUCHI T, KUWAKI T, LING GY et al. Elevation of blood pressure by genetic and pharmacological disruption of the ETB receptor in mice. *Am J Physiol*, 1999, **276**, R1071-R1077.
87. YOKOKAWA K, TAHARA H, KOHNO M et al. Hypertension associated with endothelin-secreting malignant hemangioendothelioma. *Ann Intern Med*, 1991, **114**, 213-215.
88. NIRANJAN V, TELEMAQUE S, DEWIT D et al. Systemic hypertension induced by hepatic over-expression of human preproendothelin-1 in rats. *J Clin Invest*, 1996, **98**, 2364-2372.
89. HAYNES WG, FERRO CJ, O'KANE KP et al. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in humans. *Circulation*, 1996, **93**, 1860-1870.
90. STRACHAN FE, SPRATT JC, WILKINSON IB et al. Systemic blockade of the endothelin-B receptor increases peripheral vascular resistance in healthy men. *Hypertension*, 1999, **33**, 581-585.
91. MATSUMURA Y, HASHIMOTO N, TAIRA S et al. Different contributions of endothelin-A and endothelin-B receptors in the pathogenesis of DOCA acetate-salt-induced hypertension in rats. *Hypertension*, 1999, **33**, 759-765.
92. KASSAB S, MILLER MT, NOVAK J et al. Endothelin-A receptor antagonism attenuates the hypertension and renal injury in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*, 1998, **31**, 397-402.
93. SCHIFFRIN EL. Role of endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 1999, **34** (part 2), 876-881.

94. SCHIFFRIN EL, LARIVIERE R, LI JS et al. Deoxycorticosterone acetate plus salt induces over-expression of vascular endothelin-1 and severe vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1995, **25**, 769-773.
95. BLEZER EL, NICOLAY K, GOLDSCHMEDING R et al. Early-onset but not late-onset endothelin-A-receptor blockade can modulate hypertension, cerebral edema, and proteinuria in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension*, 1999, **33**, 137-144.
96. CHATZIANTONIOU C, BOFFA JJ, ARDAILLOU R et al. Nitric oxide inhibition induces early activation of type I collagen gene in renal resistance vessels and glomeruli in transgenic mice role of endothelin. *J Clin Invest*, 1998, **101**, 2780-2789.
97. VERHAGEN AM, RABELINK TJ, BRAAM B et al. Endothelin A receptor blockade alleviates hypertension and renal lesions associated with chronic nitric oxide synthase inhibition. *J Am Soc Nephrol*, 1998, **9**, 755-762.
98. EHMKE H, FAULHABER J, MUNTER K et al. Chronic ETA receptor blockade attenuates cardiac hypertrophy independently of blood pressure effects in renovascular hypertensive rats. *Hypertension*, 1999, **33**, 954-960.
99. CASELLAS D, BOURIQUET N, HERIZI A. Bosentan prevents preglomerular alterations during angiotensin II hypertension. *Hypertension*, 1997, **30**, 1613-1620.
100. LUFT FC, MERVAALA E, MULLER DN et al. Hypertension-induced end organ damage : a new transgenic approach to an old problem. *Hypertension*, 1999, **33**, 212-218.
101. KRUM H, VISKOPER RJ, LACOURCIERE Y et al. The effect of an endothelin receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1998, **338**, 784-90.
102. PINTO-SIETSMA SJ, PAUL M. A role for endothelin in the pathogenesis of hypertension : fact or fiction ? *Kidney Int*, 1998, **54**, S115-S121.
103. BOURIQUET N, DUPONT M, HERIZI A et al. Preglomerular sudanophilia in L-NAME hypertensive rats: Involvement of endothelin. *Hypertension*, 1996, **27**, 382-391.
104. WADA A, TSUTAMOTO T, OHNISHI M et al. Effects of a specific endothelin-converting enzyme inhibitor on cardiac, renal, and neurohumoral functions in congestive heart failure : comparison of effects with those of endothelin A receptor antagonism. *Circulation*, 1999, **99**, 570-577.