

## **Les hauts et les bas des courants calciques dans le développement de l'insuffisance cardiaque et le paradoxe des stratégies thérapeutiques**

**Sylvain Richard  
Paco Lorente  
Joël Nargeot**

Les anomalies observées dans l'insuffisance cardiaque congestive sont indépendantes de sa cause : hypertrophie, baisse de la fonction contractile, remodelage tissulaire, altération des propriétés électriques sont responsables de la baisse du débit cardiaque et prédisposent à des troubles du rythme létaux. Le potentiel d'action dans le cardiomyocyte est prolongé et la relaxation de la contraction retardée du fait du maintien de courants calciques transitoires. Les modifications observées de leur nature, de leur densité et de leur régulation font encore l'objet de débats. Deux types de courants calciques sont présents dans le cœur : les courants L et T. Les canaux L, majoritaires, contribuent au maintien du potentiel d'action. Leur phosphorylation par la protéine-kinase A en réponse à la stimulation adrénérgique augmente leur probabilité d'ouverture et la force de contraction. Les canaux T n'ont été mis en évidence que dans l'oreillette de modèles animaux de rongeurs ; ils auraient un rôle électrogène au cours de la phase de dépolarisation diastolique précoce du potentiel d'action sinusal.

### ADRESSES

S. Richard : *directeur de recherche au Cnrs* ; J. Nargeot : *directeur de recherche au Cnrs*. Institut de génétique humaine, Cnrs, UPR 1142, 141, rue de la Cardonille, 34396 Montpellier Cedex 5, France. P. Lorente : *directeur de recherche à l'Inserm*. Inserm U. 390, CHU Arnaud-de-Villeneuve, 371, avenue du Doyen-Giraud, 34295 Montpellier Cedex 5, France.

**L**es canaux calciques activés par le potentiel constituent une voie d'entrée majeure des ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dans les myocytes cardiaques. On distingue deux grandes classes : (1) les canaux L qui contribuent au maintien de la dépolarisation membranaire pendant le plateau du potentiel

d'action (PA) et déclenchent le couplage excitation-contraction (E-C) ; (2) les canaux T qui régleraient l'activité de type *pacemaker* et, peut-être, des processus liés à l'activité trophique des myocytes. Leur importance physiologique, liée à leur localisation membranaire stratégique, à la variété de leurs voies de régulation et à la

richesse de leurs sites pharmacologiques, confère aux canaux calciques un rôle de cible thérapeutique privilégiée. Cet exposé propose un « cliché » des connaissances actuelles sur l'évolution des canaux calciques au cours du développement de l'insuffisance cardiaque. Le fait qu'aucun modèle animal ne puisse représenter la variété des syndromes observés en clinique a encouragé l'essor des études sur myocytes humains. L'exploration du courant calcique L ( $I_{CaL}$ ) des cellules cardiaques humaines a ainsi commencé vers la fin des années 1980 grâce au développement concomitant de la technique du *patch-clamp*, des procédures de dissociation cellulaire et des techniques chirurgicales [1-4]. Les résultats obtenus dans plusieurs laboratoires, bien que fragmentaires et parfois contradictoires, permettent cependant de dégager des informations importantes.

## Canaux calciques cardiaques

Plusieurs types de canaux calciques présentant des propriétés électrophysiologiques et pharmacologiques différentes ont été identifiés (*Tableau I*), pour la plupart dans des neurones. [5]. Les gènes codant pour ces canaux ont été clonés et leur localisation chromosomique est connue (*Tableau I*). Dans le cœur, seuls les canaux de type L et de type T sont exprimés [4-6]. Les canaux L, majoritaires, ont un rôle électrogénique important. Le courant  $I_{CaL}$  contribue au maintien du plateau du potentiel

d'action (PA). Il participe également à la phase tardive de la dépolarisation diastolique lente du PA sinusal. Les ions  $Ca^{2+}$  entrants, utilisés en tant que signaux chimiques, déclenchent une libération massive du  $Ca^{2+}$  stocké dans le réticulum sarcoplasmique (RS) des myocytes; ce qui provoque, *in fine*, l'activation des protéines contractiles à la suite de l'élévation du  $Ca^{2+}$  libre intracellulaire  $[Ca^{2+}]_i$ . Malgré l'effet médiateur et amplificateur du RS, l'amplitude de  $I_{CaL}$  conditionne l'amplitude de la contraction. Tout agent qui module  $I_{CaL}$  a des effets inotropes attendus. Par exemple, la stimulation  $\beta$ -adrénergique qui augmente l'AMPc intracellulaire et conduit à la phosphorylation du canal L *via* la protéine kinase A, provoque une augmentation de la probabilité d'ouverture des canaux L et une augmentation de la contraction [4].

Dans le cœur adulte, les canaux T sont surtout distribués dans l'oreillette, le nœud sino-auriculaire, le *sinus venosus* et le tissu conducteur [4, 6]. Le courant T ( $I_{CaT}$ ) aurait un rôle électrogène au cours de la phase de dépolarisation diastolique précoce du PA sinusal. La présence de  $I_{CaT}$  peut aussi dépendre de l'espèce considérée. Par exemple, les myocytes ventriculaires de cobaye expriment  $I_{CaT}$ . Ce n'est le cas ni chez le rat, excepté au stade néonatal [7], ni chez l'homme [1-6].  $I_{CaT}$  peut cependant être ré-exprimé dans les myocytes adultes de rat différenciés en culture primaire [8].  $I_{CaT}$  n'a pas de rôle essentiel reconnu dans la signalisation liée au couplage E-C. Les

canaux T et L ont des propriétés électrophysiologiques, pharmacologiques et de régulation différentes (*Tableau II*). Le clonage récent des ADNc des sous-unités principales ( $\alpha_{1G}$  et  $\alpha_{1H}$ ) de canaux T montre qu'elles ont des structures moléculaires différentes [9]. Les sous-unités  $\alpha_{1G}$  et  $\alpha_{1H}$ , qui forment le pore, s'avèrent assez différentes de la sous-unité  $\alpha_{1C}$  qui porte la plupart des sites fonctionnels (partie sensible au potentiel, sites de phosphorylation, sites récepteurs des antagonistes calciques, etc.) du canal L et dont l'activité est, par ailleurs, réglée par plusieurs sous-unités associées (*figure 1*).  $\alpha_{1H}$  serait très représentée dans le cœur [9].

## Courants calciques cardiaques humains

### Courant de type L

Le courant  $I_{CaL}$  a des propriétés semblables chez l'homme et chez les autres mammifères [1-4, 10-12]. Ces propriétés sont cohérentes avec celles du *Tableau II*. On notera, en particulier, que  $I_{CaL}$  commence à s'activer entre -40 et -30 mV et atteint une amplitude maximale entre -10 et +10 mV, valeurs de potentiel correspondant à celles du plateau du PA. L'inactivation de  $I_{CaL}$  résulte de deux mécanismes différents, gouvernés par le potentiel et la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ), qui ont été explorés dans des cellules auriculaires humaines [13]. Qualitativement, on n'a trouvé aucune anomalie des propriétés électrophysiologiques fondamentales de  $I_{CaL}$  dans les cardiomyocytes isolés provenant de cœurs défailants [10, 14, 15]. Les données quantitatives concernant l'amplitude ou la densité de  $I_{CaL}$  sont, en revanche, beaucoup plus contrastées [4]. Comme dans des oreillettes dilatées, une diminution de  $I_{CaL}$  ou des récepteurs des dihydropyridines (DHP) a été observée dans les ventricules de patients en insuffisance cardiaque terminale [15-18]. Cependant, d'autres résultats suggèrent l'absence d'effet majeur [19] (*Tableau III*). Dans les modèles animaux, les résultats varient également entre l'absence d'effet et une diminution appréciable (*Tableau III*). La diversité des protocoles expérimentaux, des modèles et

Tableau I

CLASSIFICATION DES CANAUX CALCIFIQUES ET DES GÈNES QUI LEUR CORRESPONDENT ET LOCALISATION CHROMOSOMIQUE

Classification génique	Classification fonctionnelle	Localisation chromosomique	Localisation tissulaire
$\alpha_{1A}$	P/Q	19p13.1	neurones
$\alpha_{1B}$	N	9q34	neurones
$\alpha_{1C}$	L	12p13.3	cœur, ubiquitaire
$\alpha_{1D}$	L	3p14.3	neuroendocrine, autre
$\alpha_{1S}$	L	1q31-q32	muscle, autre
$\alpha_{1E}$	R?	1q25-q31	neurones
$\alpha_{1F}$	L?	Xp11	rétine
$\alpha_{1G}$	T	17q22	cerveau, cœur?
$\alpha_{1H}$	T	16p13.3	cœur, cerveau

Tableau II  
RÉSUMÉ QUALITATIF DES PRINCIPALES PROPRIÉTÉS  
DES CANAUX L ET T CARDIAQUES

Propriétés	Type T	Type L
<b>Électrophysiologiques</b>		
seuil d'activation	> -70 mV	> -40 mV
inactivé pour des PMR	> -50 mV	> -10 mV
cinétique d'activation	rapide	lente
cinétique d'inactivation	rapide	lente
cinétique de déactivation	lente	rapide
perméabilité	Ca <sup>2+</sup> = Ba <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> < Ba <sup>2+</sup>
conductance élémentaire	7-8 pS	22-25 pS
<b>Pharmacologiques</b>		
sensibilité au Cd <sup>2+</sup>	+	+++
sensibilité au Ni <sup>2+</sup>	+++	++
sensibilité aux DHP	+	+++
mibefradil	+++	++
<b>Régulations</b>		
fréquence	-	+++
β-adrénérique	-	+++

PMR: potentiel de membrane de repos, DHP: dihydropyridine.

des différences dans la sévérité de l'insuffisance peuvent expliquer cette variabilité. A noter qu'au stade de l'hypertrophie compensée, qui précède l'insuffisance, les effets observés varient globalement entre aucun changement et une augmentation de la densité de I<sub>CaL</sub> ou des canaux L [4] (Tableau III). En revanche, les

réponses de I<sub>CaL</sub> aux stimulations β-adrénériques sont clairement altérées dans les cœurs humains en insuffisance [15, 19] (Tableau III), ce qui pourrait être lié à la *down-regulation* de ces récepteurs [20]. La situation est différente dans les cellules d'oreillettes dilatées de cœurs non insuffisants où les agents β-adrén-

riques augmentent largement I<sub>CaL</sub> [11, 15-17]. Cela suggère que la dilatation diminue l'activité basale des canaux L plutôt que le nombre de canaux fonctionnels.

### Courant de type T

Un nombre croissant de données obtenues sur des modèles animaux suggère une ré-expression de I<sub>CaT</sub> au cours de phénomènes hypertrophiques [4] (Tableau III). Cependant, à ce jour, I<sub>CaT</sub> n'a pas pu être mis en évidence dans le tissu cardiaque humain adulte (oreillettes et ventricules) sain ou pathologique comme, en particulier, le ventricule gauche de cœurs en insuffisance sévère [14, 15, 19] (Tableau III). Il est possible que cette incapacité reflète l'accès limité aux tissus susceptibles de l'exprimer puisque l'ADNc de la sous-unité α<sub>1H</sub> a été cloné à partir de cœur humain [9].

### Courant « calcique » atypique I<sub>Ca,TTX</sub>

Un courant calcique bas-seuil atypique, différent de I<sub>CaT</sub> et sensible à la tétrodontoxine, a été détecté dans les cellules auriculaires humaines [21]. Ce courant, que nous avons référencé sous le terme I<sub>Ca,TTX</sub>, serait engendré par une sous-population de canaux sodium « normaux », mais dont la sélectivité est altérée, ou de canaux dont la structure est incon nue. Des courants similaires viennent d'être décrits chez le rat et le cobaye [22, 23]. Il a aussi été montré que des canaux sodiques normaux de myocytes ventriculaires de rat deviennent perméables au Ca<sup>2+</sup> sous l'effet d'une stimulation β-adrénérique [24]. Ce mécanisme serait impliqué dans la régulation de la signalisation calcique.

### Facilitation de I<sub>CaL</sub> et relation force-fréquence

#### Relation force-fréquence

La performance cardiaque dépend de trois facteurs principaux: la fréquence de stimulation (FS), la précharge (loi de Frank-Starling) et la contractilité. Une augmentation de la fréquence cardiaque (FC) s'accompagne d'une augmentation de la

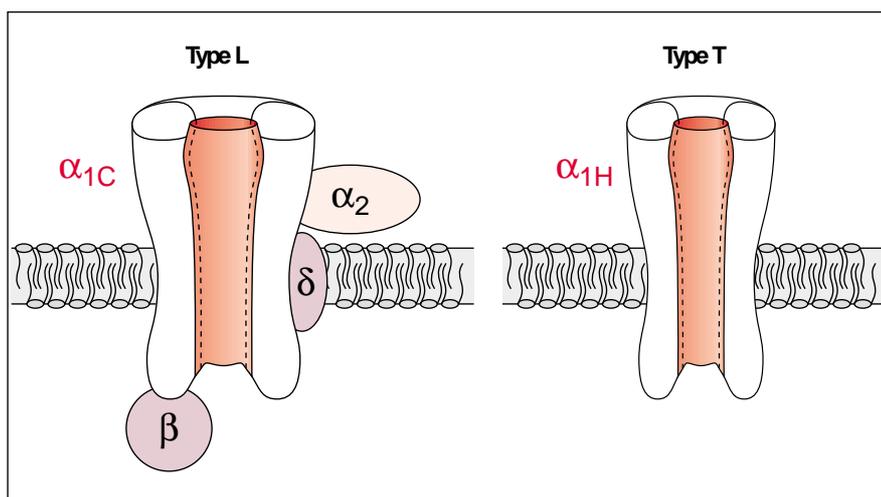


Figure 1. **Arrangement moléculaire des canaux L et T en l'état actuel des connaissances.** Noter que le canal L est constitué de plusieurs sous-unités: une sous-unité principale transmembranaire α<sub>1C</sub>, qui forme le pore, et diverses sous-unités régulatrices. On ne sait pas si le canal T est constitué de plusieurs sous-unités. La sous-unité α<sub>1H</sub> est différente d'α<sub>1C</sub>.

Tableau III				
ÉVOLUTION POSSIBLE DES COURANTS L ET T DU TISSU VENTRICULAIRE AU COURS DE L'HYPERTROPHIE COMPENSÉE ET DE L'INSUFFISANCE CARDIAQUE AU STADE TERMINAL				
	Myocytes animaux		Myocytes humains	
	Hypertrophie compensée	Insuffisance sévère	Hypertrophie compensée	Insuffisance sévère
<b>Type L</b>				
densité	stable ou augmentée	stable ou diminuée	stable (?)	stable ou diminuée
stimulation $\beta$ -adrénergique	?	diminuée	stable (?)	très diminuée
stimulation par fréquence cardiaque élevée	?	?	?	très diminuée
<b>Type T</b>				
densité	augmentée (?)	augmentée (?)	absent (?)	absent (?)

Ces données, fragmentaires et uniquement qualitatives, constituent une analyse synthétique de plusieurs travaux sur le sujet [4].

contraction myocardique (figure 2). Ce phénomène, décrit pour la première fois par Bowditch en 1871 [25], est désigné sous le terme générique de relation force-fréquence positive (ou escalier positif de Bowditch). Il a été mis en évidence *in vitro* et *in vivo* chez plusieurs mammifères dont l'homme [26, 27]. Une augmentation de la FC, par stimulation auriculaire, provoque une augmentation de la force contractile chez des patients dont la fonction ventriculaire gauche est normale [28]. La dépendance de la relation force-fréquence positive vis-à-vis de la stimulation  $\beta$ -adrénergique et de l'exercice physique *in vivo* met en exergue son importance dans la physiologie du cœur normal [27]. Une augmentation de la libération réflexe de noradrénaline et de catécholamines circulantes pendant l'exercice induit des effets inotropes et chronotropes positifs de telle manière que les changements de FC sont toujours couplés à des changements de la force contractile (figure 2). La FC exerce donc un double contrôle sur le débit cardiaque : un contrôle direct sur le nombre de systoles par unité de temps et un effet indirect sur la force de contraction (figure 2). Plusieurs mécanismes subcellulaires, liés à l'homéostasie calcique, sont

impliqués dans la régulation de la relation force-fréquence [29]. Le rôle des canaux calciques L, qui constituent une cible majeure de la stimulation  $\beta$ -adrénergique, a longtemps été ignoré ou minimisé.

#### Facilitation de $I_{CaL}$ par la fréquence

Une accélération de la fréquence des dépolarisations appliquées à une cellule cardiaque augmente l'activité du canal L chez plusieurs mammifères dont l'homme [4, 7]. Il s'agit là d'un mécanisme général, détecté dans les quatre cavités cardiaques [30]. Il se traduit par : 1) un ralentissement marqué de la cinétique d'inactivation de  $I_{CaL}$ ; et 2) une augmentation modérée de son amplitude (figure 3A). Il existe une corrélation étroite entre l'augmentation progressive du  $Ca^{2+}$  entrant pendant la dépolarisation et la diminution graduelle de l'intervalle diastolique (figure 3B) [30, 31]. La facilitation est observée dans une gamme de FC compatible avec la physiopathologie [7, 30]. La facilitation serait liée à un changement du mode de fonctionnement des canaux activables plutôt qu'au recrutement de nouveaux canaux [30]. La légère augmentation de l'amplitude de  $I_{CaL}$  reflète uniquement le ralentissement de l'inactivation du courant (voir

figure 3A). Une modélisation mathématique valide l'hypothèse selon laquelle le canal pourrait fonctionner selon deux modes, interconvertibles pendant la dépolarisation, qui seraient reliés aux phases d'inactivation rapide et lente de  $I_{CaL}$  (figure 3C) [31]. La contribution relative de chaque mode (ou composante cinétique macroscopique qui lui est reliée) détermine la cinétique du courant global. Toute dépolarisation soutenue ou toute augmentation de fréquence déplacerait l'équilibre dynamique entre les deux modes vers le mode lent (figure 3C), favorisant ainsi une entrée de  $Ca^{2+}$  plus soutenue. Le passage d'un mode à l'autre pourrait intervenir à partir de l'état fermé – non conducteur – du canal car il peut être observé par exemple en changeant le potentiel de membrane de repos (PMR) dans une gamme de potentiels incapables d'ouvrir les canaux (figure 3D : comparer les effets du PMR sur les traces 1 à -90 mV, -60 mV et -50 mV). Le phénomène de facilitation requiert donc un PMR hyperpolarisé dont la valeur détermine qualitativement et quantitativement l'effet observé (figure 3D). Un PMR trop dépolarisé induit une diminution de  $I_{CaL}$  (voir

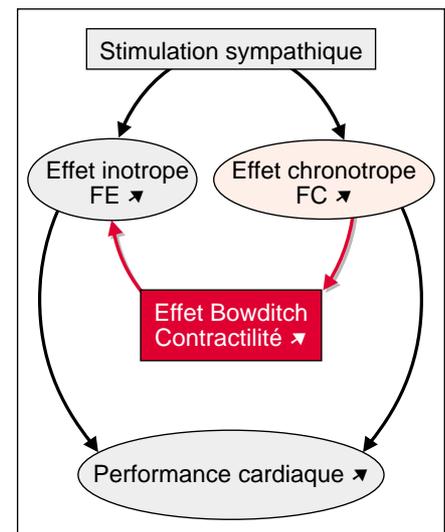
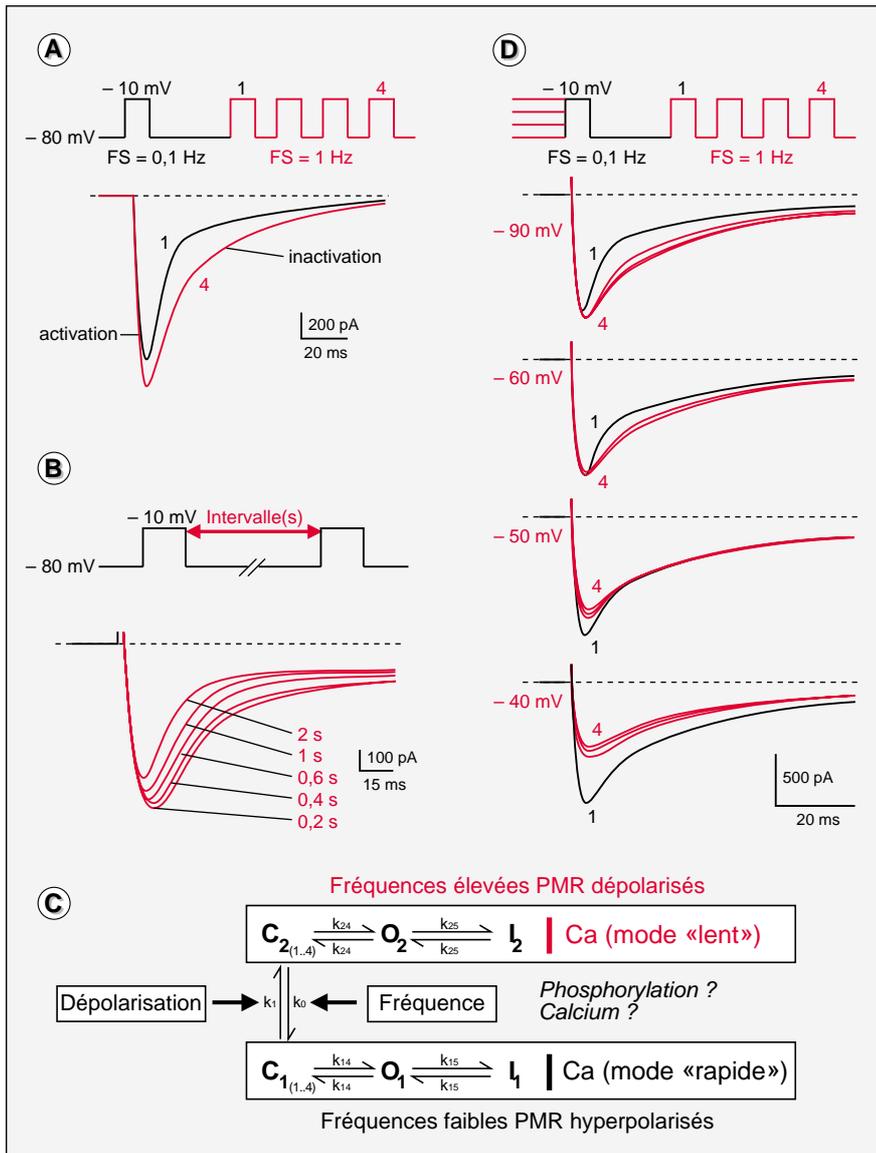


Figure 2. Schéma illustrant les effets de la stimulation sympathique sur la performance cardiaque *in vivo*. Noter les effets sur la fraction d'éjection (FE) et la fréquence cardiaque (FC). L'effet inotrope positif résulte de deux composantes : un effet direct et un effet indirect, l'effet Bowditch.



**Figure 3. Effets de la fréquence de stimulation (FS) sur  $I_{CaL}$ .** **A.** Effet de la FS sur le déroulement de  $I_{CaL}$  enregistré en configuration cellule entière avec la technique du patch clamp dans une cellule ventriculaire humaine. Le protocole représenté en haut de la figure montre que des dépolarisations « carrées » sont appliquées de manière répétitive à une FS fixée et à partir d'un potentiel de membrane de repos (PMR) à  $-80$  mV. Noter le déroulement rapide du courant à  $0,1$  Hz (1) et le ralentissement important de l'inactivation à  $1$  Hz (4). L'effet du changement de fréquence est instantané (moins d'une seconde). **B.** Effet progressif sur  $I_{CaL}$  d'une augmentation graduelle de la FS entre  $0,5$  Hz et  $5$  Hz. Expérience réalisée sur un myocyte auriculaire humain (d'après [7]). **C.** Modèle hypothétique des deux modes de fonctionnement interconvertibles du canal L qui permet d'expliquer la facilitation de  $I_{CaL}$ . **D.** Effets facilitateur (PMR  $\leq 60$  mV) ou inhibiteur (PMR  $> -60$  mV) observés après une augmentation de la FS sur  $I_{CaL}$  dans un myocyte ventriculaire de rat. La valeur du PMR est déterminante. Noter également que des PMR dépolarisés induisent per se un ralentissement des cinétiques de  $I_{CaL}$ . (D'après [31].)

effets à  $-50$  mV et  $-40$  mV dans la figure 3D); ce qui traduit une réactivation ralentie lorsque l'intervalle diastolique est trop court ou bien

incomplète si le PMR n'est pas assez négatif pour réactiver tous les canaux [31]. Les ions  $Ca^{2+}$  et la phosphorylation du canal sont des partenaires

obligés de la facilitation. Tous les agents qui activent la voie de l'AMPc (ex : agonistes  $\beta$ -adrénergiques et sérotoninergiques) ou qui empêchent la déphosphorylation (ex : inhibiteurs de phosphatase), augmentent non seulement l'amplitude de  $I_{CaL}$ , mais aussi favorisent la facilitation (figures 4A, B) [7].

### Facilitation de $I_{CaL}$ et physiologie cardiaque

La fréquence cardiaque et la force contractile sont, *per se*, deux déterminants majeurs du débit cardiaque. Mais il existe un lien entre ces deux facteurs. Deux mécanismes membranaires d'entrée du  $Ca^{2+}$  participent à l'établissement de l'escalier positif de Bowditch. On peut mentionner, en premier lieu, l'entrée accrue de  $Na^+$  qui augmente le  $Na^+$  intracellulaire et, *in fine*, l'entrée de  $Ca^{2+}$  via l'échangeur  $Na^+/Ca^{2+}$  [32]. Le mécanisme de facilitation de  $I_{CaL}$  par la fréquence de stimulation est l'autre mécanisme. Il existe un parallèle certain entre la relation force-fréquence positive et la relation  $I_{CaL}$ -fréquence de stimulation positive (figure 2; figure 5). Les effets de la stimulation  $\beta$ -adrénergique renforcent l'idée d'une relation causale entre ces deux régulations. Il s'ensuit que la facilitation des canaux L pourrait représenter un phénomène adaptatif de la physiologie de l'effort et du stress mettant en jeu la libération de catécholamines. L'effet inotrope positif des catécholamines procéderait de deux mécanismes distincts : 1) un effet direct qui augmente l'amplitude de  $I_{CaL}$  grâce à une augmentation du nombre des canaux activables; et 2) un effet indirect (lié à l'augmentation du rythme sinusal, qui ralentit l'inactivation du courant, via un changement du mode de fonctionnement de ces canaux (figure 5).

### Facilitation et insuffisance cardiaque

La facilitation de  $I_{CaL}$  est beaucoup plus variable chez l'homme que chez le rat, probablement du fait de la pathologie et des traitements médicamenteux [30]. Les myocytes (ventriculaires, mais aussi auriculaires) provenant de patients avec une fonction ventriculaire effondrée (fraction d'éjection (FE)  $< 40\%$ ) présentent peu de facilitation

tation (figure 4B). Elle peut être parfois induite, de manière modérée et aléatoire, par l'isoprénaline (figure 4B). Ces données sont à mettre en parallèle avec l'évolution générale de la relation force-fréquence sur des cœurs entiers (dilatés ou ischémiques) chez l'homme en insuffisance cardiaque sévère [33]. Les résultats montrent une absence, voire une inversion, de l'escalier positif. Alors que la stimulation  $\beta$ -adrénergique est efficace pour préserver ou augmenter cet escalier positif dans le cœur sain, la relation est inversée (escalier négatif) pour les cœurs insuffisants. La perte du mécanisme de facilitation de  $I_{CaL}$  s'ajouterait donc à d'autres altérations importantes

comme la capacité réduite de recaptage du  $Ca^{2+}$  intracellulaire par le RS [34]. Plusieurs phénomènes pourraient contribuer à la disparition du phénomène de facilitation: (1) la perte d'une influence du RS qui pourrait, en situation normale, contrôler le fonctionnement du canal L *via* un effet local du  $Ca^{2+}$  libéré [13] ou par l'intermédiaire d'une interaction physique avec le canal sensible à la ryanodine [35, 36] grâce à des protéines du cytosquelette remplissant l'espace dyadique; (2) l'abaissement de la concentration d'AMPC intracellulaire à la suite de la *down-regulation* des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, et (3) une altération de la structure des canaux L.

## Effets contrastés des thérapeutiques

Qu'elle implique une altération de la régulation des canaux calciques (expression, modulation) ou non, la pathologie cardiaque est souvent associée à une élévation de la  $[Ca^{2+}]_i$ . C'est le cas dans l'insuffisance cardiaque [37]. Les canaux calciques constituent donc une cible pharmacologique d'intérêt. Ils possèdent des propriétés remarquables qui incluent: (1) la régulation par de nombreux neurotransmetteurs et hormones, constituant autant de voies pharmacologiques possibles (par exemple, la voie de l'AMPC) et (2) la présence de nombreux sites spécifiques (sur le canal lui-même) qui, lorsqu'ils sont occupés, peuvent rendre le canal non activable par le potentiel (par exemple par des antagonistes calciques). Les paragraphes suivants, qui prennent en compte certaines des propriétés et modulations décrites ci-dessus (figure 5), abordent les avantages et les limites de stratégies thérapeutiques ayant pour cible les canaux calciques. Ces stratégies peuvent paraître, de prime abord, paradoxales. Il est en effet nécessaire de distinguer deux types de bénéfice, à court et à long termes, qui conduisent à la plus grande circonspection quant au choix thérapeutique. Les limites d'utilisation de certains médicaments sont souvent la conséquence de leurs effets indésirables sur le système vasculaire et sur la régulation cardiaque du système baroréflexe.

### Agents inotropes positifs modulant l'AMPC

Le mécanisme des postdépolarisations précoces au cours de la phase de plateau du PA pourrait dépendre essentiellement des cinétiques de  $I_{CaL}$  [38]. Le courant «de fenêtre» calcique jouerait aussi un rôle important [39].  $I_{CaL}$  n'est, cependant, pas l'acteur exclusif de la formation de postdépolarisations précoces; son action serait modulée par le courant potassique rectificateur retardé qui pourrait régler sa dépendance vis-à-vis de la fréquence d'activation [40]. On connaît bien maintenant les potentialités arythmogènes de ces troubles de la repolarisation, responsables d'activités déclenchées telles

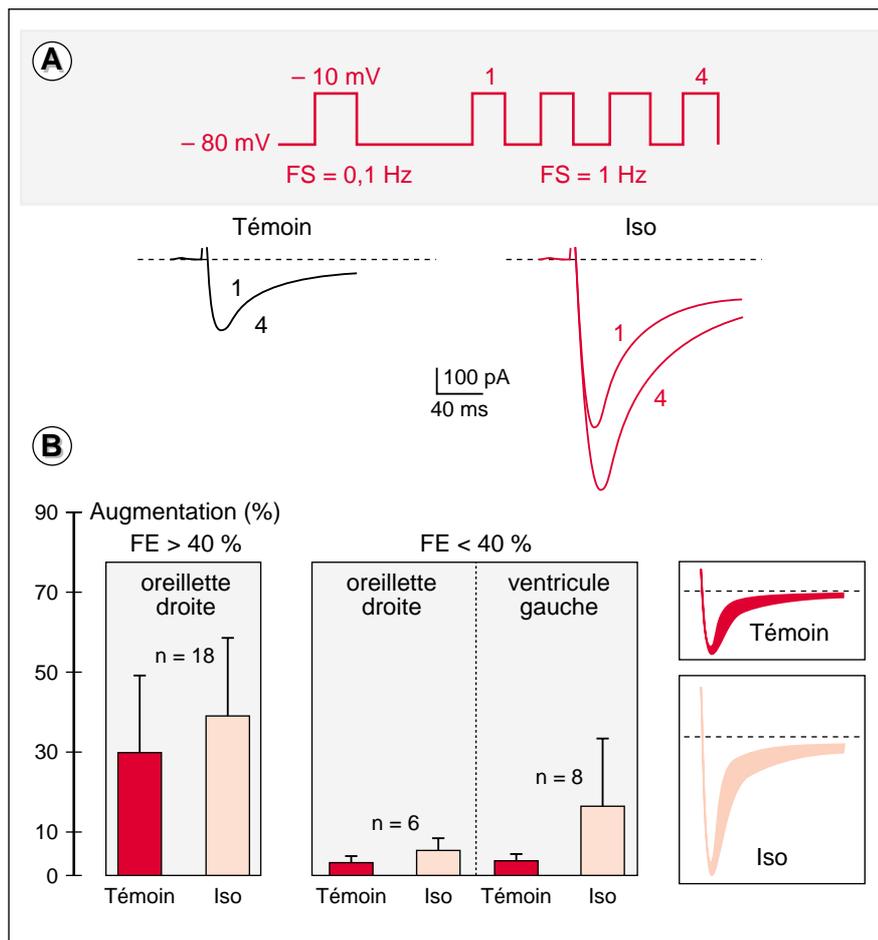


Figure 4. **Facilitation de  $I_{CaL}$  dépendante de la fréquence.** **A.** Induction de la facilitation dépendante de la fréquence de  $I_{CaL}$  (témoin) par la stimulation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques en présence d'isoprénaline (ISO, 1  $\mu$ M) sur une cellule auriculaire humaine. **B.** Effet de l'insuffisance cardiaque (fraction d'éjection FE < 40%) sur la facilitation de  $I_{CaL}$ . L'augmentation de l'entrée de  $Ca^{2+}$  a été estimée, comme indiqué en encart à droite, par intégration de la surface sous chaque trace ( $pA \cdot ms$ ). Le nombre de patients (non traités) est indiqué (2 et 6 cellules par patient). (D'après [4].)

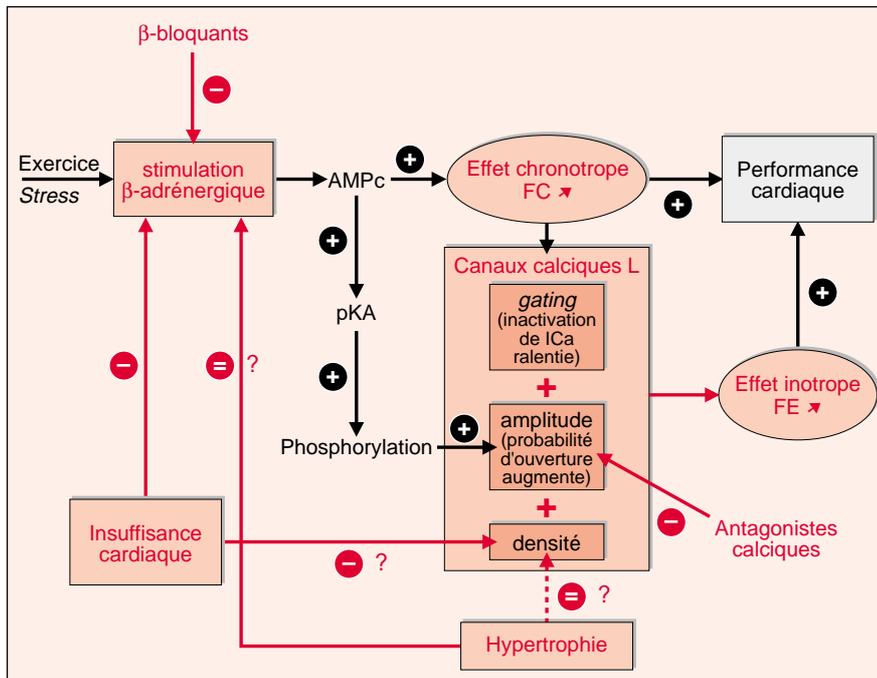


Figure 5. **Modèle hypothétique du rôle et de la régulation du phénomène de facilitation des canaux L par une accélération de la fréquence cardiaque (FC).** Les effets possibles de la pathologie sont également représentés. (D'après [4].) La stimulation  $\beta$ -adrénergique élève la concentration intracellulaire d'AMPc qui active la phosphorylation des canaux calciques L par la protéine-kinase A (PKA). Elle a, en outre, un effet d'accélération de la fréquence cardiaque qui facilite  $I_{CaL}$  et augmente la contraction, donc la fraction d'éjection (FE). Les effets chronotrope et inotrope positifs améliorent la performance cardiaque. L'insuffisance et l'hypertrophie cardiaques diminuent les effets de la stimulation adrénergique.

les torsades de pointes [41]. Il est aussi probable que  $I_{CaL}$  joue également un rôle dans la survenue de postdépolarisations tardives, beaucoup plus fréquentes, qui sont liées à la surcharge calcique intracellulaire induite en amont par une accélération de la FC. Toute augmentation de  $I_{CaL}$  par une stimulation  $\beta$ -adrénergique est susceptible de provoquer des troubles de la repolarisation [42]. Des composés d'utilisation courante en thérapeutique comme la dobutamine et la noradrénaline, des agonistes  $\beta$ -adrénergiques, produisent un effet inotrope positif *via* l'augmentation de  $I_{CaL}$  et améliorent la relaxation diastolique par le repompage accru du  $Ca^{2+}$  par le RS. Cependant, si l'effet hémodynamique est souvent favorable à court terme, leur administration prolongée dans les cardiopathies décompensées conduit à des effets délétères: *down-regulation* et désensibilisation des récepteurs qui induisent intolérance et inefficacité thérapeutique, risque

accru d'arythmies sévères et majoration de la défaillance cardiaque avec augmentation de la mortalité. L'utilisation d'inhibiteurs des phosphodiésterases est aussi décevante. Malgré un effet favorable à court terme, leur administration chronique majeure à long terme l'incidence létale du fait de la survenue d'arythmies ventriculaires et d'une altération progressive de la fonction ventriculaire [43]. Par conséquent, il est clair que les agents stimulant la voie de l'AMPc n'ont qu'un intérêt limité et sont à proscrire à long terme. A ce stade, il faut souligner les effets bénéfiques paradoxaux des agents  $\beta$ -bloquants qui s'opposent aux conséquences nocives de la stimulation adrénergique. L'*up-regulation* des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, la prévention de la montée du  $[Ca^{2+}]_i$  et l'amélioration de la contractilité par diminution de la FC paraissent être les mécanismes responsables de l'augmentation de la performance du myocarde défaillant.

## Effets pervers des antagonistes calciques

Diminution de  $I_{CaL}$  et de la  $[Ca^{2+}]_i$ , vasodilatation coronaire et périphérique avec réduction de la postcharge et diminution de la consommation d'oxygène myocardique constituent les effets bénéfiques espérés des antagonistes calciques dans l'insuffisance cardiaque. Ces composés produisent une dépression importante et durable de  $I_{CaL}$ . Cette action dépressive semble être responsable d'effets inotropes majeurs et d'une stimulation sympathique et neuro-hormonale persistante, consécutive à la vasodilatation périphérique. Ces actions défavorables peuvent précipiter la détérioration de la fonction cardiaque et une augmentation de la mortalité dépendante de la dose [44]. Cependant, de nouveaux bloqueurs calciques actuellement à l'étude pourraient constituer un appoint thérapeutique plus satisfaisant sur des patients non coronariens.

## Conclusions et perspectives

La diminution modérée et inconsistante de  $I_{CaL}$  et l'absence de perturbations des propriétés biophysiques du canal L dans les insuffisances cardiaques évoluées sont des faits reconnus. Des altérations de régulations physiologiques importantes constituent en fait les dysfonctionnements essentiels associés à l'hypertrophie décompensée et à son stade ultime, l'insuffisance cardiaque. La diminution de la réponse à la stimulation  $\beta$ -adrénergique est un exemple typique qui affecte la « réserve myocardique » associée aux régulations positives de l'entrée de  $Ca^{2+}$  qui sont mises en jeu lors de phénomènes adaptatifs contrôlés par le tonus sympathique et les catécholamines circulantes. La relation force-fréquence positive mise en jeu lors de l'adaptation du myocarde à l'effort chez le sujet sain est concernée [4]. Dans les cardiopathies terminales, l'altération du couplage excitation-contraction, malgré des densités de  $I_{CaL}$  non modifiées, a pu suggérer une signalisation déficiente entre canaux calciques et récepteurs de la ryanodine du RS. Cette hypothèse a été confirmée récemment sur des modèles de

cœurs de rat hypertrophiques et défaillants: malgré des canaux calciques et des récepteurs à la ryanodine apparemment normaux, le signal calcique sarcolemmal est incapable d'activer efficacement la libération du  $\text{Ca}^{2+}$  du RS, peut-être du fait d'altérations ultrastructurales qui s'accroîtraient au cours de l'évolution vers la décompensation cardiaque [35, 36]. Enfin, il est intéressant de noter que, jusqu'à maintenant, les stratégies thérapeutiques privilégiaient le canal L. Les données récentes concernant la structure (clonage), la présence d'un site pharmacologique à forte affinité (mibefradil) et une implication possible dans le remodelage cellulaire au cours de l'hypertrophie, positionnent le canal T comme une cible pharmacologique potentielle. Les études futures faisant appel, par exemple, aux outils de la biologie moléculaire et aux animaux transgéniques, devraient permettre de répondre aux nombreuses questions en suspens ■

#### Remerciements

Remerciements – pour leur contribution à certains des travaux présentés dans cette revue – à S. Lemaire, C. Piot, F. Tiaho, P. Charnet, F. Leclercq et J.P. Bénitah.

#### RÉFÉRENCES

- Escande D, Coulombe A, Faivre JH, Coraboeuf E. Characteristics of the time-dependent slow inward current in adult human atrial single myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 421: 176-87.
- Coraboeuf E, Nargeot J. Electrophysiology of human cardiac cells. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 1713-25.
- Lorente P, Delgado C, Bénitah JP, Bailly P, Gomez AM. Pharmacology of human channels in human myocytes. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia: Saunders WB Co, 1995: 277-91.
- Richard S, Leclercq F, Lemaire S, Piot C, Nargeot J. Ca currents in compensated hypertrophy and heart failure. *Cardiovascular Res* 1998; 37: 300-10.
- Nargeot J, Charnet P. Diversité moléculaire des canaux calciques: du gène à la fonction. *Med Sci* 1994; 10: 1293-308.
- Vassort G, Alvarez J. Cardiac T-type calcium current: pharmacology and roles in cardiac tissues. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994; 5: 376-93.
- Lemaire S, Piot C, Leclercq F, Leuranguer V, Nargeot J, Richard S. Heart rate as a determinant of L-type Ca channel activity: mechanisms and implication in force-frequency relationship. *Basic Res Cardiol* 1998; 93 (suppl 1): 51-9.
- Fares N, Gomez JP, Potreau D. T-type calcium current is expressed in dedifferentiated adult rat ventricular cells in primary culture. *CR Acad Sci Paris* 1996; 319: 569-76.
- Cribbs LL, Lee JH, Yang J, et al. Cloning and characterization of  $\alpha 1H$  from human heart, a member of the T-type calcium channel gene family. *Circ Res* 1998; 83: 103-9.
- Beuckelmann DJ, Nábauer M, Erdmann E. Characteristics of calcium current in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 929-37.
- Ouadid H, Séguin J, Richard S, Chaptal PA, Nargeot J. Properties and modulation of calcium channels in adult human atrial cells. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 41-54.
- Bénitah JP, Bailly P, D'Agrosa MC, Dupont JP, Delgado C, Lorente P. Slow inward current in single cells isolated from adult human ventricles. *Pflügers Arch* 1992; 421: 176-87.
- Sun H, Leblanc N, Nattel S. Mechanisms of inactivation of L-type calcium channels in human atrial myocytes. *Am J Physiol* 1997; 272: H1625-35.
- Mewes T, Ravens U. L-type calcium currents of human myocytes from ventricle of non-failing and failing heart and from atrium. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 1307-20.
- Ouadid H, Albat B, Nargeot J. Calcium currents in diseased human cardiac cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25: 282-91.
- Le Grand B, Hatem S, Deroubaix E, Couetil JP, Coraboeuf E. Calcium current depression in isolated human atrial myocytes after cessation of chronic treatment with calcium antagonists. *Circ Res* 1991; 69: 292-300.
- Le Grand B, Hatem S, Deroubaix E, Couetil JP, Coraboeuf E. Depressed transient outward and calcium currents in dilated human atria. *Cardiovascular Res* 1994; 28: 548-56.
- Takahashi T, Allen PD, Lacro RV, et al. Expression of dihydropyridine receptor ( $\text{Ca}^{2+}$  channel) and caldesmon genes in the myocardium of patients with end-stage heart failure. *J Clin Invest* 1992; 90: 927-35.
- Beuckelmann DJ, Erdmann E.  $\text{Ca}^{2+}$  currents and intracellular  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  transients in single ventricular myocytes isolated from terminally failing human myocardium. *Basic Res Cardiol* 1992; 87: 235-43.
- Bristow MR, Ginsburg R, Umans V, et al.  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective  $\beta_1$ -receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986; 59: 297-309.
- Lemaire S, Piot C, Seguin J, Nargeot J, Richard S. Tetrodotoxin-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Ba}^{2+}$  currents in human atrial cells. *Rec Channels* 1995; 3: 71-81.
- Aggarwal R, Shorofsky SR, Goldman L, Balke CW. Tetrodotoxin-blockable calcium currents in rat ventricular myocytes; a third type of cardiac cell sodium current. *J Physiol* 1997; 505: 353-69.
- Cole WC, Chartier D, Martin M, Leblanc N.  $\text{Ca}^{2+}$  permeation through  $\text{Na}^+$  channels in guinea pig ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1997; 273: H128-37.
- Santana LF, Gomez AM, Lederer WJ.  $\text{Ca}^{2+}$  flux through promiscuous cardiac  $\text{Na}^+$  channels: slip-Mode conductance. *Science* 1998; 279: 1027-33.
- Bowditch HP. Über die Eigenthümlichkeiten der Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzens zeigen. *Arch Physiol Anst Leipzig* 1871; 6: 139-76.
- Buckley NM, Penefsky ZJ, Litwak RS. Comparative force-frequency relationships in human and other mammalian ventricular myocardium. *Pflügers Arch* 1972; 332: 259-70.
- Ross Jr, Miura T, Kambayashi M, Eising GP, Ryu K. Adrenergic control of the force-frequency relation. *Circulation* 1995; 92: 2327-32.
- Hasenfuss G, Holubarsch C, Hermann HP, Astheimer K, Pieske B, Just H. Influence of the force-frequency relation on hemodynamics and left ventricular function in patients with nonfailing hearts and in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1994; 15: 164-70.
- Gwathmey JK, Slawsky MT, Hajjar RJ, Briggs GM, Morgan JP. Role of intracellular calcium handling in force-interval relationship of human ventricular myocardium. *J Clin Invest* 1990; 85: 1599-613.
- Piot C, Lemaire S, Albat B, Seguin J, Nargeot J, Richard S. High frequency-induced upregulation of human cardiac calcium currents. *Circulation* 1996; 93: 120-8.
- Richard S, Charnet P, Nerbonne JM. Voltage- and time-dependent interconversion between distinct gating pathways of the high threshold cardiac calcium channel. *J Physiol* 1993; 462: 197-228.
- Harrison SM, Boyett MR. The rôle of the Na-Ca exchanger in the rate-dependent increase in contraction in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol* 1995; 482: 555-66.
- Feldman MD, Gwathmey JK, Phillips P, Schoen F, Morgan JP. Reversal of the force-frequency relationship in myocardium from patients with end-stage heart failure. *J Appl Cardiol* 1988; 3: 273-83.
- Pieske B, Kretschmann B, Meyer M, et al. Alterations in intracellular calcium handling associated with the inverse force-frequency relation in human dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1995; 92: 1169-78.
- Gomez AM, Valvidia HH, Cheng H, et al. Defective excitation-contraction coupling in experimental cardiac hypertrophy and heart failure. *Science* 1997; 276: 800-5.

## RÉFÉRENCES

36. Mercadier J, Hatem S, Corabœuf E. Le syndrome du QT long congénital : c'est bien une affaire de canaux ioniques ! *Med Sci* 1995; 11: 1453-9.
37. Beuckelmann DJ, Näbauer M, Erdmann E. Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circulation* 1992; 85: 1046-55.
38. January CT, Riddle JM. Early afterdepolarizations: Mechanism of induction and block: a role for L-type  $Ca^{2+}$  current. *Circ Res* 1989; 64: 977-89.
39. Hirano Y, Moscucci A, January CT. Direct measurement of L-type  $Ca^{2+}$  window current in heart cells. *Circ Res* 1992; 70: 445-55.
40. Zeng J, Rudy Y. Early afterdepolarizations in cardiac myocytes: mechanisms and rate dependence. *Biophys J* 1995; 68: 949-64.
41. Mercadier J, Hatem S. Recaptage ou relargage ? ou les caprices de la signalisation calcique du myocyte dans l'hypertrophie et l'insuffisance cardiaques. *Med Sci* 1997; 13: 1454-8.
42. Priori SG, Corr PB. Mechanisms underlying early and delayed afterdepolarizations induced by catecholamines. *Am J Physiol* 1990; 258: H1796-805.
43. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, Ivanhoe RJ, DiBianco R, Zeldis SM, Hendrix GH, Bommer WJ, Elkayam U, Kukin ML, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure: the PROMISE Study Reserach Group. *N Engl J Med* 1991; 325: 1468-75.
44. Furberg CD, Psaty BM, Meyer JV. Nifedipine : dose-related increase in mortality in patients with coronary heart disease. *Circulation* 1995; 92: 1326-31.

## TIRÉS À PART

S. Richard.

## Summary

### The ups and downs of calcium currents during development of heart failure and the paradox of therapeutic strategies

Despite therapeutic advances improving exercise tolerance and survival, congestive heart failure remains a highly lethal disease. Although it has diverse aetiologies, common abnormalities of heart failure include hypertrophy, contractile dysfunction, tissue remodeling and alteration of electrophysiological properties producing a low cardiac output and an arrhythmogenic substrate for sudden death. The action potential is prolonged and relaxation of contraction is delayed due to a lengthening of calcium transients caused by altered density or function of several proteins relevant for calcium homeostasis. The changes in the nature, density and regulation of calcium currents remain controversial. The purpose of this paper is to review the results obtained in various animal models of compensated hypertrophy and heart failure with special emphasis on recent studies in human tissues. The focus is made on the properties of L-type  $Ca^{2+}$  channels and alteration of their regulation by heart rate and  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation. In addition, this review also focus on T-type  $Ca^{2+}$  channels, present in some animal models of hypertrophy.

## OFFRE D'EMPLOI

Le laboratoire « Génétique des eucaryotes-endocrinologie moléculaire », UMR 6547 Cnrs/Université Blaise-Pascal, Clermont-Ferrand, propose 2 postes à pourvoir en septembre 1999 :

- un poste de Professeur de Biologie et Physiologie moléculaires (65<sup>e</sup> section CNU)
- un poste de Maître de Conférences de Physiologie (66<sup>e</sup> section CNU)

Les candidats assureront des enseignements de physiologie (MCF) et de biologie et physiologie cellulaire et moléculaire (PR) en 1<sup>er</sup> et 2<sup>e</sup> cycles. La recherche s'effectuera dans l'équipe « Reproduction et Développement » de l'UMR 6547. L'équipe travaille actuellement sur des gènes modèles dont l'expression est régulée par une restriction tissulaire (tractus génital - surrénales), le stade de développement (pré ou postnatal) et des stimuli hormonaux empruntant la voie des récepteurs nucléaires (androgènes notamment) et/ou membranaires.

L'équipe souhaite étendre ses recherches à d'autres gènes dont l'expression, au cours de la morphogénèse et dans différentes conditions physiologiques, est contrôlée par des facteurs utilisant les récepteurs nucléaires. Une expérience dans le domaine de la transgénèse et de l'inactivation de gènes par recombinaison homologue sera appréciée.

**Contacts :** G. Veysière : Tél. : 04.73.40.74.15 - Email : veysiere@cicsun.univ-bpclermont.fr  
Cl. Jean : Tél. : 04.73.40.74.14 - Email : jean@cicsun.univ-bpclermont.fr