

ÉCOLE DOCTORALE SST
CNRS UMR 6542 / FRE 3092
EA 4433
Physiologie des Cellules Cardiaques et Vasculaires

THÈSE présentée par :

Nicolas DOISNE

soutenue le : **27 Novembre 2009**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université François - Rabelais**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé

**Caractérisation de l'Activité Automatique
Catécholaminergique au niveau de la Veine
Pulmonaire du Rat**

Rôle des Récepteurs α_1 -Adrénérgiques

THÈSE dirigée par :

Mme MAUPOIL Véronique

Maître de Conférences, Université François - Rabelais

RAPPORTEURS :

M. FAIVRE Jean-François

M. RIBUOT Christophe

Professeur, Université de Poitiers

Professeur, Université Joseph Fourier de Grenoble

JURY :

Mme BOULY Muriel

M. FAIVRE Jean-François

M. FINDLAY Ian

Mme MAUPOIL Véronique

M. RIBUOT Christophe

Chef d'Etudes Biologiques, Laboratoires Servier

Professeur, Université de Poitiers

Directeur de Recherches CNRS, Université François-Rabelais

Maître de Conférences, Université François-Rabelais

Professeur, Université Joseph Fourier de Grenoble

Insérer ici éventuellement votre dédicace

Remerciements

Mon travail de recherche a été réalisé au laboratoire Physiologie des Cellules Cardiaques et Vasculaires, successivement UMR CNRS 6542, FRE CNRS 3092 et finalement EA 4433, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, sous la direction du Maître de Conférences Universitaire Véronique MAUPOIL.

Je tiens tout d'abord à remercier M. le Professeur **Pierre Cosnay**, directeur de l'EA 4433, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et m'avoir permis d'effectuer mon stage de Master et ma thèse.

Je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse Mme le Maître de Conférences Universitaire **Véronique Maupoil**. Tu as toujours cru en moi, depuis mon stage de Master, à la fin duquel tu m'as clairement dit que tu serais déçue si je ne confirmais pas les espoirs que tu avais placés en moi pour la thèse. J'espère avoir été à la hauteur. Dans tous les cas, je ne serais certainement pas arrivé là sans ta présence pendant ces quatre années. Ta disponibilité, ton écoute et ta sympathie auront été un soutien sans faille. Et maintenant il va bien falloir que j'apprenne à aimer les moules... Merci encore pour tout.

Je tiens également à remercier M. le Directeur de Recherches **Ian Findlay**. Vous aurez été quasiment mon co-directeur de thèse et m'aurez appris énormément. Ç'aura été une réelle chance pour moi de travailler à vos côtés. J'essaierai toujours d'abattre les hommes de paille les uns après les autres.

Je remercie également chaleureusement Mrs le Professeur **Christophe Ribuot** et **Jean-François Faivre** qui ont accepté de juger mon travail.

Je remercie également Mme le Docteur **Muriel Bouly** d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance.

Je tiens à remercier M. le Docteur **Bruno Hivert**. Nous avons commencé quasiment ensemble dans le laboratoire (enfin tu as 1 mois d'ancienneté de plus que moi !) et tu as tout de suite cherché à mettre à l'aise l'étudiant stressé qui était en face de toi. Tu as toujours été disponible, quel que soit le sujet, professionnel ou non. J'ai toujours dans mon congélateur des restes de nos 50 kgs de cèpes ramassés un samedi matin ! Je pense que les soirées gastronomie-jeux de cartes vont me manquer. Bon courage et peut-être qu'on se croquera dans une gare parisienne au cours de ces deux prochaines années !

Je remercie également M. le Docteur-étudiant **Fabien Aymeric Faucher**. « Docteur » parce qu'il a soutenu sa thèse l'année dernière et « étudiant » parce qu'il est reparti sur les bancs de la fac de pharmacie dès le lendemain matin ! Avec une femme médecin et un ami pharmacien j'espère bien ne jamais dépenser un centime pour ma santé ! Plus sérieusement, ta mauvaise foi à la belote et tes cannelés légendaires vont aussi me manquer. Bon courage pour tes trois dernières (?) années d'étude et sois sympa avec ta future légitime épouse !

Je tiens à remercier M. le Chargé de Recherches **Jacques Lignon** et M. le Maître de Conférences **François Gannier**. Le premier pour avoir saturé mes boîtes mail de biblio (et de blagues pas toujours à montrer à n'importe qui !) et parce qu'il est un puits sans fond de connaissances. Le second pour avoir « sauvé » mon PC à de nombreuses reprises et m'avoir appris que l'informatique ce n'est pas si compliqué que ça n'y paraît si quelqu'un dans son entourage est un spécialiste !

Je remercie également M. le Maître de Conférences **Pierre Bredeloux**. Tu es le dernier arrivé dans le laboratoire et je suis rassuré, la relève est bien là ! Nous t'avons initié aux rites de nos soirées gastronomie-jeux de cartes et tu t'en es bien sorti. Tu peux me rappeler l'ordre des atouts à la belote ? Encore une chose : administrativement, Nantes ce n'est pas en Bretagne !

Je remercie également tous les « jeunes » passés au laboratoire pendant ma thèse. Notamment **Sevil, Jean-Baptiste, Noura** et bien sûr **Chloé** avec qui j'ai passé beaucoup de journées pendant ces quatre années et qui j'espère sont devenus plus des amis que des collègues.

Je tiens également à remercier chaleureusement Mme **Chantal Boisseau**. Ancienne secrétaire du laboratoire, aujourd'hui à la retraite, vous étiez absolument indispensable puisque vous connaissiez toutes les ficelles et tous les secrets de l'université. Pourrons-nous vous remplacer un jour ?

Je remercie également tous les autres membres du laboratoire « Physiologie des Cellules Cardiaques et Vasculaires », Mlle le Directeur de Recherches **Claire Malécot**, Mme le Docteur **Bei-Li Zhang**, M. le Professeur **Jean-Louis Freslon, Dominique**, pour votre sympathie et votre aide précieuse au cours de ces quatre années.

Je tenais également à remercier deux autres personnes qui m'ont donné un coup de pouce pendant ma (longue) période lycéenne et étudiante. Tout d'abord M. le Professeur Lorsque j'étais en première au lycée, vous m'avez dit, je cite : « Vous m'enverrez un exemplaire de votre thèse ! ». Ma professeure principale venait de me dire qu'avec mon 11/20 en mathématiques je n'arriverai jamais au bout d'études supérieures ! Je voulais enfin remercier Mme le Professeur **Marie-Claude Viaud-Massuard**. Lorsque j'étais en Master 1^{ère} année et que je commençais à trouver le temps long à l'université, vous m'avez dit, je cite : « C'est normal d'en avoir marre en 4^{ème} année mais vous verrez en DEA les choses sont différentes, vous êtes intégré à une équipe ! ». Cette petite phrase a certainement contribué à ce que je poursuive encore pendant quatre années.

N'oublions pas bien sûr **mes parents**, sans qui je ne serais pas arrivé ici aujourd'hui. Mes années d'étude auront certainement été plus dure pour vous que pour moi ! Vous avez fait beaucoup de sacrifices pour que je puisse faire mes études dans de bonnes conditions. Je vous en suis reconnaissant et maintenant que j'ai terminé, occupez-vous de vous et profitez en bien. Je remercie également **mes beaux-parents** pour leur soutien et leur présence surtout pendant ces derniers mois difficiles et également pour m'avoir « autorisé » à épouser leur fille !

J'ai gardé le meilleur pour la fin ! Je vais terminer ces remerciements trop longs par **ma femme Lucie** sans qui bien évidemment je ne serais pas là aujourd'hui ! Et je ne le serais pas au sens propre du terme ! Lorsque que nous étions en Terminale (ça fait bientôt dix ans déjà !), en cours de Physique-Chimie, tu m'as dit un samedi matin, je cite : « La semaine prochaine on se met au premier rang et tu te mets à travailler ! ». Je suis passé de 3,5/20 à 13/20 à l'épreuve du baccalauréat. Ce fut le début de notre histoire qui dure depuis bientôt dix ans maintenant. Ce furent les dix plus belles années de ma vie, avant les dix prochaines. Je vais m'efforcer toute ma vie durant de te rendre aussi heureuse que moi je le suis depuis dix ans. Je t'aime...

Résumé

La fibrillation auriculaire (FA) est le trouble du rythme soutenu (durée > 30 secondes) le plus fréquemment rencontré en clinique. L'activation de foyers ectopiques au sein des veines thoraciques semble être à l'origine de la FA. Nous avons montré au laboratoire qu'une activité contractile automatique en salves peut être induite par la noradrénaline (NA) sur la veine pulmonaire (VP) mais pas sur l'oreillette gauche (OG) de Rat.

Les objectifs de cette étude ont donc été de : 1) caractériser d'un point de vue électrophysiologique cette activité automatique catécholaminergique ; 2) étudier l'implication du courant I_f dans la genèse de cette activité automatique et du courant I_{K1} dans la dépolarisation du potentiel de membrane de repos (RMP) de la VP ; 3) caractériser les effets de la stimulation α_1 -adrénergique sur la contractilité de l'OG et la VP de Rat ; 4) vérifier si cette activité automatique catécholaminergique pouvait être enregistrée sur la veine cave supérieure (VCS) ; 5) caractériser l'influence de l'âge sur cette activité automatique et sur les réponses à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques (α_1 -AR).

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence des différences fonctionnelles entre le myocarde auriculaire et celui des veines thoraciques : 1) un RMP dépolarisé dans la VP et la VCS par rapport à l'OG ; 2) une densité du courant I_{K1} plus faible dans les cardiomyocytes de VP que dans les cellules atriales ; 3) la présence d'une activité automatique en salves induite par la NA sur la VP mais pas sur l'OG. De plus, le courant « pacemaker » I_f n'est pas impliqué dans la genèse de l'activité automatique observée sur la VP ; 4) la présence d'une activité déclenchée favorisée par une stimulation β_1 -adrénergique sur la VCS ; 5) une dépolarisation du RMP, due à la stimulation des α_1 -AR, plus importante sur la VP que sur les deux autres tissus. De plus, cette stimulation α_1 -adrénergique induit une inexcitabilité de la VP et la VCS alors qu'elle n'induit qu'un effet inotrope positif (PIE) fréquence-dépendant sur l'OG. Nous avons également pu mettre en évidence une influence du vieillissement sur l'incidence de l'activité automatique catécholaminergique et les réponses à la stimulation des α_1 -AR sur la VP. En effet, celles-ci semblent être diminuées chez les animaux âgés. En revanche, la cirazoline induit l'apparition d'une activité déclenchée sur la VP (mais pas sur l'OG) chez les animaux âgés.

Mots-clés : fibrillation auriculaire, veines thoraciques, activité automatique catécholaminergique, récepteurs α_1 -adrénergiques, vieillissement.

Abstract

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in clinical practise. Activation of ectopic foci within thoracic veins seems to be the cause of AF. We showed in our laboratory that norepinephrine (NE) can induce an automatic activity occurring in repetitive bursts in the pulmonary vein (PV) but not the left atrium (LA).

The objectives of this study were therefore: 1) to characterize electrophysiologically this catecholaminergic automatic activity; 2) to study the implication of the pacemaker current I_f in the occurrence of this automatic activity and the implication of the inward rectifier current I_{K1} in the depolarised resting membrane potential (RMP) of the PV; 3) to characterize the effects of the α_1 -adrenergic stimulation on the contractility of the LA and the PV of the Rat; 4) to determine whether a similar catecholaminergic automatic activity exists in the superior vena cava (SVC); 5) to characterize the influence of age on this automatic activity and on responses to the stimulation of α_1 -adrenergic receptors (α_1 -AR).

In this study, we showed functional differences between the atrial myocardium and that of thoracic veins: 1) a depolarized RMP in the PV and the SVC compared with the LA; 2) a I_{K1} current density lower in the PV cardiomyocytes than in atrial cells; 3) the presence of an automatic activity occurring in repetitive bursts induced by NE in PV but not in LA. Moreover, the pacemaker current I_f is not involved in the occurrence of this automatic activity; 4) the presence of a triggered activity facilitated by β_1 -adrenergic stimulation in the SVC; 5) a depolarization of the RMP due to the stimulation of α_1 -AR more pronounced in PV than the other two tissues. In addition, the α_1 -adrenergic stimulation induced an inexcitability of the PV and the SVC, while it induced a positive inotropic effect (PIE) frequency-dependant on the LA. We also demonstrated an effect of aging on the incidence of automatic activity and on the responses to stimulation of α_1 -AR in PV. Indeed, they seem to be diminished in older animals. In contrast, cirazoline induced the occurrence of a triggered activity in the PV (but not in the LA) in older animals.

Keywords: atrial fibrillation, thoracic veins, catecholaminergic automatic activity, α_1 -adrenergic receptors, aging.

Table des matières

Remerciements	4
Résumé	7
Abstract	8
Table des matières	9
Liste des tableaux	13
Liste des figures	14
Introduction	16
Première partie Revue Bibliographique	20
1. La Fibrillation Auriculaire.....	21
1.1. Epidémiologie	21
1.2. Diagnostic.....	22
1.3. Etiologie	23
1.4. Physiopathologie	24
1.4.1. Le Potentiel d'Action Cardiaque et l'Automaticité Cardiaque	24
1.4.2. Automatisme Anormal ou Activité Automatique Ectopique	27
1.4.3. Activité Déclenchée	28
1.4.4. Mécanisme de Réentrée	30
1.5. « Atrial Fibrillation Begets Atrial Fibrillation » (Wijffels <i>et al.</i> , 1995).....	31
1.5.1. Le Remodelage Electrique	32
1.5.2. Le Remodelage Structural	32
1.6. Complications.....	34
1.7. Traitement	35
1.7.1. Le Contrôle du Rythme : la Cardioversion	35
1.7.2. Le Contrôle de la Fréquence Cardiaque	36
1.7.3. L'Ablation de la FA	36
2. Les Veines Thoraciques et leur Implication dans la FA	39
2.1. Anatomie	39
2.1.1. Les Veines Pulmonaires	39
2.1.2. Les Autres Veines Thoraciques.....	40
2.2. Structure Veineuse Classique	42
2.3. Manchon de cardiomyocytes.....	44

2.3.1.	Origine Embryologique des Veines Thoraciques et du Manchon Myocardique	44
2.3.2.	Ultrastructure et Histologie	47
2.4.	Veines Thoraciques et Fibrillation Auriculaire	49
2.4.1.	Diamètre des veines thoraciques	49
2.4.2.	Longueur du manchon de cardiomyocytes.....	50
2.4.3.	Orientation des fibres myocardiques composant le manchon	51
2.5.	Electrophysiologie et automatisme des veines thoraciques	51
2.5.1.	Les Veines Pulmonaires	52
2.5.2.	Les Autres Veines Thoraciques.....	58
3.	Les Récepteurs α_1 -Adrénrgiques (α_1 -AR)	61
3.1.	Un Peu d'Histoire.....	61
3.2.	Caractéristiques des α_1 -AR.....	62
3.2.1.	Classification	62
3.2.2.	Distribution.....	63
3.2.3.	Structure	63
3.3.	Voies de Signalisation α_1 -Adrénrgiques.....	65
3.3.1.	La Protéine G Hétérotrimérique	65
3.3.2.	La Voie des Phosphatidyl-inositols.....	68
3.3.3.	Les Autres Voies de Signalisation	72
3.4.	Fonctions Myocardiques des α_1 -AR.....	74
3.4.1.	α_1 -AR et Contractilité.....	74
3.4.2.	α_1 -AR et Hypertrophie	79
3.4.3.	α_1 -AR et Chronotropie.....	80
	Objectifs	81
	Deuxième partie Matériel et Méthodes	82
1.	Animaux	83
1.1.	Euthanasie des Animaux	83
1.2.	Prélèvements	83
1.2.1.	Les Oreillettes Gauche et Droite	83
1.2.2.	Les Veines Pulmonaires	84
1.2.3.	La Veine Cave Supérieure.....	85
2.	Solutions et Réactifs.....	86
2.1.	Solutions Physiologiques	86

2.2.	Réactifs Pharmacologiques	87
3.	Enregistrement de l'Activité Contractile.....	88
3.1.	Montage du Lambeau et Conditions d'Etudes	88
3.2.	Montage des Anneaux	89
4.	Enregistrement de l'Activité Electrique	91
4.1.	Technique de Microélectrode Intracellulaire	91
4.2.	Technique de <i>Patch-clamp</i>	93
4.2.1.	Isolement Cellulaire	93
4.2.2.	Montage Expérimental et Conditions d'Etude	94
5.	Protocoles et Analyse des Résultats	96
5.1.	Etudes de Contractilité	96
5.1.1.	Effets Inotropes des Agonistes Adrénergiques	96
5.1.2.	Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Automatique Catécholaminergique Observée sur la VP.....	97
5.1.3.	Etude de l'Activité Déclenchée sur la SVC	97
5.2.	Etude du PA par Microélectrode Intracellulaire.....	98
5.2.1.	Effets des Agonistes Adrénergiques et du Vieillissement sur le PA d'OG et de VP	98
5.2.2.	Etude de l'Evolution du RMP	99
5.3.	Etude du Courant Sensible au Baryum par la Technique de <i>Patch-clamp</i>	100
	Troisième partie Résultats – Discussion	102
1.	Activité Automatique Catécholaminergique dans la VP.....	103
1.1.	Activité Automatique	103
1.2.	Activité Automatique Induite.....	104
1.3.	Conclusion.....	106
2.	Etude de 2 Effecteurs Possibles des α_1 - et β_1 -AR : le Courant I_{K1} et le Courant I_f	107
2.1.	Le Courant I_{K1}	107
2.1.1.	Effet du Ba^{2+} sur le RMP de Lambeaux Isolés de VP et d'OG.....	108
2.1.2.	I_{Basens} des cardiomyocytes isolés de VP et d'OG	110
2.1.3.	Discussion - Conclusion.....	113
2.2.	Le Courant I_f	114
2.2.1.	Introduction	114
2.2.2.	Contrôle de l'Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Spontanée de l'OD	115
2.2.3.	Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Automatique Catécholaminergique	116

2.2.4.	Discussion – Conclusion	119
2.3.	Conclusion.....	120
3.	Activité Déclenchée dans la VCS	121
4.	Stimulation α_1 -Adrénérergique sur la Contractilité de la VP	123
4.1.	Courbes Concentrations-Effets de Cirazoline	124
4.2.	Stimulation α_1 -Adrénérergique et Fréquence de Stimulation	125
4.3.	Sous-Type α_1 - Impliqué dans ces Effets	126
4.4.	Voies de Signalisation	127
4.5.	Discussion - Conclusion.....	129
5.	Influence de l'Age	132
5.1.	Influence du Vieillissement sur les Propriétés Electrophysiologiques Basales de l'OG et la VP de Rat	133
5.1.1.	Le Potentiel de Membrane de Repos.....	133
5.1.2.	Le Potentiel d'Action	134
5.2.	Influence du Vieillissement sur la Genèse de l'Activité Automatique Catécholaminergique et la Dépolarisation α_1 -Adrénérergique sur la VP de Rat	135
5.2.1.	Incidence de l'Activité Automatique Catécholaminergique sur la VP de Rat	135
5.2.2.	Vieillissement et Stimulation α_1 -Adrénérergique	136
5.3.	Discussion – Conclusion	138
	Conclusion.....	142
	Résumé	175
	Abstract	175

Liste des tableaux

Tableau I : Incidence d'activité automatique intrinsèque dans la VP.	55
Tableau II : Caractéristiques des 3 sous-types d' α_1 -AR.....	63
Tableau III : Classification des sous-types de protéines G hétérotrimériques.	67
Tableau IV : Composition des solutions physiologiques.	86
Tableau V : Caractéristiques des PA de l'OG et la VP dans les deux groupes d'animaux....	134

Liste des figures

Figure 1 : Prévalence de la FA en fonction de l'âge et du sexe.	22
Figure 2 : ECG d'un patient en rythme sinusal en haut et d'un patient en FA en bas.	23
Figure 3 : Automaticité cardiaque et les différents PA cardiaques.	25
Figure 4 : Le potentiel d'action cardiaque et les principaux courants ioniques impliqués.	26
Figure 5 : Influence de la vitesse de dépolarisation sur l'automatisme.....	27
Figure 6 : EAD (A), DAD (B) et PA déclenchés par ces post-dépolarisations.....	29
Figure 7 : Mécanisme de réentrée.	30
Figure 8 : Mécanismes impliqués dans le phénomène de réentrée.	31
Figure 9 : Induction de DAD dans le remodelage structural lors de la FA.....	33
Figure 10 : Phénomènes impliqués dans la genèse et le maintien de la FA.....	34
Figure 11 : Procédure d'ablation de FA réalisée par l'équipe du Pr. Haissaguerre.	37
Figure 12 : Schéma représentant l'anatomie de l'ensemble cœur-poumons chez le Rat.....	40
Figure 13 : Vue postéro-inférieure de l'OG montrant le ligament de Marshall chez le Chien.....	41
Figure 14 : Schéma du cœur montrant le sinus coronaire.	42
Figure 15 : Schéma de l'organisation des CML dans la paroi de la VP chez le Rat.....	43
Figure 16 : Schéma du sinus veineux chez l'embryon de Souris en vue dorsale du cœur.....	45
Figure 17 : Modèle du développement de la VP et du manchon myocardique.....	46
Figure 18 : Modèle de la formation du myocarde des veines pulmonaires en 2 étapes.....	47
Figure 19 : Coupe longitudinale de VP chez le Chien colorée au trichrome de Masson.....	48
Figure 20 : Répartition des foyers d'activité ectopique à l'origine d'une FA.....	50
Figure 21 : Représentation schématisée d'un α_1 -AR de Hamster.	64
Figure 22 : Cycle d'activation-inactivation de la protéine G hétérotrimérique.	66
Figure 23 : Voie de signalisation α_1 -adrénergique impliquant les voies de l'IP ₃ et du DAG..	70
Figure 24 : Les phospholipases impliquées dans la transduction du signal α_1 -adrénergique. .	72
Figure 25 : Mécanismes impliqués dans le PIE induit par une stimulation α_1 -adrénergique...	78
Figure 26 : Schéma de l'anatomie du bloc cœur/poumon chez le rat	84
Figure 27 : Dispositif expérimental permettant l'enregistrement de la contraction.....	88
Figure 28 : Montage de l'anneau de veine pulmonaire dans la cuve à organe.....	90
Figure 29 : Schéma du montage expérimental de microélectrode intracellulaire.	92
Figure 30 : Schéma représentant les différentes configurations de <i>patch-clamp</i>	95
Figure 31 : Protocole d'étude du potentiel de repos suite à l'arrêt de la stimulation.....	98
Figure 32 : Evolution du potentiel de repos en fonction du temps.	100

Figure 33 : Schéma des protocoles utilisés pour les expérimentations de <i>patch-clamp</i>	101
Figure 34 : Superfusion de NA à 10^{-6} M sur un lambeau de VP.....	105
Figure 35 : Effet du Ba^{2+} sur le RMP de l'OG de Rat.....	108
Figure 36 : Effet du Ba^{2+} sur le RMP de la VP et l'OG en fonction de sa concentration.	109
Figure 37 : Photographies de cardiomyocytes isolés d'OG (A) et de VP (B).....	110
Figure 38 : Courbes courant-voltage (I-V) en absence (noir) ou en présence (bleu) de Ba^{2+} .111	
Figure 39 : Courbes I-V de I_{Basens}	112
Figure 40 : Effet de l'ivabradine sur la fréquence de contraction de l'OD de Rat.....	116
Figure 41 : Salves de contractions automatiques sous NA 10^{-5} M sur la VP de Rat.	117
Figure 42 : Variation de la période des salves sous ivabradine 10^{-6} M.....	118
Figure 43 : Effet de l'ivabradine 10^{-6} M sur la durée et l'organisation des salves.....	119
Figure 44 : Courbes concentrations-effets de cirazoline sur l'OG et la VP de Rat.....	124
Figure 45 : Effet de la fréquence de stimulation sur la réponse α_1 -adrénergique sur la VP. .	125
Figure 46 : Effet du WB-4101 contre la cirazoline sur l'OG de Rat.....	126
Figure 47 : Effet du WB-4101 contre la cirazoline sur la VP de Rat.....	127
Figure 48 : Effet de la cirazoline en présence de staurosporine sur la contractilité de la VP.128	
Figure 49 : Effet de la cirazoline en présence du PDBu sur la contractilité de la VP.....	129
Figure 50 : RMP des cardiomyocytes de l'OG (à gauche) et la VP (à droite).....	133
Figure 51 : Activité Déclenchée induite par la cirazoline sur la VP des animaux âgés.....	136
Figure 52 : Effet de 10^{-6} M de cirazoline sur le RMP.	137
Figure 53 : Courbes concentrations-effets de cirazoline sur la VP.	138

Introduction

La fibrillation auriculaire est le trouble du rythme soutenu le plus fréquemment rencontré dans la pratique clinique en cardiologie. Elle se caractérise par un rythme rapide et anarchique de l'oreillette concernée (environ 400 battements par minute) qui perd alors sa fonction mécanique. L'incidence de la fibrillation auriculaire (1 % dans la population générale) augmente avec l'âge et atteint environ 10 % après 80 ans Go *et al.*, 2001. Cette arythmie est devenue aujourd'hui un vrai problème de santé publique. En effet, elle peut entraîner de graves conséquences : un patient qui présente ce trouble du rythme a 1,5 fois plus de risques de mourir (Benjamin *et al.*, 1998) et 5 fois plus de risques d'être victime d'un accident vasculaire cérébral (Wolf *et al.*, 1991). De plus, la prise en charge de cette maladie engendre d'importantes dépenses de santé de la part des pays industrialisés puisqu'ils y consacrent plus d'1,5 % de leur budget santé. Actuellement, la fibrillation auriculaire bénéficie de traitements symptomatiques (contrôle du rythme ou de la fréquence cardiaque, contrôle du risque thrombo-embolique). Les mécanismes à l'origine de l'arythmie (foyers ectopiques) quant à eux sont traités au moyen d'interventions plutôt invasives (ablation chirurgicale ou endocavitaire).

L'activation de foyers ectopiques au sein des veines thoraciques semble être à l'origine de la fibrillation auriculaire (Haissaguerre *et al.*, 1998 ; Tsai *et al.*, 2000). En effet, ces veines thoraciques (veines pulmonaires, veines caves, sinus coronaire et ligament de Marshall) possèdent des cardiomyocytes dans leur structure. Ces cardiomyocytes sont organisés en un manchon en continuité avec le tissu atrial. Cette continuité structurale se traduit par une continuité électrique. Les cardiomyocytes veineux se contractent en même temps que le tissu cardiaque. L'origine embryologique de ce manchon n'est pas encore totalement établie. Deux théories s'affrontent aujourd'hui. La première décrit une origine commune avec le tissu atrial dont il dériverait (Jones *et al.*, 1994 ; Millino *et al.*, 2000). Dans la seconde théorie, les auteurs décrivent plutôt deux origines distinctes du manchon et du tissu atrial. En effet, le myocarde veineux dériverait d'une différenciation des cellules du mésenchyme embryonnaire du vaisseau (Kruithof *et al.*, 2003 ; Mommersteeg *et al.*, 2007). Dès 1876, une activité spontanée a été montrée au niveau des veines pulmonaires et de la veine cave supérieure (Brunton et Fayrer, 1876). Cependant, la présence d'une activité spontanée au niveau du manchon de cardiomyocytes des veines thoraciques dépend fortement de l'espèce animale considérée (Luk *et al.*, 2008). Elle semble plus importante chez le Lapin que chez le Chien et complètement absente chez le Rat.

Il a été montré au laboratoire qu'une activité automatique peut être induite par la noradrénaline sur la veine pulmonaire mais pas sur l'oreillette gauche de Rat (Maupoil *et al.*,

2007). Cette activité automatique apparaît en salves, est indépendante de la stimulation électrique externe et nécessite la stimulation conjointe des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques.

Dans la première partie de cette étude, nous avons caractérisé d'un point de vue électrophysiologique l'activité automatique catécholaminergique induite au niveau de la veine pulmonaire du Rat ainsi que les différences électrophysiologiques entre les cardiomyocytes de l'oreillette gauche et ceux de la veine pulmonaire du Rat. Au cours de ce travail, nous avons pu mettre en évidence une forte dépolarisation du potentiel de membrane de repos des cardiomyocytes quiescents de la veine pulmonaire induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques. Cette dépolarisation rend alors le tissu complètement inexcitable dans nos conditions expérimentales. Par la suite, nous avons vérifié si une telle activité pouvait être enregistrée au niveau de la veine cave supérieure du Rat. Nous avons également caractérisé les réponses à la stimulation des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques du myocarde de cette veine.

Cette inexcitabilité induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergique sur la veine pulmonaire est tout à fait surprenante. La littérature concernant les effets contractiles de la stimulation α_1 -adrénergique sur la veine pulmonaire est très pauvre. A ma connaissance, une seule étude décrivant un effet inotrope positif en réponse à cette stimulation a été réalisée (MacLeod et Hunter, 1967). De plus, très peu d'études montrent un effet inotrope négatif en réponse à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques sur le myocarde (Tanaka *et al.*, 1995 ; Nishimaru *et al.*, 2001 ; McCloskey *et al.*, 2002 ; Varma *et al.*, 2003 ; Roman *et al.*, 2004 ; Hirano *et al.*, 2006 ; Kissling *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2006). Nous nous sommes donc intéressés à cette inexcitabilité totalement surprenante induite par la stimulation α_1 -adrénergique sur la veine pulmonaire et nous l'avons comparé aux effets induits par cette stimulation adrénergique sur la contractilité de l'oreillette gauche du Rat. Nous avons ensuite appréhendé quelques voies de signalisation permettant d'expliquer les effets obtenus sur la contractilité de la veine pulmonaire.

L'incidence de la fibrillation auriculaire augmente avec l'âge (Go *et al.*, 2001). Nous nous sommes donc intéressés à l'influence du vieillissement sur l'activité automatique catécholaminergique induite sur la veine pulmonaire et sur les réponses à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergique sur l'oreillette gauche et la veine pulmonaire du Rat.

Il existe des différences électrophysiologiques entre le myocarde de la veine pulmonaire et le myocarde atrial chez le Rat. Parmi ces différences, nous nous sommes plus particulièrement focalisés sur le potentiel de membrane de repos dépolarisé dans la veine pulmonaire par rapport à l'oreillette gauche. Dans la dernière partie de ce travail, nous avons

tout d'abord caractérisé l'effet du baryum sur ce potentiel de membrane de repos des deux tissus ainsi que le courant sensible à cet ion sur des cardiomyocytes isolés de l'oreillette gauche et la veine pulmonaire. Ce courant sensible au baryum est apparenté au courant potassique rectifiant entrant I_{K1} impliqué dans le maintien du potentiel de membrane de repos des cellules cardiaques (pour revue, Lopatin et Nichols, 2001). Enfin, nous avons étudié le rôle du courant dit « pacemaker » I_f , impliqué dans l'activité spontanée du nœud sinusal (pour revue, Lakatta et DiFrancesco, 2009), dans la genèse de l'activité automatique catécholaminergique observée sur la veine pulmonaire du Rat. Cette dernière partie a été réalisée en collaboration avec les laboratoires Servier.

Première partie
Revue Bibliographique

1. La Fibrillation Auriculaire

La fibrillation auriculaire (FA) est le trouble du rythme cardiaque soutenu (durée > 30 sec) le plus fréquent chez l'Homme. Elle se caractérise par la disparition d'une activité électrique auriculaire organisée au profit de dépolarisations anarchiques, rapides (400 à 600 par minute), responsables de la perte de la contraction auriculaire et de l'accélération de la fréquence ventriculaire. La classification actuelle de la FA tient compte de sa durée, de sa récurrence et de sa réponse aux traitements :

- Paroxystique : d'une durée < 7 jours, se terminant spontanément (généralement en moins de 24 heures) avec possibilité de récurrence.
- Persistante : d'une durée > 7 jours, nécessitant une cardioversion (restauration du rythme sinusal) électrique ou pharmacologique (voir Traitements). Une FA paroxystique peut dégénérer en FA persistante.
- Permanente : d'une durée > 1 an, la cardioversion a été inefficace ou n'a pas été effectuée. A long terme, une FA qui était paroxystique au départ évolue généralement en FA permanente.

La FA atteint plus particulièrement les sujets âgés ou fragilisés par une cardiopathie sous-jacente. Elle est à l'origine d'importantes mortalité et morbidité cardiovasculaires ainsi que de coûts médicaux grandissants. Elle est donc devenue aujourd'hui un problème de santé publique. C'est pourquoi les pays occidentaux (Europe et Etats-Unis) consacrent plus d'1.5 % de leur budget santé à cette maladie.

1.1. Epidémiologie

La principale étude épidémiologique (*the AnTicoagulation and Risk Factors In Atrial Fibrillation* ou ATRIA) sur la FA a été menée aux Etats-Unis à la fin du siècle dernier par Go et collaborateurs (Go *et al.*, 2001). Elle inclut près de 2 millions de personnes. Dans cette étude, les auteurs ont montré que la prévalence de la FA dans la population générale est de 1 %. Celle-ci augmente avec le sexe masculin. En effet, elle est 1.5 fois plus importante chez les hommes que chez les femmes (1.1 % contre 0.8 %, respectivement) ; cette différence s'atténuant avec l'âge. Ce dernier influence également positivement la prévalence de la FA

puisque'elle n'est que de 0.1 % avant 55 ans et atteint 9 % après 80 ans. La FA touche 3.8 % de la population après 60 ans. Ces chiffres sont résumés dans la Figure 1.

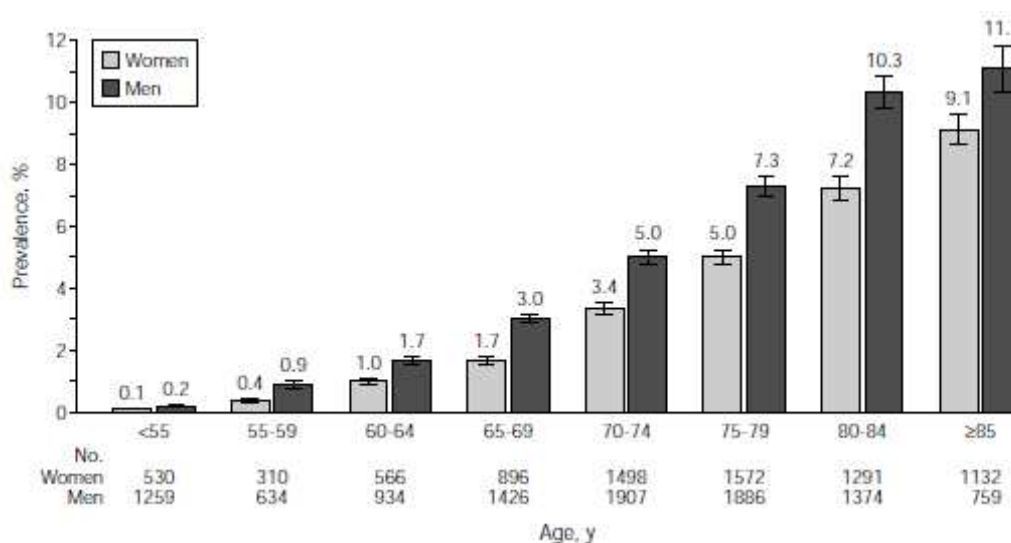


Figure 1 : Prévalence de la FA en fonction de l'âge et du sexe.

Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95 %. Les nombres représentent le nombre d'hommes et de femmes souffrant de FA dans chaque classe d'âge (d'après Go *et al.*, 2001).

Au cours de cette étude, les auteurs ont donc estimé que 2.3 millions d'américains souffraient de FA et que ce chiffre serait multiplié par 2.5 pour atteindre environ 5.6 millions de personnes d'ici 2050.

1.2. Diagnostic

Le diagnostic de la FA est difficile puisqu'elle est très souvent asymptomatique. Sa découverte est généralement fortuite au cours d'un électrocardiogramme (ECG) de contrôle. En effet, son diagnostic se fait à partir de l'ECG. Le tracé de l'ECG est composé d'ondes représentant l'activité électrique des différentes parties du cœur (Figure 2). L'onde P représente la dépolarisation des oreillettes. Le complexe QRS correspond à la dépolarisation des ventricules. Enfin l'onde T représente la repolarisation des ventricules. Sur l'ECG d'un patient souffrant de FA, l'onde P est remplacée par des trémulations polymorphes de la ligne de base (appelées ondes F de fibrillation), traduisant l'activité électrique anarchique des oreillettes. De plus, les complexes QRS (représentant l'activité des ventricules) sont plus nombreux et irréguliers (Figure 2).

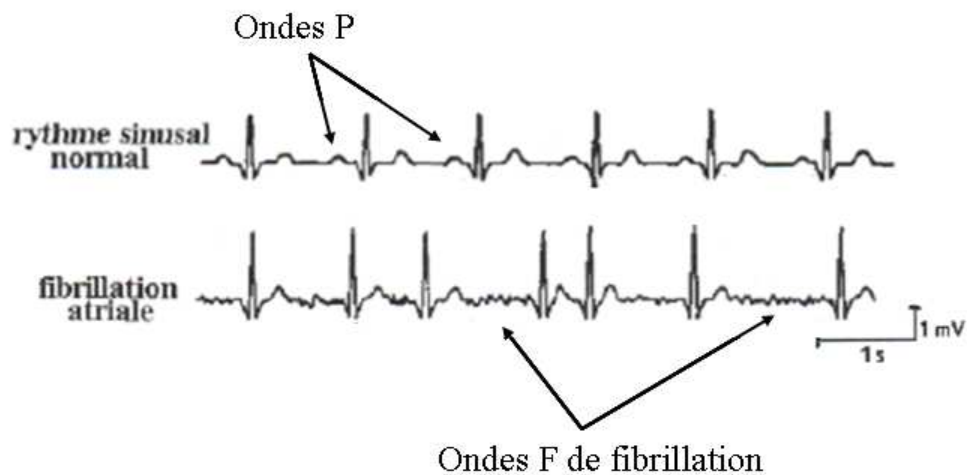


Figure 2 : ECG d'un patient en rythme sinusal en haut et d'un patient en FA en bas.
(modifié d'après D'Alché, 2003).

1.3. Etiologie

La majorité des cas de FA est secondaire à une surcharge de pression de l'une des deux oreillettes. Ainsi, toutes les cardiopathies peuvent un jour se compliquer de FA. Les causes de FA peuvent être (Levy *et al.*, 1998 ; Horvilleur et Lacotte, 2004) :

- Cardiaques : valvulopathies (mitrale, aortique ou tricuspide), cardiomyopathies (hypertrophique, dilatée, restrictive ou constrictive), insuffisance cardiaque, chirurgie cardiaque, infarctus du myocarde, épanchement péricardique, cœur pulmonaire chronique (insuffisance respiratoire chronique) ou aigu (embolie pulmonaire), cardiopathies congénitales, tumeurs.
- Extra-cardiaques : hyperthyroïdie, hypokaliémie (= hyperexcitabilité), hypercalcémie, phéochromocytome (très rare), intoxication alcoolique aiguë (« FA du samedi soir »), toxicomanie (cocaïne), système nerveux autonome (parasymphatique ou sympathique), iatrogène (provoquée par un traitement médicamenteux, notamment par des substances sympathomimétiques β comme la noradrénaline).
- Idiopathique : c'est-à-dire survenant chez des patients sains, représentant environ 5 % des cas, elle est en général bien tolérée et à faible risque embolique.
- Génétiques : différentes études ont montré des mutations sur des gènes codant des sous-unités de canaux potassiques comme KCNE2 (Yang *et al.*, 2004), KCNJ2 (Xia *et al.*, 2005) et KCNH2 (Hong *et al.*, 2005) ainsi que sur d'autres *loci* qui n'ont pas encore été identifiés. Cependant, chaque mutation n'a été

retrouvée que dans une famille en particulier et non dans plusieurs familles. C'est pourquoi la composante génétique de la FA est encore fortement discutée aujourd'hui.

1.4. Physiopathologie

Les mécanismes physiopathologiques de la FA (automatisme anormal, activité ectopique ou déclenchée et réentrée) sont complexes et dépendent les uns des autres. Pour bien les comprendre, il faut d'abord connaître plus précisément la physiologie cardiaque, notamment les phénomènes responsables de l'automaticité ainsi que les courants ioniques impliqués dans le potentiel d'action (PA) cardiaque.

1.4.1. Le Potentiel d'Action Cardiaque et l'Automaticité Cardiaque

L'activité automatique du cœur est générée par un groupe de cellules qui forment ce qui est appelé le nœud sinusal situé dans l'oreillette droite (Figure 3). Dans ces cellules dites sinusales, la phase 4 du PA est composée d'une dépolarisation lente diastolique responsable de cette automaticité. Cette dépolarisation est portée principalement par 2 types de courant :

- Le courant I_f . Ce courant est dit « funny » car il est activé entre autres par une hyperpolarisation (également par les nucléotides cycliques comme l'AMPc ; Di Francesco et Ojeda, 1980). C'est un courant entrant cationique non sélectif.
- Le courant de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, I_{NCX} . Pendant le plateau du PA, le Ca^{2+} entre dans la cellule *via* les canaux calciques de type L. Cette entrée de Ca^{2+} n'est pas suffisante pour induire à elle seule une contraction. Pour se contracter, la cellule cardiaque a besoin de libérer ses réserves calciques contenues dans le réticulum sarcoplasmique (RS ; c'est le phénomène de « Calcium Induced Calcium Release » ou CICR). La concentration intracellulaire de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) augmente alors fortement. Ce Ca^{2+} libre étant toxique pour la cellule, il faut rapidement le recapter (dans le RS grâce à la pompe calcique du RS) ou l'expulser hors du cytoplasme. C'est là qu'intervient l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Il permet de faire passer un ion Ca^{2+} du cytoplasme vers l'extérieur en échange de 3 ions Na^+ . Il génère donc un courant net entrant (3 charges positives qui entrent contre 2 qui sortent) donc dépolarisant.

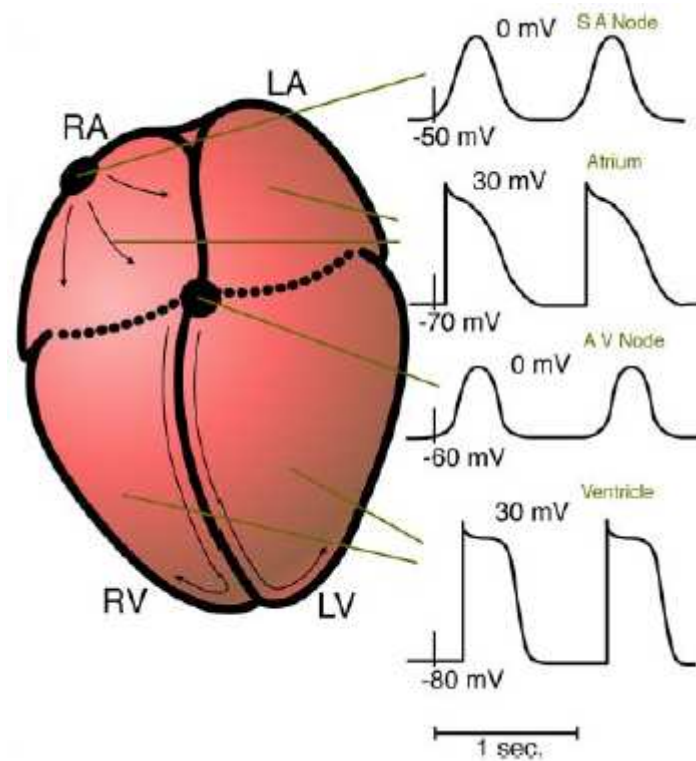


Figure 3 : Automaticité cardiaque et les différents PA cardiaques.

L'influx électrique prend naissance dans le nœud sinusal situé dans l'oreillette droite puis se propage dans les 2 oreillettes puis les ventricles *via* le nœud auriculo-ventriculaire, le faisceau de His et les fibres de Purkinje. Les différents PA cardiaques sont décrits à droite. On peut remarquer que le PA du nœud sinusal et du nœud auriculo-ventriculaire comporte une phase 4 de dépolarisation lente diastolique (voir plus bas), tandis que le PA auriculaire et le PA ventriculaire possède un plateau (RA : oreillette droite ; LA : oreillette gauche ; RV : ventricule droit ; LV : ventricule gauche ; SA Node : nœud sinusal ; AV Node : nœud auriculo-ventriculaire) (d'après Nattel *et al.*, 2007).

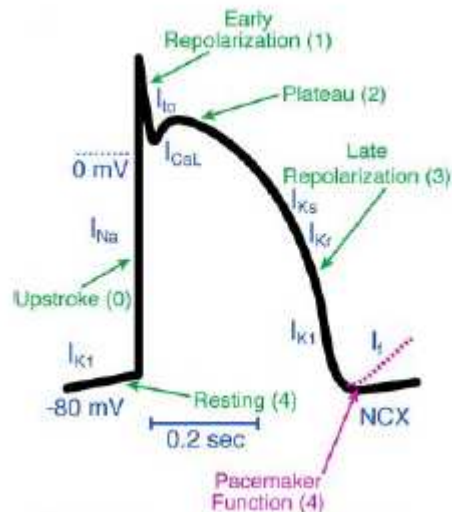


Figure 4 : Le potentiel d'action cardiaque et les principaux courants ioniques impliqués.
(d'après Nattel *et al.*, 2007).

Le potentiel d'action cardiaque se distingue par son plateau au cours duquel le Ca^{2+} , indispensable à la contraction, entre dans la cellule. Ce plateau est plus important dans les cellules de Purkinje et des ventricules. Ce PA comporte 4 phases numérotées de 0 à 4 (Figure 4) :

- Phase 0 : c'est la phase de dépolarisation rapide du PA. Elle est essentiellement portée par le courant sodique rapide (I_{Na}) sauf dans les cellules du nœud sinusal (portée par le courant calcique de type T, I_{CaT} , puisque les canaux sodiques rapides sont peu ou pas exprimés dans ces cellules).
- Phase 1 : c'est la phase de repolarisation précoce du PA. Elle est essentiellement portée par le courant potassique transitoire sortant (I_{to}).
- Phase 2 : c'est le plateau du PA. C'est pendant cette phase que le Ca^{2+} entre dans la cellule *via* les canaux calciques de type L.
- Phase 3 : c'est la phase de repolarisation dite « tardive », portée par des courants potassiques sortants : le courant potassique rapide (I_{Kr}), le courant potassique lent (I_{Ks}) et le courant potassique rectifiant entrant (I_{K1}).
- Phase 4 : c'est la phase de dépolarisation lente diastolique dans les cellules du nœud sinusal, portée par le courant I_f (« funny », activé par une hyperpolarisation notamment) et le courant de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} (I_{NCX}). Dans les autres types cellulaires cette phase est la phase de repos diastolique pendant laquelle une forte

conductance potassique portée par I_{K1} permet au potentiel de revenir à son niveau de départ, c'est-à-dire environ -80 mV (proche du potentiel d'inversion du K^+).

Maintenant, nous connaissons les courants ioniques impliqués dans l'automaticité cardiaque ainsi que ceux impliqués dans le PA. Nous pouvons donc nous intéresser à la physiopathologie de la FA. Dès le début du 20^{ème} siècle, les cardiologues et les scientifiques ont cherché à comprendre comment naissait ce trouble du rythme. En 1924, Garrey proposa 3 théories (pour revue, Shiroshita-Takeshita *et al.*, 2005) :

- Un (ou des) foyer(s) d'activité ectopique généré dans l'une des oreillettes
- Un unique circuit de réentrée avec différentes voies de conduction dites « fibrillatoires »
- De multiples circuits de réentrée

La FA fait donc intervenir différents mécanismes qui peuvent être intriqués :

- Un automatisme anormal ou activité automatique ectopique
- Une (ou des) activité(s) déclenchée(s)
- Le phénomène de réentrée

1.4.2. Automatisme Anormal ou Activité Automatique Ectopique

L'automatisme cardiaque est donc généré au niveau du nœud sinusal. D'autres régions peuvent, si nécessaire ou en conditions pathologiques, générer un automatisme. C'est le cas du nœud auriculo-ventriculaire (AVN), du faisceau de His et des fibres de Purkinje. En conditions physiologiques, le nœud sinusal est le pacemaker le plus rapide, ce qui lui permet « d'éteindre » les autres. Néanmoins, il peut arriver que dans ces autres zones la vitesse de dépolarisation soit augmentée. La cellule va alors atteindre son seuil d'activation plus rapidement et générer un potentiel d'action ectopique (Figure 5).

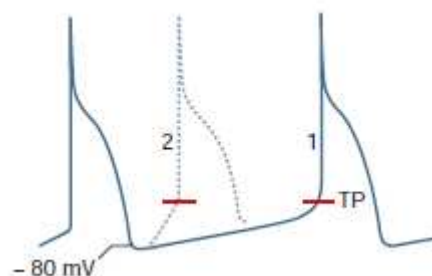


Figure 5 : Influence de la vitesse de dépolarisation sur l'automatisme.

(1) : Automatisme « normal ». (2) : Quand la vitesse de dépolarisation augmente, un automatisme anormal peut être généré. TP : potentiel seuil (d'après Nattel, 2002).

Nous avons vu que l'automatisme était porté principalement par les courants I_f et I_{NCX} alors que le potentiel diastolique était maintenu principalement par le courant I_{K1} . Toute diminution de ce dernier ou toute augmentation des 2 premiers induira une dépolarisation diastolique plus rapide voire un automatisme anormal (Ehrlich *et al.*, 2003 ; Cerbai et Mugelli, 2006).

Un automatisme anormal qui se crée dans une autre zone que le nœud sinusal est appelé activité ectopique. Cette activité ectopique peut être le déclencheur ou, si elle est rapide et soutenue, peut maintenir la FA (Shiroshita-Takeshita *et al.*, 2005). On peut retrouver une activité ectopique dans les 3 tissus cités plus haut, le nœud auriculo-ventriculaire, le faisceau de His et les fibres de Purkinje, mais également dans le tissu auriculaire lui-même et les veines thoraciques, notamment les veines pulmonaires (Haissaguerre *et al.*, 1998), le ligament de Marshall (vestige veineux de l'oreillette gauche ; Doshi *et al.*, 1999) et la veine cave supérieure (Tsai *et al.*, 2000). Le chapitre suivant sera consacré à ces veines thoraciques et leur rôle dans la FA.

1.4.3. Activité Déclenchée

L'activité déclenchée (ou post-dépolarisation) se définit comme des oscillations du potentiel diastolique qui, si elles atteignent le seuil d'activation, peuvent déclencher un PA (Burashnikov et Antzelevitch, 2006). Cette activité déclenchée peut engendrer l'extrasystole qui va générer la tachyarythmie maintenue par les mécanismes de réentrée (notamment la FA). Une activité déclenchée est toujours précédée d'un PA. Elle peut être de 2 types (Figure 6) :

- Post-dépolarisation précoce (« Early AfterDepolarization » ou EAD) : survient pendant la phase 2 ou la phase 3 du PA.
- Post-dépolarisation tardive (« Delayed AfterDepolarization » ou DAD) : survient quand la repolarisation du PA est terminée (ou quasiment).

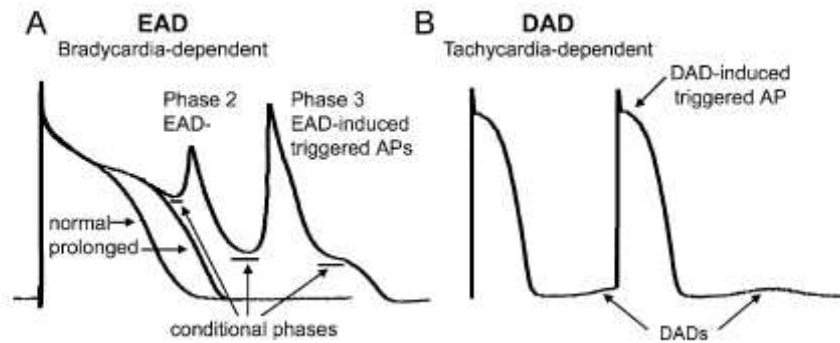


Figure 6 : EAD (A), DAD (B) et PA déclenchés par ces post-dépolarisations.

(d'après Burashnikov et Antzelevitch, 2006).

Les EAD sont responsables d'une dispersion de la repolarisation et favorisent ainsi les phénomènes de réentrée (voir 1.5). Elles sont généralement associées à une augmentation de la durée du PA (APD) et consécutives à un épisode de bradycardie ou à une pause (Volders *et al.*, 2000). Les EAD de phase 2, enregistrées dans les fibres de Purkinje et le muscle ventriculaire, peuvent être dues à une diminution de I_{Kr} ou I_{Ks} et une augmentation de I_{CaL} ou du courant sodique retardé (« late » I_{Na}). Ces post-dépolarisations peuvent apparaître avec ou sans augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$. Néanmoins, une augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$ dans des conditions d'allongement de l'APD facilite la génération d'EAD. Les EAD retardées de phase 3 seraient dues à I_{NCX} et $I_{Cl(Ca)}$ (courant chlorure activé par le calcium) mais sans libération spontanée de Ca^{2+} par le RS (au contraire des DAD ; Burashnikov et Antzelevitch, 2006 ; Patterson *et al.*, 2005). Elles seraient impliquées principalement dans la réinitiation immédiate de la FA.

Les DAD sont plus associées à un rythme rapide. Elles sont liées à une surcharge calcique du milieu intracellulaire et peuvent être induites par les digitaliques, la stimulation β -adrénergique et une faible concentration extracellulaire en K^+ ($[K^+]_e$; induit une hyperexcitabilité). Comme nous l'avons dit plus haut, la génération des DAD est liée à une libération spontanée de Ca^{2+} par le RS. Cette libération spontanée de Ca^{2+} induit une augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$. Celle-ci active un courant transitoire entrant (I_{ti}) composé des courants I_{NCX} et $I_{Cl(Ca)}$. Ce courant peut alors engendrer un nouveau PA déclenché. Les DAD peuvent être enregistrées dans toutes les zones cardiaques (pour revue, Burashnikov et Antzelevitch, 2006).

1.4.4. Mécanisme de Réentrée

Le mécanisme de réentrée intervient à la fois dans l'initiation et le maintien de l'arythmie. Ce mécanisme fait appel aux notions de longueur d'onde, de période réfractaire (PR) et de vitesse de conduction. La longueur d'onde d'un influx électrique est la distance parcourue par cet influx pendant une PR. Elle dépend donc de la durée de la PR et de la vitesse de conduction. La PR est l'intervalle de temps au cours duquel les canaux sodiques rapides sont inactivés et empêchent donc une nouvelle dépolarisation de la cellule.

Le mécanisme de réentrée fait intervenir une propagation anormale de l'influx électrique entre 2 zones du tissu auriculaire (Figure 7). Tout d'abord une onde de dépolarisation part de la zone I pour activer la zone II. Une fois que l'onde est passée en zone II, la zone I se retrouve en période réfractaire (ses canaux sodiques rapides sont inactivés ; 1). Physiologiquement, l'onde de dépolarisation ne peut donc pas revenir en arrière (de la zone II à la zone I). Néanmoins, un complexe ectopique (nouvelle onde de dépolarisation ; 2) survenant en zone II, peut se propager *via* une voie différente et revenir en zone I quand celle-ci sort de sa période réfractaire, induisant une réactivation de cette zone et un nouveau PA (3). L'influx peut alors se propager de la zone I à la zone II et réactiver cette dernière (4). Ces 2 zones peuvent alors se réactiver tour à tour et induire une activité de réentrée persistante. Il peut y avoir un unique circuit de réentrée (induisant ainsi une activité rapide et régulière) ou de multiples circuits (induisant alors une activité plus irrégulière, fibrillaire).

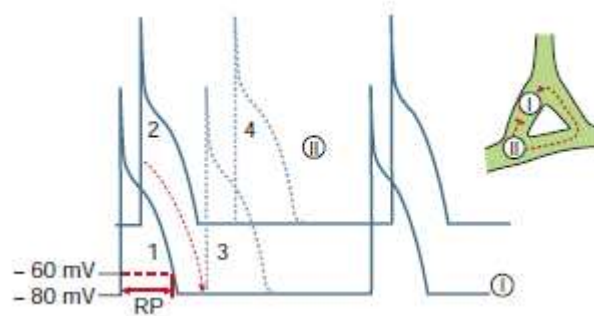


Figure 7 : Mécanisme de réentrée.

Voir le texte pour les détails (d'après Nattel, 2002).

La période réfractaire et la vitesse de conduction sont les 2 variables déterminantes de ce mécanisme de réentrée. Ainsi une période réfractaire raccourcie couplée ou une vitesse de conduction lente (ou les 2) favoriseront ce mécanisme et l'induction ou le maintien d'une FA.

La vitesse de conduction peut être diminuée par (Figure 8) :

- Une diminution de l'expression du canal ou de la conductance sodique rapide.

- Une diminution de l'expression des connexines. Ces protéines sont responsables de la communication intercellulaire.

La période réfractaire peut être raccourcie par (Figure 8) :

- Une augmentation des conductances entrantes durant la phase 2 du PA (I_{CaL}).
- Une diminution des conductances sortantes durant les phases 2 et 3 du PA (I_{Kur} , I_{Kr} , I_{Ks}).

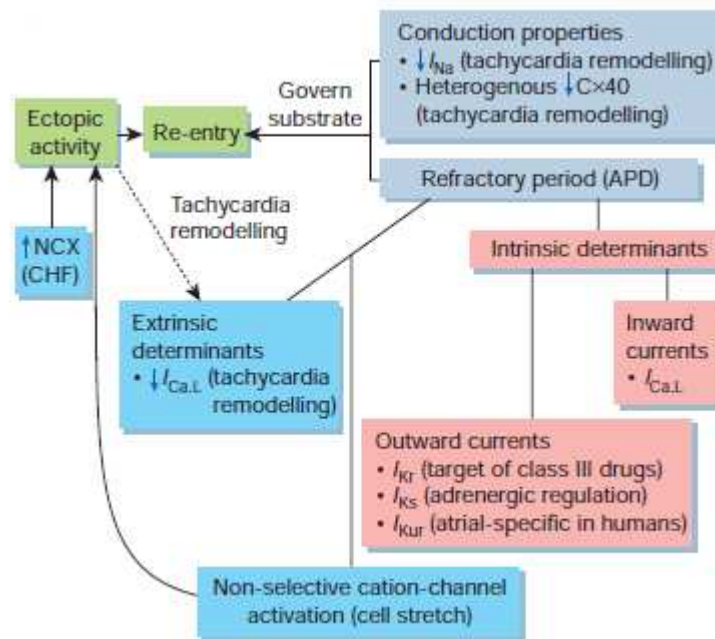


Figure 8 : Mécanismes impliqués dans le phénomène de réentrée.

(d'après Nattel, 2002).

Une fibrose du tissu auriculaire peut stabiliser ce phénomène de réentrée en créant des barrières de conduction, induisant ainsi une FA sans modifier la longueur d'onde (Li *et al.*, 1999).

1.5. « Atrial Fibrillation Begets Atrial Fibrillation » (Wijffels *et al.*, 1995)

La FA entretient la FA ou comment, par un mécanisme de remodelage, le tissu auriculaire permet le maintien de l'arythmie ?

Le remodelage correspond aux changements structuraux et/ou fonctionnels qui permettent l'arythmogénèse ou le maintien de l'arythmie. En d'autres termes, le remodelage permet de mettre en place un substrat adéquat pour la FA. Il existe 2 formes principales de remodelage :

- Le remodelage électrique.
- Le remodelage structural.

1.5.1. Le Remodelage Electrique

Il est également appelé « remodelage induit la tachycardie ». C'est le premier à se mettre en place. Wijffels et collaborateurs ont été les premiers à le mettre en évidence sur un modèle de FA artificielle chez la chèvre (Wijffels *et al.*, 1995). Dans cette étude, ils ont mis en évidence qu'une stimulation rapide et soutenue de l'oreillette induit une diminution de la période réfractaire effective (PRE), ce qui entraîne une diminution de l'intervalle de temps entre 2 épisodes de FA (diminution de la longueur d'onde).

Le premier stimulus de ce phénomène de remodelage est le rythme rapide de l'oreillette (environ 10 fois supérieur à la normale). Ce rythme très rapide induit une surcharge calcique intracellulaire. Ce Ca^{2+} en excès étant toxique pour la cellule, celle-ci va faire en sorte d'en diminuer ses apports. Pour cela, à court terme, elle va augmenter l'inactivation des canaux calciques de type L (Ramirez *et al.*, 2000). Ceci va induire une diminution de l'entrée de Ca^{2+} au cours du PA. Ensuite, afin de se protéger à plus long terme, l'expression des transcrits de ces canaux calciques sera diminuée, s'accompagnant d'une réduction du courant ionique généré et d'une dysfonction contractile (Yue *et al.*, 1999). Parallèlement, d'autres mécanismes sont mis en place afin restreindre l'entrée de Ca^{2+} au cours du PA :

- Une diminution du courant I_{to} (Yue *et al.*, 1997 ; Yue *et al.*, 1999).
- Une augmentation des courants potassiques rectifiants entrants : I_{K1} (Cha *et al.*, 2004) et I_{KAch} (Ehrlich *et al.*, 2004). Ceci permettant de réduire l'APD.
- Une diminution du courant I_{Na} (Gaspo *et al.*, 1997) induisant une diminution de la conduction. Cette diminution de la conduction est accentuée par une diminution de l'expression de la connexine 40 (Cx40), protéine formant le pore des jonctions gap permettant les communications intercellulaires (pou revue, Nattel, 2002).

1.5.2. Le Remodelage Structural

Comme nous l'avons vu, la diminution de la PRE est l'élément central dans le remodelage électrique. Pour ce qui est du remodelage structural, la PRE est inchangée, voire augmentée mais c'est la conduction qui est altérée par des zones de fibres du tissu

auriculaire. Cette fibrose peut alors engendrer des circuits de réentrée locaux permettant l'initiation et/ou le maintien de la FA (Shiroshita-Takeshita *et al.*, 2005).

D'un point de vue ionique, la réduction de I_{CaL} , toujours présente, est contrebalancée par une augmentation de I_{to} et I_{Ks} (Li *et al.*, 2000). C'est pourquoi l'APD n'est pas modifiée voire augmentée. De plus, les circuits de réentrée peuvent être engendrés par une DAD provoquée par une augmentation du courant de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} (I_{NCX} ; Figure 9).

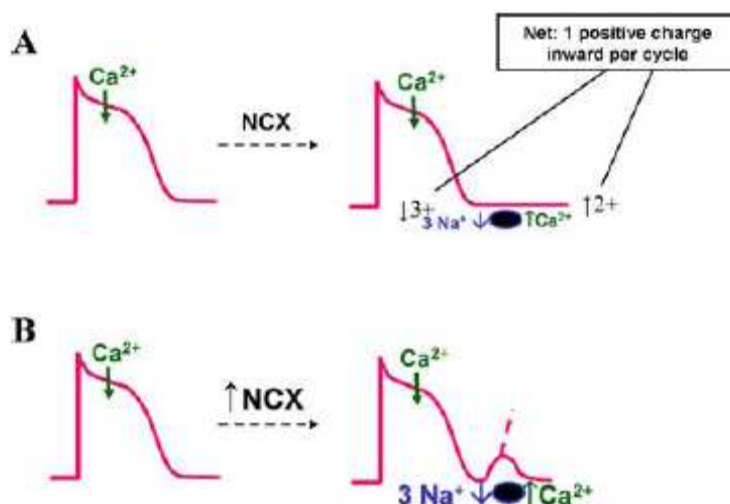


Figure 9 : Induction de DAD dans le remodelage structural lors de la FA.

A : activité normale de l'échangeur en conditions physiologiques. B : activité augmentée de l'échangeur en conditions de remodelage structural au cours de la FA (d'après Shiroshita-Takeshita *et al.*, 2005).

Au cours de ce phénomène de remodelage structural, la concentration auriculaire d'angiotensine II (AngII) est augmentée. Cette molécule est capable d'activer la voie des MAPK (« Mitogen-Activated Protein Kinase »), les protéines ERK (« Extracellular signal-Related Kinase »), la protéine kinase p38 ainsi que la protéine JNK (« N-terminal-c-Jun Kinase » ; Li *et al.*, 2001 ; Cardin *et al.*, 2003). Ces 4 types de protéines sont tous impliqués dans les mécanismes de l'apoptose (mort cellulaire). Cette augmentation d'AngII induit donc une augmentation de l'apoptose et donc de fibrose. De plus, il a été montré chez des souris mutantes qu'un taux élevé de TGF β 1 induisait une fibrose auriculaire (Hanna *et al.*, 2004 ; Verheule *et al.*, 2004). Le TGF β 1 semble donc également impliqué dans ce remodelage. Enfin, d'autres protéines de la matrice extracellulaire (comme des métalloprotéases et leurs inhibiteurs) semble altérées au cours de ce remodelage structural (Boixel *et al.*, 2003 ; Khan, 2004).

La Figure 10 résume les phénomènes impliqués dans la genèse et le maintien de la FA que nous avons décrits dans ce paragraphe consacré à la physiopathologie de cette arythmie.

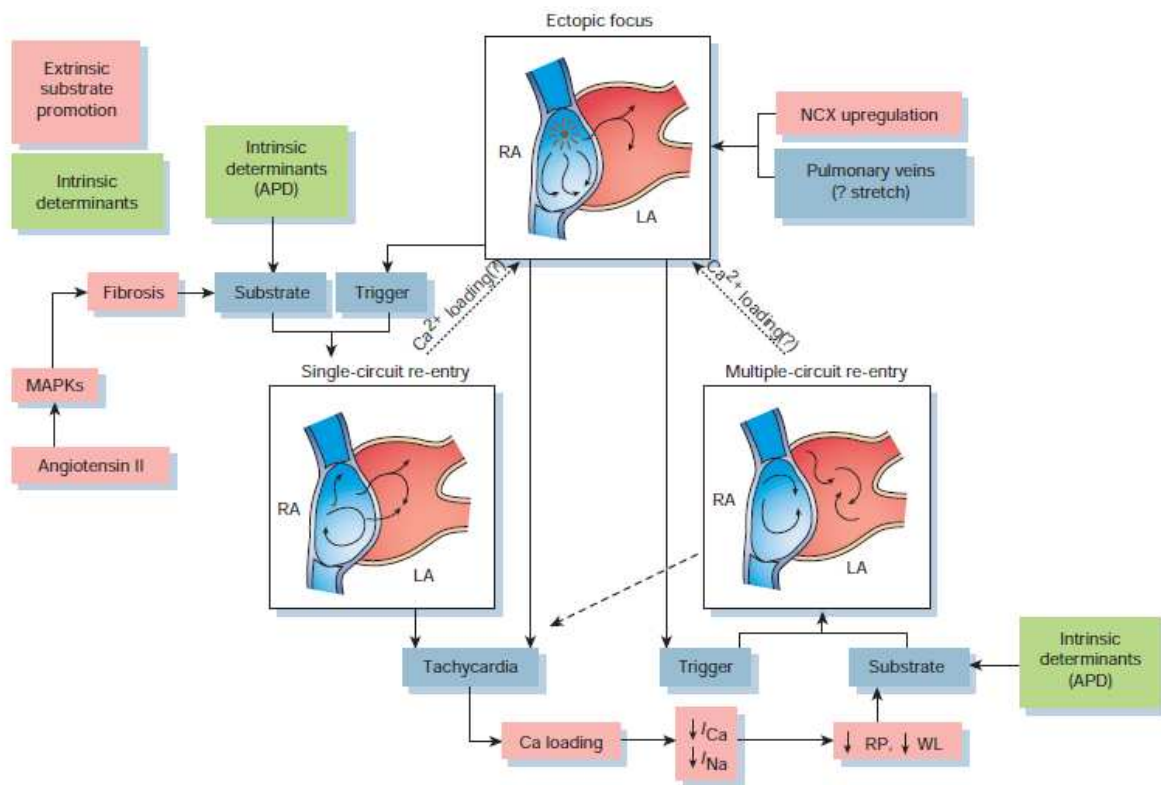


Figure 10 : Phénomènes impliqués dans la genèse et le maintien de la FA.

APD : durée du PA ; NCX : échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$; RP : période réfractaire ; WL : longueur d'onde ; RA : oreillette droite ; LA : oreillette gauche (d'après Nattel, 2002).

1.6. Complications

La FA est à l'origine d'importantes mortalité et morbidité cardiovasculaires. Au cours de la célèbre étude de Framingham (du nom d'une ville du Massachusetts dans laquelle les habitants ont été inclus dans une grande étude sur les facteurs de risque cardiovasculaires depuis 1948), Benjamin et collaborateurs ont montré que la FA multipliait par 1.5 à 1.9 le risque de décès (Benjamin *et al.*, 1998).

Outre la mortalité associée, la FA engendre une très forte morbidité cardiovasculaire. Elle multiplie par 2 le risque de démence vasculaire ou dégénérative (maladie d'Alzheimer par exemple) du fait d'infarctus silencieux et/ou d'hypoperfusion cérébrale (Ott *et al.*, 1997).

La FA permanente induit une décompensation cardiaque gauche à cause de l'altération de la fonction diastolique gauche, avec pour conséquence l'installation d'une insuffisance cardiaque (Gentric, 2005).

La FA engendre une dysfonction auriculaire. Comme l'oreillette ne remplit plus son rôle contractile, il se développe une stase sanguine qui va induire la formation d'un thrombus.

Si celui-ci est éjecté dans la circulation, il peut se créer un accident thrombo-embolique. La FA augmente fortement le risque d'accidents vasculaires et notamment cérébraux (multiplié par 5 ; (Wolf *et al.*, 1991). De plus, cette augmentation du risque d'accident vasculaire cérébrale n'est pas diminué avec l'âge, contrairement aux autres cardiopathies (l'hypertension artérielle, l'infarctus du myocarde et l'insuffisance cardiaque). Encore un dernier chiffre : 15 % des accidents vasculaires cérébraux sont directement imputables à une FA aux Etats-Unis (Nattel et Opie, 2006).

1.7. Traitement

Pour traiter efficacement la FA, il est nécessaire de s'attaquer aux causes mais également aux conséquences qu'elle engendre (notamment le risque d'accident vasculaire). Pour cela, 2 alternatives se présentent au médecin :

- Réduire la FA (contrôler le rythme) : « forcer » le cœur à revenir en rythme sinusal au moyen d'une cardioversion pharmacologique ou électrique.
- Ralentir (et contrôler) la fréquence cardiaque : utilisation d'antiarythmiques associés à un traitement anticoagulant.

Si l'arythmie n'est pas corrigée par ces différents traitements, il est alors possible de réaliser une ablation (chirurgicale ou endocavitaire) de la FA.

1.7.1. Le Contrôle du Rythme : la Cardioversion

La cardioversion (ou restauration du rythme sinusal) peut être pharmacologique ou électrique.

La cardioversion pharmacologique ne doit être effectuée que lorsque la FA est d'installation récente (généralement < 48 heures). Elle est donc principalement (voire exclusivement) effectuée dans les cas de FA paroxystique. Pour restaurer le rythme sinusal, en l'absence de cardiopathie sous-jacente, un antiarythmique de classe Ic (la flécaïne par exemple) est indiqué en première intention. Cette classe d'antiarythmiques n'est indiquée qu'en absence de cardiopathie sous-jacente du fait de leur risque élevé d'accident hémorragique. En cas d'échec ou de présence d'une cardiopathie sous-jacente, ce sont l'amiodarone (antiarythmique de classe III), et ses dérivés (comme la dronédarone qui ne présente pas d'effets thyroïdiens secondaires) qui sont indiqués (seuls ou en association avec un antiarythmique de classe I).

La cardioversion électrique dans les cas de FA paroxystiques et persistantes. Elle consiste en un choc électrique externe ou interne permettant de rétablir le rythme sinusal. Elle

se pratique sous anesthésie générale. Le changement de rythme étant un moment particulièrement favorable aux embolies, il est indispensable de procéder à un traitement anticoagulant pendant 3 à 4 semaines avant la cardioversion, sauf dans 2 contextes particuliers :

- Un trouble du rythme débuté depuis moins de 48 heures (risque embolique estimé à moins de 0.5 %).
- La certitude de l'absence de thrombus dans l'oreillette (à l'échographie transoesophagienne).

Après la réduction, il est nécessaire de poursuivre le traitement anticoagulant pendant 4 semaines afin de prévenir tout accident thrombo-embolique.

Pour prévenir les récurrences (assez fréquentes), il peut être prescrit un traitement antiarythmique (l'amiodarone le plus souvent).

1.7.2. Le Contrôle de la Fréquence Cardiaque

Le contrôle de la fréquence cardiaque s'effectue quand la FA est permanente ou lorsque la cardioversion a échoué ou qu'elle n'est pas indiquée (peu de probabilité de maintenir le rythme sinusal). Le but est de maintenir une fréquence moyenne inférieure à 80 battements par minute.

Le traitement utilisé pour contrôler la fréquence cardiaque consiste à associer une antiarythmique et un anticoagulant. Les antiarythmiques utilisés sont les β -bloquants (antiarythmiques de classe II ; métoprolol, propranolol,...), les inhibiteurs calciques bradycardisants (antiarythmiques de classe IV ; diltiazem, vérapamil) et la digoxine. En ce qui concerne le traitement anticoagulant, les anti-vitamine K (AVK) sont le plus couramment utilisés (l'aspirine est rarement utilisée du fait d'une absence d'effet chez les patients de plus de 75 ans notamment). Ce traitement est évidemment prescrit à vie au patient.

1.7.3. L'Ablation de la FA

Elle peut être chirurgicale (technique Maze notamment) ou endocavitaire (ablation par radiofréquence ou cryoablation).

Les objectifs de l'ablation chirurgicale sont d'éliminer l'arythmie, maintenir la fonction sinusale et la conduction auriculo-ventriculaire et restaurer la contraction atriale. Cox et collaborateurs ont mis au point la technique MAZE qui consiste à diminuer la masse critique du substrat de l'arythmie en diminuant le volume des oreillettes et en isolant les structures sensibles, comme les veines pulmonaires (Cox *et al.*, 1991). Cette opération offre

environ 80 % de succès (retour à un rythme sinusal) mais est très lourde et invasive puisqu'elle nécessite de recourir à une sternotomie. Néanmoins, elle est indiquée principalement chez des patients en FA permanente lorsque les autres thérapeutiques disponibles ont échoué.

L'ablation endocavitaire quant à elle est nettement moins invasive puisqu'elle consiste à introduire un cathéter par voie veineuse et à isoler électriquement les foyers d'activité ectopique et/ou les circuits de réentrée par radiofréquence ou par le froid (cryoablation). Elle ne nécessite qu'une anesthésie locale et son taux de succès avoisine les 85 % dans l'équipe du Pr. Haissaguerre à Bordeaux qui l'a mise au point dans les années 1990 (Haissaguerre *et al.*, 1994). Aujourd'hui, cette intervention consiste à isoler les foyers ectopiques spontanés (extrasystoles auriculaires), les 4 veines pulmonaires, l'isthme gauche (zone reliant la valve mitrale et la veine pulmonaire gauche), l'isthme cavo-tricuspide (entre la veine cave supérieure et la valve tricuspide) et d'éventuels foyers ectopiques extra-pulmonaires (veine cave supérieure, sinus coronaire,...). Cette procédure est résumée dans la Figure 11. L'ablation endocavitaire est indiquée en deuxième intention principalement chez des patients en FA paroxystique ou persistante avec un risque de récurrence notable.

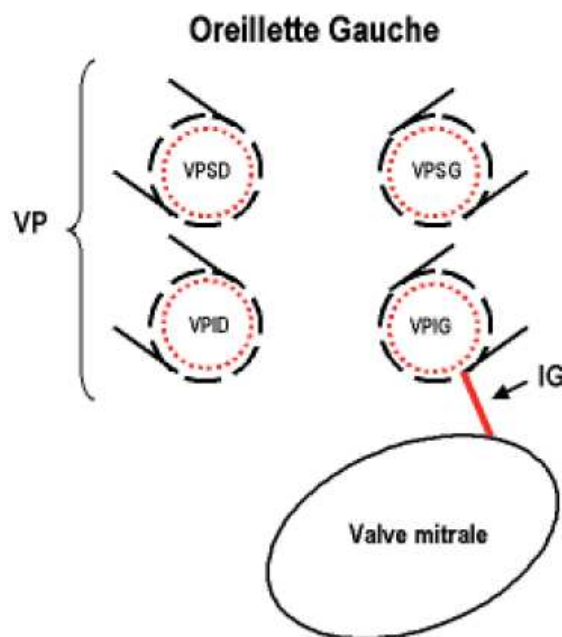


Figure 11 : Procédure d'ablation de FA réalisée par l'équipe du Pr. Haissaguerre.

La déconnexion des 4 veines pulmonaires (VPSD/SG : veine pulmonaire supérieure droite/supérieure gauche ; VPID/IG : veine pulmonaire inférieure droite/inférieure gauche) est représentée par des cercles rouges. L'ablation de l'isthme gauche (IG) est symbolisée par un trait rouge entre la VPIG et la valve mitrale. L'ablation de l'isthme droit n'est pas représentée (d'après Scavée *et al.*, 2004).

En conclusion, la fibrillation auriculaire est le trouble du rythme le plus fréquemment rencontré dans la pratique cardiologique. Elle induit une mortalité et une morbidité très importantes et est aujourd'hui un véritable problème de santé publique. Les traitements pharmacologiques sont symptomatologiques (contrôler le rythme ou la fréquence cardiaque et empêcher les accidents thrombo-emboliques). Il existe des traitements curatifs (ablation chirurgicale ou endocavitaire) qui permettent d'isoler électriquement les substrats de la FA. Ceux-ci sont assez lourds et invasifs et n'évitent pas toujours les récurrences. Actuellement, il n'existe aucun traitement pharmacologique visant les substrats de la FA : réentrée ou foyers ectopiques des veines thoraciques.

2. Les Veines Thoraciques et leur Implication dans la FA

Contrairement aux autres veines de l'organisme, les veines thoraciques possèdent dans leur structure un manchon de cardiomyocytes en continuité avec le tissu atrial. C'est le cas pour les veines pulmonaires (VP ; Haissaguerre *et al.*, 1998), la veine cave supérieure (VCS ; Tsai *et al.*, 2000), le ligament de Marshall (LM ; vestige veineux de l'oreillette gauche ; Doshi *et al.*, 1999) et le sinus coronaire (SC ; Volkmer *et al.*, 2002). La présence de ce manchon dans la veine cave inférieure (VCI) est encore discutée aujourd'hui. Ce manchon peut être le site de foyers d'activité ectopique impliqués dans l'induction et le maintien de la FA. Le rôle d'inducteur de FA du ligament de Marshall et du sinus coronaire est anecdotique comparé à celui des VP et des VC. Ainsi, dans ce chapitre je détaillerai essentiellement ces 2 dernières et rappellerai juste les points importants concernant les 2 autres veines.

2.1. Anatomie

2.1.1. Les Veines Pulmonaires

Les VP transportent le sang oxygéné des poumons vers l'oreillette gauche (OG). Le nombre de VP et d'abouchements à l'oreillette gauche varie d'une espèce à une autre mais également au sein d'une même espèce.

Chez l'Homme, la plupart des individus possède 4 VP : les VP droites supérieure et inférieure (VPDS et VPDI, respectivement) et les VP gauches supérieure et inférieure (VPGS et VPGI, respectivement). Ces 4 veines s'abouchent à l'OG indépendamment et forment donc 4 orifices (Nathan et Eliakim, 1966). Toutefois, il arrive dans certains cas qu'une VP surnuméraire vienne s'ajouter à ces 4 veines communes, à gauche et/ou à droite. De plus, il a été montré que les VPGS et VPGI pouvaient avoir un orifice commun (Kato *et al.*, 2003).

Chez le Chien, les variations du nombre d'abouchements sont encore plus importantes que chez l'Homme. En effet, ils possèdent entre 8 et 11 orifices. La majeure partie du temps, il y a 8 abouchements de VP à l'OG : 2 pour les VPGS, 1 pour la VPGI, 3 pour les VPDS et 2 pour les VPDI (Verheule *et al.*, 2002).

Chez le Rat (notre modèle expérimental), l'anatomie des VP est un peu plus simple. En effet, le Rat possède 4 VP principales : la VP gauche (VPG), les VP droites antérieure et

postérieure (VPDA et VPDP, respectivement) et la VP postcavale (VPP). Chaque VP porte le nom du lobe pulmonaire dont elle provient. Cependant, ces 4 VP ne s'abouchent que dans 3 orifices. En effet, la VPP rejoint la VPDP avant sa jonction à l'OG. Par conséquent, seules les VPG, VPDP et VPDA s'abouchent individuellement à l'OG (Figure 12).

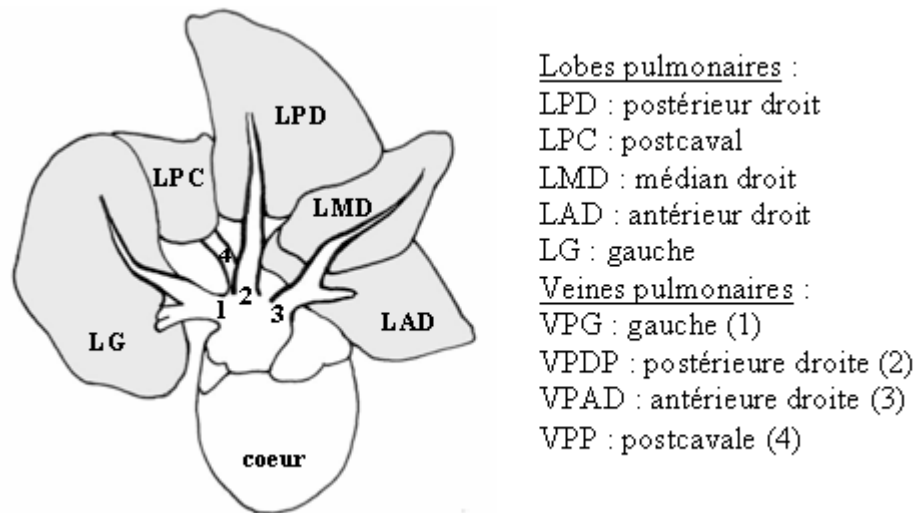


Figure 12 : Schéma représentant l'anatomie de l'ensemble cœur-poumons chez le Rat.

(modifié d'après la thèse de C. Bronquard).

2.1.2. Les Autres Veines Thoraciques

2.1.2.1. Les Veines Caves

Les veines caves (VC) transportent le sang de tout l'organisme vers l'oreillette droite (OD). Chez la plupart des espèces de mammifères, elles sont au nombre de 2 : la veine cave supérieure (VCS) qui collecte le sang de la partie haute du corps (tête et membres supérieurs principalement) et la veine cave inférieure (VCI) qui collecte le sang de la partie basse du corps (abdomen et membres inférieurs principalement). Les rongeurs et les lagomorphes (comme le Lapin) possèdent une veine cave supérieure supplémentaire : la veine cave supérieure gauche (VCSG). Celle-ci n'est présente qu'au stade embryonnaire chez la plupart des espèces de mammifères et disparaît ensuite.

2.1.2.2. Le Ligament de Marshall

Le ligament de Marshall (LM), décrit par Marshall en 1850, est un vestige des veines primitives gauches, généralement considéré comme le vestige de la VCSG embryonnaire (pour revue, Scherlag *et al.*, 1972). Il se situe à l'arrière de l'OG et permet la liaison entre le

sinus coronaire (SC) et la région de la VPGS (ou VPG chez le Rat ; Figure 13 ; Doshi *et al.*, 1999). Au niveau du SC, il est appelé veine de Marshall.

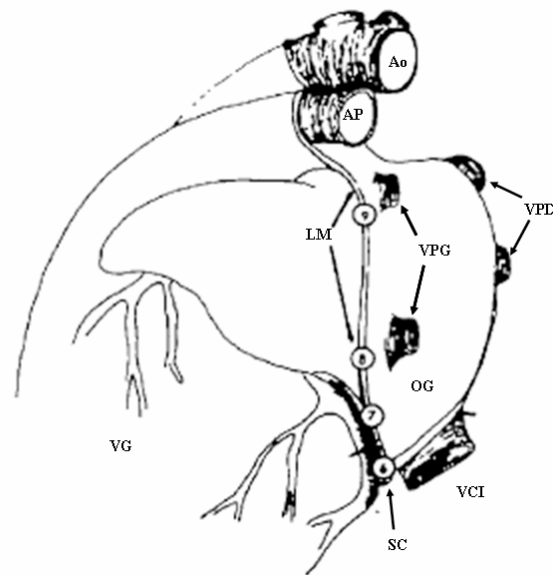


Figure 13 : Vue postéro-inférieure de l'OG montrant le ligament de Marshall chez le Chien.

Ao : aorte ; AP : artère pulmonaire ; VG : ventricule gauche (modifié d'après Scherlag *et al.*, 1972).

2.1.2.3. Le Sinus Coronaire

Le sinus coronaire (SC) correspond à la dilatation terminale de la grande veine coronaire. Il collecte le sang provenant de la majorité des veines coronaires. Le SC est situé dans le sillon auriculo-ventriculaire, à la surface du cœur. Il s'abouche à l'OD entre les orifices de la valve tricuspide et de la veine cave inférieure. Il est relié à la grande veine coronaire par la valvule de Vieussens et à l'OD par la valvule de Thébésius (Figure 14 ; Lüdinghausen *et al.*, 1992).

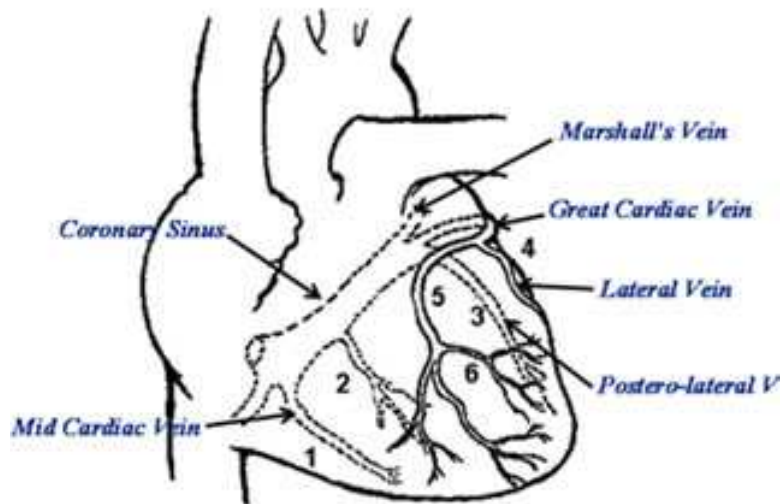


Figure 14 : Schéma du cœur montrant le sinus coronaire.

(d'après http://www.sorin-crm.com/img/Coronary_sinus_sm.jpg).

2.2. Structure Veineuse Classique

En plus de leur structure veineuse classique (composé de 3 couches : l'intima, la media et l'adventice), les veines thoraciques possèdent un manchon de cardiomyocytes qui s'insère entre la media et l'adventice.

La paroi des vaisseaux sanguins des mammifères est composée de 3 couches (ou tuniques) :

- L'intima : c'est la tunique la plus interne, en contact direct avec la lumière du vaisseau et donc avec le sang qu'il transporte. Les cellules qui la composent sont responsables de tous les échanges entre le sang et le vaisseau. L'intima est principalement composée de cellules endothéliales, c'est pourquoi on l'appelle aussi l'endothélium vasculaire. On y retrouve également une couche dite subendothéliale composée de tissu conjonctif (contenant des fibres élastiques) et de cellules musculaires lisses (CML) éparpillées (Klavins, 1963 ; Ludatscher, 1968 ; Paes de Almeida *et al.*, 1975 ; Jarkovska, 1985 ; Masani, 1986). Néanmoins, certains auteurs ne décrivent pas cette couche subendothéliale (Hashizume *et al.*, 1998 ; Ho *et al.*, 2001).
- La media : c'est la tunique responsable de la motricité du vaisseau. En effet, cette couche est composée principalement de cellules musculaires lisses dont la fonction majeure est d'assurer la constriction et la relaxation des vaisseaux. A ma connaissance, seul Klavins n'a pas retrouvé de CML dans cette tunique mais

seulement quelques-unes dans l'intima (Klavins, 1963). La plupart des auteurs décrivent la media des veines thoraciques comme une couche assez fine et dont les fibres musculaires lisses seraient plus ou moins organisées en « paquets » séparés par des fibres élastiques et de collagène (Ludatscher, 1968 ; Paes de Almeida *et al.*, 1975 ; Jarkovska, 1985). Il a également été montré que les CML forment une couche fine continue dans la partie proximale de la veine (diamètre > 100 µm) puis s'organisent en anneaux autour du vaisseau dans sa partie plus distale (diamètre < 100 µm ; Figure 15 ; Paes de Almeida *et al.*, 1975 ; Masani, 1986 ; Hashizume *et al.*, 1998). Ces anneaux formeraient ainsi des systèmes de « valve-like » permettant d'éviter les reflux dans la veine (Hashizume *et al.*, 1998). Ces anneaux sont principalement retrouvés dans les VP.

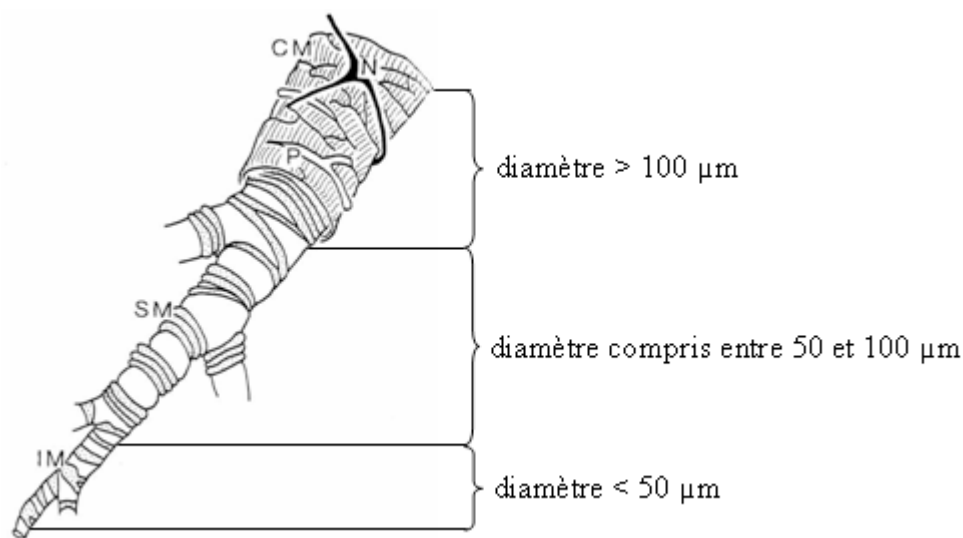


Figure 15 : Schéma de l'organisation des CML dans la paroi de la VP chez le Rat.

CM : cardiomyocytes ; N : fibres nerveuses ; P : capillaires ; SM : cellules musculaires lisses ; IM : cellules périendothéliales (cellules intermédiaires entre CML et péricytes) (d'après la thèse de C. Bronquard ; modifié d'après Hashizume *et al.*, 1998).

- L'adventice : c'est la tunique la plus externe dans la paroi du vaisseau. C'est également la plus épaisse. Elle est principalement composée de tissu conjonctif lâche avec du collagène et des fibres élastiques. On y trouve également des fibroblastes, des leucocytes et des vaisseaux principalement lymphatiques (Klavins, 1963 ; Paes de Almeida *et al.*, 1975 ; Jarkovska, 1985 ; Masani, 1986). A proximité de l'OG, des ganglions sont insérés dans cette tunique (Klavins, 1963).

Contrairement aux autres veines thoraciques, le ligament de Marshall n'est pas un vrai tissu veineux dans le sens où il ne possède pas ces 3 tuniques. En effet, il est composé de bandes fibreuses, de petits vaisseaux et de fibres nerveuses. Ce n'est que dans sa partie proche du sinus coronaire (appelée la veine de Marshall) qu'il devient une « vraie » veine. Néanmoins, il contient des cardiomyocytes dans sa paroi.

2.3. Manchon de cardiomyocytes

Dès 1857, Peaslee décrit dans les VP une couche externe de fibres musculaires striées identiques à celles composant le muscle cardiaque (pour revue, Ludatscher, 1968). Depuis, de nombreuses études structurales et histologiques ont été effectuées afin de démontrer l'existence de ce manchon de myocytes cardiaques dans les veines thoraciques (surtout les VP) chez différentes espèces comme le Rat, le Lapin, le Chien, le Chat, la Souris, le Cobaye, la Chauve-souris et l'Homme. Ce manchon est donc présent dans toutes les veines thoraciques (VP, VCS et VCI, LM, SC). Un manchon de cardiomyocytes a également été retrouvé dans la veine porte hépatique notamment chez la Souris et le Rat (Yokota et Yamauchi, 1985). Dans cette partie, nous allons tout d'abord voir l'embryologie de ce manchon. Ensuite, nous en décrirons la structure et l'histologie.

2.3.1. Origine Embryologique des Veines Thoraciques et du Manchon Myocardique

2.3.1.1. Origine Embryologique des Veines Thoraciques

L'origine embryologique des veines thoraciques apparaît assez claire sauf pour les VP. Les veines caves supérieure et inférieure sont issues respectivement de la veine cardinale supérieure droite et de la veine vitelline droite, le ligament de Marshall de la veine cardinale gauche et le sinus coronaire de la corne gauche du sinus veineux (van den Hoff *et al.*, 2004). Le sinus veineux est une structure qui se développe sur la face dorsale du cœur embryonnaire. Il se compose de 2 cornes (droite et gauche) qui se rejoignent pour former un réservoir terminal avant sa jonction à l'oreillette embryonnaire (qui n'est pas encore séparée en droite et gauche ; Figure 16). Chez les Poissons, cette structure persiste après l'éclosion et agit comme un réservoir sanguin pendant la contraction auriculaire. En revanche, chez les mammifères, il dégénère et donne donc naissance aux veines thoraciques.

En ce qui concerne les VP, la situation est un peu plus complexe. Depuis 1875 et les travaux de Goette, les VP proviendraient du sinus veineux chez tous les vertébrés hormis chez

l'Homme. En 1880, His montra chez l'Homme que les VP seraient originaires de l'oreillette embryonnaire (pour revue, Webb *et al.*, 1998). Tasaka et collaborateurs ont proposé que la VP serait originaire d'une petite évagination endothéliale provenant du sinus veineux (Tasaka *et al.*, 1996). Cependant, aujourd'hui les auteurs ne sont pas tous d'accord avec ces 2 hypothèses. En effet, parmi les travaux récents sur l'embryologie des VP, une seule étude montre encore une origine veineuse de ces veines, qui plus est chez l'Homme donc en contradiction totale avec les 2 hypothèses historiques (Blom *et al.*, 2001). Toutes les autres études, et quel que soit le modèle (Souris ou humain principalement), il apparaît que les VP seraient plutôt originaire de l'oreillette embryonnaire (ou du tube cardiaque ; (Jones *et al.*, 1994 ; Webb *et al.*, 1998 ; Millino *et al.*, 2000 ; Anderson *et al.*, 2006). Plus précisément, la branche principale des VP serait issue de l'oreillette et s'anastomoserait avec le plexus veineux pulmonaire à l'intérieur du poumon (Jones *et al.*, 1994).

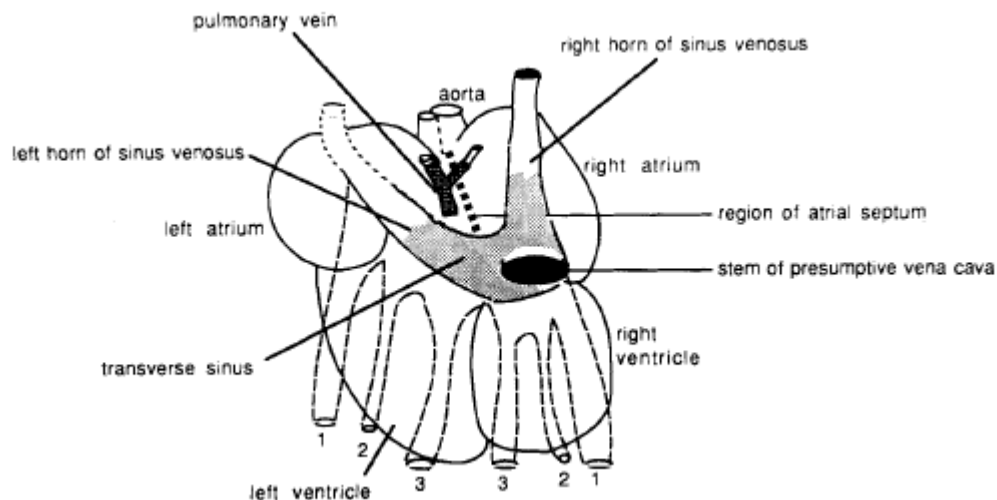


Figure 16 : Schéma du sinus veineux chez l'embryon de Souris en vue dorsale du cœur.

Les structures représentées en pointillés correspondent aux veines embryonnaires. 1 : veines cardinales ; 2 : veines ombilicales ; 3 : veines vitellines (d'après Jones *et al.*, 1994).

2.3.1.2. Origine Embryologique du Manchon Myocardique

Là encore, 2 hypothèses s'affrontent pour déterminer l'origine embryologique du manchon myocardique présent dans les veines thoraciques :

- Le myocarde veineux serait issu d'une migration de cellules atriales vers la media du vaisseau (Jones *et al.*, 1994 ; Millino *et al.*, 2000).

- Le myocarde veineux serait issu d'une différenciation des cellules du mésenchyme qui composent la structure embryonnaire du vaisseau (Kruithof *et al.*, 2003 ; Mommersteeg *et al.*, 2007).

L'origine atriale des cardiomyocytes veineux, plus ancienne, est défendue par plusieurs auteurs, notamment Millino et collaborateurs qui ont même proposé un modèle de développement des VP (Millino *et al.*, 2000 ; Figure 17). Leur étude effectuée chez la Souris a permis de montrer une contribution des cardiomyocytes et des CML à la formation de VP. Pour eux, 2 vagues de croissance cellulaire génèrent les VP. Tout d'abord, les CML et les cellules endothéliales prolifèrent et forment un réseau veineux primitif dépourvu de cardiomyocytes. Ensuite, des cardiomyocytes issus probablement de l'endocarde migrent dans le poumon et forment le manchon myocardique. De la même manière, les CML pulmonaires colonisent l'espace extra pulmonaire jusqu'à l'oreillette gauche.

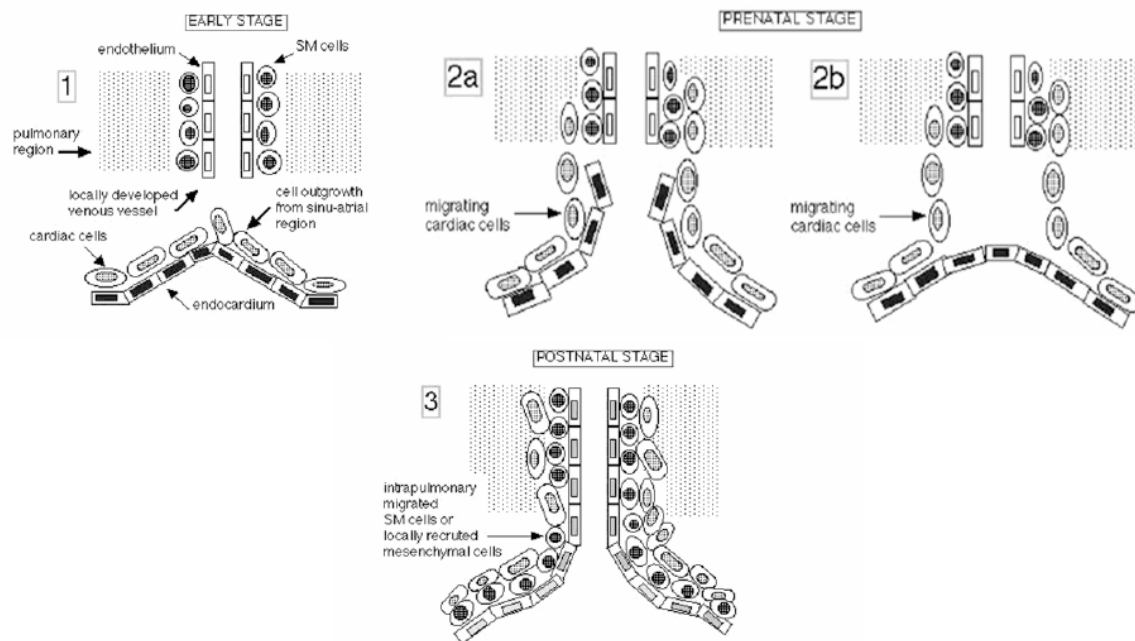


Figure 17 : Modèle du développement de la VP et du manchon myocardique.

1 : formation de la VP primitive ; 2 : migration des myocytes atriaux avec (a) ou sans (b) cellules endocardiques ; 3 : colonisation de la région extra pulmonaire par les CML de la VP ; SM cells : cellules musculaires lisses (d'après Millino *et al.*, 2000).

Cette théorie de la migration des cellules atriales vers la media des veines thoraciques semble probable au vu de la continuité entre le manchon myocardique et l'oreillette. Néanmoins, des études viennent contredire cette théorie. Kruithof et collaborateurs en 2003 et surtout Mommersteeg et collaborateurs en 2007 défendent la thèse de la différenciation de cellules du mésenchyme en myocytes plutôt qu'une migration de cellules atriales vers la

media des veines thoraciques comme principal mécanisme à l'origine de la formation du manchon myocardique de ces veines thoraciques (Kruithof *et al.*, 2003 ; Mommersteeg *et al.*, 2007).

Afin de confirmer cette hypothèse, Kruithof et collaborateurs ont étudié l'expression de l'actine α du muscle lisse (qui précède l'expression de marqueurs myocardiques pendant les premières phases de formation du tissu musculaire) dans les structures cardiaques et thoraciques d'embryons de Souris. Ils ont ainsi pu montrer que cette l'expression de cette protéine précède celle des marqueurs myocardiques dans le mésenchyme intra- et extracardiaque (notamment dans les veines caves et pulmonaires embryonnaires).

Mommersteeg et collaborateurs quant à eux ont étudiés le rôle de facteurs de transcription impliqués dans la différenciation des cellules myocardiques tels que *Pitx2c* et *Nkx2-5* dans la formation du myocarde pulmonaire. Chez des souris mutantes (n'exprimant plus le gène *Pitx2c* ou ayant une faible expression du gène *Nkx2-5*), les VP ne possèdent plus de manchon myocardique. Ce qui montre que les cellules myocardiques qui composent ce manchon sont issues d'une différenciation cellulaire. Un modèle de la formation du myocarde pulmonaire (et par extension du myocarde des veines thoraciques) a été proposé par ces auteurs (Figure 18).

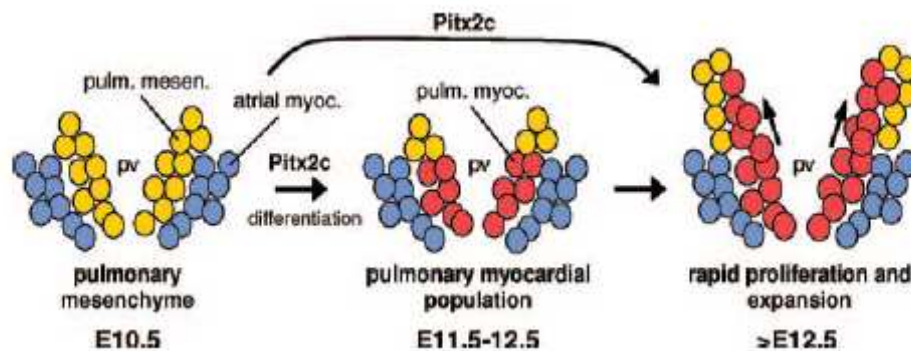


Figure 18 : Modèle de la formation du myocarde des veines pulmonaires en 2 étapes.

1^{ère} étape : *Pitx2c* induit la différenciation des cellules du mésenchyme pulmonaire en cardiomyocytes pulmonaires ; 2^{ème} étape : rapide prolifération des myocytes pulmonaires dans la media du vaisseau ; pulm. mesen. : mésenchyme pulmonaire ; atrial myoc. : myocarde atrial ; pulm. myoc. : myocarde pulmonaire ; pv : veine pulmonaire ; E10.5, E11.5, E12.5 : jours embryonnaires de la souris (d'après Mommersteeg *et al.*, 2007).

2.3.2. Ultrastructure et Histologie

Le manchon myocardique présent dans la paroi des veines thoraciques est composé de plusieurs couches (en position proximale) de fibres myocardiques qui possèdent des

orientations différentes. Paes de Almeida et collaborateurs rapportent dans leur étude structurale chez le Rat que le manchon de cardiomyocytes présent dans la VP est composé de 2 couches (Paes de Almeida *et al.*, 1975) :

- Une couche externe possédant une orientation longitudinale (par rapport à l'axe de la veine).
- Une couche plus interne ressemblant à un « paquet » de cellules possédant une orientation plus circulaire. Cette couche s'étend sur une distance plus courte que la couche externe.

Ces 2 couches ont également été décrites dans les différentes études ultérieures (Jarkovska, 1985 ; Masani, 1986 ; Hashizume *et al.*, 1998 ; Ho *et al.*, 2001 ; Verheule *et al.*, 2002 ; Figure 19). Ce manchon, en continuité avec l'oreillette (droite ou gauche, dépendant de la veine considérée), est riche en terminaisons nerveuses (notamment sympathiques) et en capillaires sanguins.

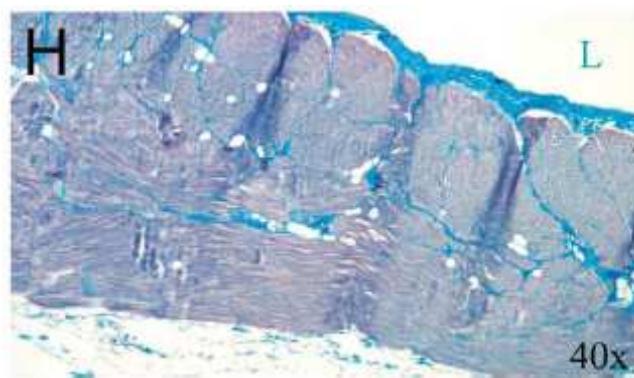


Figure 19 : Coupe longitudinale de VP chez le Chien colorée au trichrome de Masson.

Les cardiomyocytes sont colorés en violet. On peut voir la couche externe avec son orientation longitudinale et la couche interne de myocytes avec son orientation plus circulaire. L : lumière du vaisseau (d'après Verheule *et al.*, 2002).

Comme son nom l'indique, le manchon myocardique des veines thoraciques contient dans sa grande majorité des cardiomyocytes. Ces myocytes sont semblables à ceux présents dans l'oreillette. Ils possèdent de « belles striations » (Verheule *et al.*, 2002), de nombreuses mitochondries de forme plus ou moins allongées, un réticulum sarcoplasmique (RS) important et de nombreux granules de glycogène. De nombreux disques intercalaires (accompagnés de jonctions communicantes ou gap) sont présents au sein de ce manchon lui conférant un rôle de tissu de conduction (Ludatscher, 1968 ; Hashizume *et al.*, 1998 ; Verheule *et al.*, 2002).

En plus de ces cellules dites contractiles, le manchon de cardiomyocytes est également composé de cellules dites pâles (ou claires). Ces cellules sont apparentées à des cellules

nodales (cellules du nœud sinusal ; Masani, 1986). Elles possèdent un cytoplasme très clair (voir limpide !), des mitochondries rondes ou ovales et n'apparaissent pas striées. Elles apparaissent isolées ou en petits groupes et sont essentiellement présentes dans la partie intra pulmonaire du manchon. Ces cellules ont donc été retrouvé par Masani chez le Rat (Masani, 1986) mais également chez l'Homme (Perez-Lugones *et al.*, 2003). Hocini et collaborateurs ont aussi mis en évidence des cellules pâles chez le Chien mais considèrent que ce sont des artéfacts, c'est-à-dire des cellules lésées ou ischémiques (Hocini *et al.*, 2002).

Enfin, un dernier type cellulaire est décrit dans ce manchon myocardique. Il s'agit de cellules interstitielles de Cajal. Ces cellules sont responsables de l'automaticité des muscles gastro-intestinaux et ont déjà été identifiées dans le ventricule et l'oreillette (Hinescu *et al.*, 2006 ; Popescu *et al.*, 2006). Morel et collaborateurs ont montré leur présence dans les VP chez l'Homme (Morel *et al.*, 2008). De plus, dans la même étude, ils ont montré que ces cellules expriment les canaux HCN4 (*Hyperpolarization and Cyclic Nucleotide activated channel* de type 4) responsables du courant I_f leur conférant un caractère de cellules *pacemaker*.

2.4. Veines Thoraciques et Fibrillation Auriculaire

L'apparition d'un foyer d'activité ectopique ou d'une onde de réentrée est liée à différentes caractéristiques des veines thoraciques et du myocarde qu'elles contiennent :

- Le diamètre de la veine considérée.
- La longueur du manchon de cardiomyocytes.
- L'orientation des fibres myocardiques à l'intérieur de ce manchon et plus particulièrement les brusques changements d'orientation de ces fibres et l'apparition de zones non conductrices (comme des zones de fibrose).
- La capacité des cellules composant le manchon à générer un automatisme anormal.

Ce dernier point fera l'objet d'un chapitre à part entière (voir 2.5.).

2.4.1. Diamètre des veines thoraciques

Le diamètre des veines thoraciques joue essentiellement un rôle au niveau des VP. Lin et collaborateurs ont montré que le diamètre de l'orifice des VP est plus grand chez les patients en FA (provenant d'un foyer ectopique situé dans une VP) comparé à des patients en

rythme sinusal (Lin *et al.*, 2000). De plus, ils ont montré une dilatation des VPS chez les patients en FA alors que le diamètre des VPI ne semble pas modifié.

2.4.2. Longueur du manchon de cardiomyocytes

D'une manière générale, le manchon de cardiomyocytes semble plus important et beaucoup mieux décrit dans les veines pulmonaires que dans les autres veines thoraciques. On peut établir une corrélation entre la longueur (et l'épaisseur) de ce manchon et l'apparition d'une activité ectopique à l'origine de la FA. En effet, 94 % des foyers ectopiques à l'origine de FA se situent dans les VP (Figure 20 ; Haissaguerre *et al.*, 1998). Les 6 % restants sont principalement retrouvés dans la veine cave supérieure (Tsai *et al.*, 2000). La veine cave inférieure, le sinus coronaire et le ligament de Marshall sont des sites marginaux d'activité ectopique à l'origine de FA.

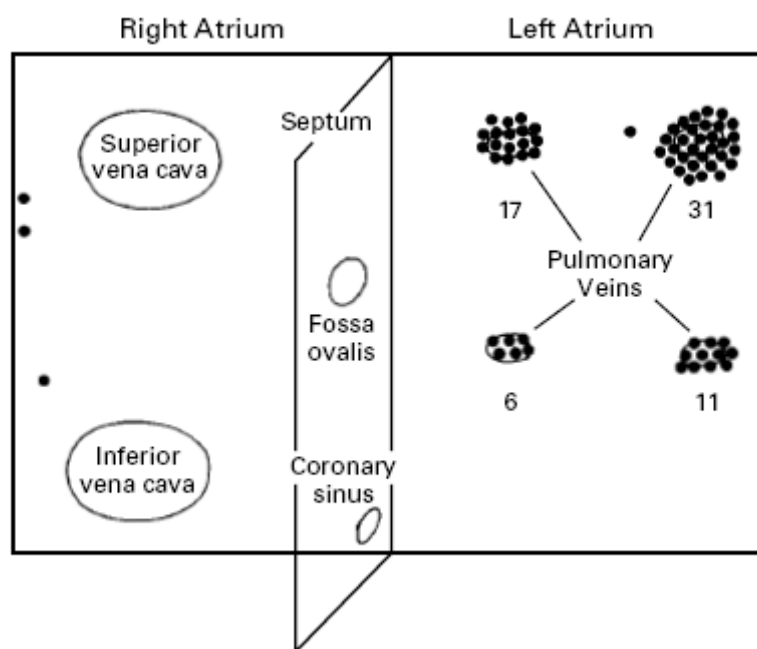


Figure 20 : Répartition des foyers d'activité ectopique à l'origine d'une FA.

Les foyers se concentrent essentiellement dans les VP et plus particulièrement les VPS. Les nombres représentent la distribution des foyers dans les VP (d'après Haissaguerre *et al.*, 1998).

Au niveau des VP, le manchon de cardiomyocytes s'étend généralement jusqu'au niveau intra pulmonaire. Le Cobaye est la seule espèce qui possède un manchon de cardiomyocytes confiné à la partie extra pulmonaire. La longueur du manchon varie en fonction de la veine considérée. Ainsi, il semble qu'il serait plus long dans les VPS et notamment la VPSG (Nathan et Eliakim, 1966 ; Saito *et al.*, 2000 ; Ho *et al.*, 2001 ; Verheule

et al., 2002 ; Hassink *et al.*, 2003). Jaïs et collaborateurs ont montré que la majorité des foyers ectopiques à l'origine de FA étaient retrouvés dans les VPS (Jais *et al.*, 1997).

En ce qui concerne les VC, le manchon de cardiomyocytes apparaît clairement plus long dans la VCS comparé à la VCI (Sola *et al.*, 1990 ; Hashizume *et al.*, 1995). Certaines études montrent même une VCI dépourvue de cardiomyocytes ou en possédant très peu (Nathan et Gloobe, 1970 ; Asirvatham, 2004). A ma connaissance, une seule étude montre une activité ectopique origine de la VCI (Mansour *et al.*, 2002). Dans cette étude, les auteurs rapportent qu'il y a 2 cas d'activité ectopique dans la VCI pour 100 cas retrouvés dans les VP.

2.4.3. Orientation des fibres myocardiques composant le manchon

Le manchon de cardiomyocytes est constitué d'au moins 2 couches de fibres myocardiques organisées selon différentes orientations : une couche externe possédant une orientation longitudinale et une couche interne possédant une orientation circulaire ou en spirale. Un brusque changement d'orientation entre 2 fibres musculaires pourrait favoriser le phénomène de réentrée ou provoquer un bloc de conduction entre 2 cellules, obligeant l'onde de dépolarisation à changer de voie de conduction et favorisant ainsi un possible mécanisme de réentrée.

L'apparition de la FA est favorisée par l'âge. Avec l'âge, une fibrose du tissu myocardique s'installe dans le manchon myocardique des veines thoraciques (Ho *et al.*, 2001). Cette fibrose pourrait permettre d'accentuer ce phénomène de réentrée toujours en créant des zones non conductrices au sein du manchon. Enfin, il a été montré que la dilatation et l'étirement pouvaient favoriser ce mécanisme de réentrée (Ho *et al.*, 2001).

2.5. Electrophysiologie et automatisme des veines thoraciques

Nous avons vu dans la première partie consacrée à la FA que celle-ci pouvait être due à :

- Un automatisme anormal ou une activité automatique ectopique impliquant principalement les courants I_f , I_{NCX} et I_{K1} .
- Une activité déclenchée (EAD et DAD) en relation avec la durée du PA impliquant notamment les courants potassiques repolarisants (I_{Kr} et I_{Ks}), le calcium sous toutes ses formes (*via* l'échangeur sodium/calcium, la canal calcique et le récepteur à la ryanodine (RyR) responsable de la libération du calcium par le réticulum sarcoplasmique), le courant sodique retardé (I_{NaLate}) et le courant chlorure activé par le calcium ($I_{Cl(Ca)}$).

- Un mécanisme de réentrée en relation également avec la durée du PA impliquant les courants potassiques repolarisants (I_{Kur} , I_{Kr} et I_{Ks}) et le courant calcique (I_{CaL}).

Dans cette partie, nous détaillerons donc les modifications au niveau de ces paramètres électrophysiologiques pouvant conduire à une FA.

2.5.1. Les Veines Pulmonaires

Les VP ont fait l'objet de nombreuses études électrophysiologiques tant au niveau pluricellulaire que de la cellule isolée. Dès la fin du 19^{ème} siècle, Brunton et Fayrer ont montré que les VP de Chat et de Lapin étaient capables de se contracter indépendamment du cœur (Brunton et Fayrer, 1876). Cependant, 90 ans plus tard, l'étude de MacLeod et Hunter montre que les VP du Rat ne sont capables de se contracter que sous stimulation électrique (MacLeod et Hunter, 1967). Aujourd'hui encore les auteurs ne sont pas d'accord quant au caractère automatique des cardiomyocytes des VP, quelle que soit l'espèce animale considérée (Rat, Souris, Cobaye, Chien, Chat, Homme). Nous allons maintenant détailler l'électrophysiologie du manchon de cardiomyocytes des VP en trois parties :

- Le potentiel de membrane de repos (ou *Resting Membrane Potential* ou RMP).
- Le potentiel d'action (PA).
- Activité automatique ?

2.5.1.1. Le Potentiel de Membrane de Repos

Globalement, les cellules composant le manchon des VP semblent moins polarisées que les cellules atriales, notamment dans la partie distale (par rapport à l'oreillette). C'est ce que rapportent les études de Cheung sur le Cobaye (Cheung, 1981) et de Po et collaborateurs sur le Chien (Po *et al.*, 2005). Dans ces 2 études le RMP des cellules de VP est dépolarisé dans la partie distale, alors qu'il est semblable à celui des cellules atriales dans la partie proximale. Cependant il est possible que la partie proximale à laquelle ces auteurs font référence corresponde à la jonction entre la VP et l'oreillette, zone dans laquelle les cellules semblent être principalement atriales. Deux autres études montrent un RMP moins polarisé dans la VP que dans l'OG chez le Chien (Ehrlich *et al.*, 2003) et chez le Rat (Doisne *et al.*, 2009). Cependant, Miyauchi et collaborateurs n'observent aucune différence entre le RMP des cellules de VP (quelle que soit la distance à l'OG) et celui des cellules de l'OG (Miyauchi *et al.*, 2005).

Nous avons vu plus tôt (voir 1.4.1) que le potentiel de membrane de repos des cellules cardiaques était principalement maintenu par une forte conductance potassique I_{K1} . Celle-ci

est principalement sortante (donc repolarisante ou hyperpolarisante). Par conséquent, une augmentation du courant I_{K1} provoquera une hyperpolarisation alors qu'une diminution induira une dépolarisation du RMP. Dans les cardiomyocytes des VP ce courant I_{K1} est plus faible que dans les cellules atriales (Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Ehrlich *et al.*, 2003). De plus, la sous-unité Kir2.3 (une des isoformes cardiaques du canal potassique rectifiant entrant I_{K1}) est sous-exprimée dans les cellules de VP (Melnyk *et al.*, 2005). Ces différences peuvent expliquer (au moins en partie) le RMP moins polarisé des cellules composant le manchon des VP.

Que signifie un potentiel de membrane de repos moins polarisé ? D'après Ehrlich et collaborateurs, un potentiel de membrane moins polarisé dans la VP que dans l'OG favoriserait la génération de DAD. Les VP possèdent les courants ioniques I_{CaT} et I_{NCX} impliqués dans la génération de ces DAD (Chen *et al.*, 2004). Le RMP des cellules de VP se trouvant dans la zone de potentiel permettant une activation de ces courants, il est donc possible que ceux-ci puissent induire des DAD et ainsi favoriser l'apparition d'une activité automatique pouvant induire une FA.

2.5.1.2. Le Potentiel d'Action

MacLeod et Hunter enregistrèrent les premiers PA issus du manchon de cardiomyocytes des VP et n'observèrent aucune différence avec ceux enregistrés dans l'OG (MacLeod et Hunter, 1967). 15 ans plus tard, Cheung montra une hétérogénéité dans les PA de cardiomyocytes de VP suivant leur distance par rapport à l'OG (Cheung, 1981). Dans son étude chez le Cobaye, les PA enregistrés dans la partie distale de la VP étaient plus courts que dans la partie proximale et l'OG. Cette hétérogénéité est également montrée chez le Chien (Chen *et al.*, 2000 ; Miyauchi *et al.*, 2005). Ces derniers ont notamment montré que la durée du PA à 50 % de repolarisation (APD_{50}) est diminuée proportionnellement à l'éloignement à l'OG. Doisne et collaborateurs ont également observé une durée du PA à 20 % et 90 % de repolarisation (APD_{20} et APD_{90} respectivement) plus faibles dans la VP par rapport à l'OG (quelle que soit la distance à l'OG). Cependant, dans une étude menée chez le Chien, Wang et collaborateurs n'ont observé aucune hétérogénéité dans les PA enregistrés dans la VP, quelle que soit la distance à l'OG (Wang *et al.*, 2003).

La durée du PA est essentiellement régulée par des courants potassiques sortants (I_{Kr} et I_{Ks}) ainsi que par un courant entrant (I_{CaL}). Une augmentation (ou diminution) des premiers induira un raccourcissement (ou allongement) du PA. Les effets sont inverses pour le second. Melnyk et collaborateurs ont montré chez le Chien que les protéines hERG et KvLQT1 (sous-

unités principales des canaux responsables des courants I_{Kr} et I_{Ks} respectivement) sont surexprimées dans les cellules de VP par rapport aux cellules atriales (Melnik *et al.*, 2005). Cette surexpression pouvant induire une augmentation des courants correspondants comme montré toujours chez le Chien par Ehrlich et collaborateurs (Ehrlich *et al.*, 2003). De plus, il a été montré, toujours dans l'étude de Ehrlich et collaborateurs chez le Chien, que le courant calcique de type L (I_{CaL}) est moins important dans les cellules de VP par rapport aux cellules atriales (Ehrlich *et al.*, 2003). Ce point n'est pas tout à fait clair puisqu'une étude menée chez le Lapin ne montre pas cette différence (Chen *et al.*, 2002). Ceci étant conforté par une expression similaire de la sous-unité principale du canal calcique de type L ($Ca_v1.2$) dans les 2 tissus (Melnik *et al.*, 2005).

La durée du PA est donc plus courte dans la VP que dans l'OG. Cette diminution de l'APD induit une diminution de la période réfractaire effective (PRE). Ainsi, cette diminution de la PRE permettra de créer un substrat favorable au phénomène de réentrée pouvant induire une FA.

Il a également été montré que les PA enregistrés dans la partie distale des VP possèdent une amplitude ainsi qu'une vitesse maximale de dépolarisation (V_{max}) plus faibles que dans l'OG chez le Chien (Hocini *et al.*, 2002). Ce résultat a aussi été observé, là encore chez le Chien, par Ehrlich et collaborateurs mais quelle que soit la distance à l'OG (Ehrlich *et al.*, 2003).

Ces 2 paramètres du PA dépendent principalement du courant sodique rapide I_{Na} responsable de la phase 0 de dépolarisation rapide. L'intensité de ce courant est similaire dans les 2 tissus (Ehrlich *et al.*, 2003). Les différences d'amplitude et de V_{max} semblent donc n'être qu'une conséquence du RMP dépolarisé dans la VP. En effet, la dépolarisation membranaire induit une moindre disponibilité des canaux sodiques rapides. Cette disponibilité moindre se traduit par un courant I_{Na} plus petit activé par la dépolarisation et donc des V_{max} et amplitude du PA plus faibles. Ce qui n'empêche pas d'enregistrer des intensités de courant sodique rapide similaires dans des cellules isolées provenant des 2 tissus.

2.5.1.3. Activité Automatique ?

Moins de la moitié des études traitant de la physiologie des VP et de leur implication dans l'induction de FA montre une activité automatique intrinsèque des cardiomyocytes de ces veines. Celle-ci reste donc aujourd'hui controversée. Il est important de noter que tous les travaux montrant cette activité automatique intrinsèque proviennent du laboratoire de S.A. Chen à Taïwan.

Une étude récente fait la synthèse des différents travaux menés sur les VP dans différentes espèces animales au niveau de l'incidence d'une activité automatique (Tableau I ; Luk *et al.*, 2008).

Espèce	Nombre d'études	Activité automatique observée
Chien	15	13 %
Rat	5	0 %
Lapin	16	87 %

Tableau I : Incidence d'activité automatique intrinsèque dans la VP.

(d'après Luk *et al.*, 2008)

La question d'une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP dépend de l'espèce considérée.

Tout d'abord, chez le Chien, 2 études (sur un total de 15) montrent une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP. Dans ces 2 études, le taux de cellules automatiques varie entre 40 et 70 %.

Chez le Lapin, la grande majorité des études montre une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP où le taux de cellules automatiques varie entre 20 et 80 %. Dans tous les cas, les PA automatiques enregistrés présentent une phase 4 de dépolarisation lente diastolique suggérant l'activation de courants tels que I_f ou I_{NCX} (Chen *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2006 ; Wongcharoen *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2007 ; Lo *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2008 ; Chang *et al.*, 2008).

Chez le Rat, aucune activité automatique n'a été observée. De plus, l'existence de facteurs favorisant une quelconque activité automatique tels que la présence du courant I_f ou encore une activité augmentée de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} n'a jamais été montrée.

La présence d'un courant considéré comme étant le courant I_f est dans les cellules automatiques de VP pourrait expliquer (au moins en partie) cet automatisme. Néanmoins, ce courant est également enregistré dans des cellules dépourvues d'activité automatique (Chen *et al.*, 2001). Cette contradiction permet d'émettre quelques réserves au sujet de l'implication de ce courant dans l'automatisme présumé des cardiomyocytes de VP.

L'homéostasie calcique est impliquée dans l'automatisme cardiaque et la survenue d'une activité déclenchée. Cette homéostasie calcique fait intervenir l'échangeur Na^+/Ca^{2+} , les

canaux calciques de types T et L, ainsi que la charge calcique du RS, les récepteurs à la ryanodine (RyR ; présents à la membrane du RS et responsables de la sortie du Ca^{2+}) et la pompe calcique ATPase du RS (SERCA ; responsable de la recapture du Ca^{2+}). L'inhibition du courant généré par l'échangeur (I_{NCX}) induit une diminution de la fréquence de l'activité automatique, de l'incidence des DAD, des courants transitoires entrants, des transitoires calciques et du contenu calcique du RS des cardiomyocytes issus des VP (Wongcharoen *et al.*, 2006). De plus, l'augmentation des transitoires et des *sparks* calciques, ainsi que de la charge calcique du RS semble impliquée dans l'activité spontanée des cardiomyocytes de VP (Chang *et al.*, 2008). Enfin, l'utilisation du K201, qui diminue les courants I_{CaL} , I_{NCX} , I_{Li} (impliqué dans la survenue de DAD) et les transitoires calciques, induit une diminution de l'activité arythmogénique des cardiomyocytes de VP (Chen *et al.*, 2008). Néanmoins, une autre étude menée chez le Lapin montre une expression plus faible de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ et une charge calcique moindre du RS dans les cardiomyocytes de VP (Jones *et al.*, 2008). Ces 2 différences prédisposeraient ces cellules à une surcharge calcique lorsque le rythme cardiaque est élevé. Cette surcharge calcique induirait des DAD générant une activité déclenchée. De plus, ces auteurs n'ont observé qu'environ 2 % de cellules de VP automatiques. Ces résultats montrent un rôle du Ca^{2+} dans l'activité automatique et l'activité déclenchée observée dans certaines cellules de VP.

Le courant calcique de type T peut être impliqué dans la genèse d'un automatisme ou d'une activité déclenchée. L'inhibition partielle de ce courant induit une diminution de l'activité automatique, de l'amplitude des DAD et une inhibition des courants entrants transitoires observés dans certaines cellules musculaires striées de VP (Chen *et al.*, 2004). Néanmoins, ce courant est également enregistré dans d'autres cellules dépourvues d'activité automatique intrinsèque. Cette contradiction permet d'émettre quelques réserves au sujet de l'implication de ce courant dans l'automatisme présumé des cardiomyocytes de VP, au même titre que pour le courant I_{f} .

Nous avons décrit plus tôt que le diamètre des veines est un facteur important dans la génération d'une activité à l'origine de la FA. Les cardiomyocytes des VP de Lapin possèdent des canaux ioniques sensibles à l'étirement (SAC ou *Stretch-Activated Channels*). Cet étirement peut être une conséquence d'une dilatation de la VP considérée (notamment suite à une dilatation auriculaire). Ces canaux génèrent un courant entrant, donc dépolarisant. Ce courant peut alors induire une activité ectopique pouvant déclencher une FA (Seol *et al.*, 2008).

L'activité spontanée observée dans certains cardiomyocytes de VP peut être modulée par différents facteurs. Une stimulation rapide des oreillettes, l'hormone thyroïdienne, la température, l'éthanol, l'angiotensine II (AngII) et le TNF α induisent notamment une plus forte incidence des EAD et DAD ainsi qu'une augmentation de la fréquence de l'activité automatique observée (Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2007).

2.5.1.4. Activité Automatique Induite

La majorité des travaux réalisés sur les VP et plus précisément sur la physiologie des cardiomyocytes des VP montre une absence d'activité automatique intrinsèque de ces cellules. Néanmoins, une activité automatique ou déclenchée au niveau des VP peut être induite soit par une stimulation sympathique ou parasympathique, soit par une stimulation électrique à haute fréquence ou forte amplitude ou encore par une inhibition de la glycolyse.

En effet, la noradrénaline (NA ; agoniste non sélectif des récepteurs α - et β -adrénergiques ; médiateur du système nerveux sympathique) induit une activité automatique rythmique basse fréquence au niveau de la VP de Cobaye (Cheung, 1981). Chez le Rat, en revanche, la NA induit une activité automatique sur la VP mais pas sur l'OG. Cette activité apparaît en salves et est sous le contrôle d'une stimulation conjointe des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques (Maupoil *et al.*, 2007). Ceci fera l'objet d'une partie des résultats présentés dans ce travail (Doisne *et al.*, 2009).

Chez le Chien, la stimulation conjointe des neurones sympathiques et parasympathiques induit des EAD à l'origine d'une activité automatique rapide dans les VP (Patterson *et al.*, 2005). Cette activité est totalement bloquée par l'inhibition des récepteurs β_1 -adrénergiques et partiellement bloquée par l'inhibition des récepteurs muscariniques à l'acétylcholine (ACh ; médiateur du système nerveux parasympathique).

Chez le Lapin, un train de stimulation électrique à haute fréquence (3.3 Hz) induit une salve de PA spontanés. Cette activité spontanée est diminuée par une déplétion de Ca²⁺ du RS ou une inhibition de l'échangeur Na⁺/Ca²⁺ ou des canaux Cl⁻. Par contre, cette activité est augmentée par une stimulation β -adrénergique (Honjo *et al.*, 2003).

Chez le Rat, une stimulation électrique de forte amplitude induit une activité automatique rapide dans la VP et l'OG mais pas dans le ventricule. Cette activité est bloquée par l'utilisation de l'atropine (antagoniste sélectif des récepteurs muscariniques à l'ACh) mais pas par l'utilisation du propranolol (antagoniste sélectif des récepteurs β -adrénergiques). Cette

stimulation électrique permet donc la libération locale d'ACh qui induit une hyperexcitabilité du tissu concerné, VP ou OG (Miyauchi *et al.*, 2005).

Enfin, une étude menée sur des rats âgés a montré qu'une inhibition de la glycolyse peut induire l'apparition d'EAD et d'une activité déclenchée au niveau de la jonction VP-OG dégénérant en FA (Ono *et al.*, 2007). Ces EAD seraient la conséquence d'une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} .

2.5.2. Les Autres Veines Thoraciques

Les autres veines thoraciques (veines caves, ligament de Marshall et sinus coronaire) ont fait l'objet de beaucoup moins d'intérêt de la part des équipes travaillant sur la FA induite par une activité extra-cardiaque. Cependant, il existe tout de même quelques travaux concernant l'électrophysiologie et le rôle de ces structures dans l'induction de FA.

2.5.2.1. Les Veines Caves

Il est clair aujourd'hui qu'une minorité de foyers ectopiques induisant une FA sont originaires des VC (Tsai *et al.*, 2000). Cependant, très peu d'études fondamentales ont eu pour objectif de comprendre la physiologie de ces veines. Dès la fin du 19^{ème} siècle, Brunton et Fayrer observèrent une activité automatique dans les VC chez le Chat, indépendante de l'activité des cavités cardiaques (Brunton et Fayrer, 1876). Cependant, comme pour les VP, il faudra attendre presque un siècle pour qu'une autre équipe s'y intéresse à nouveau. En effet, en 1967, MacLeod et Hunter enregistrèrent les premiers PA dans les VC (MacLeod et Hunter, 1967). Ils observèrent que la VCI présentait une activité automatique qu'ils attribuèrent à la présence d'une partie du nœud sinusal (à l'origine de l'activité automatique cardiaque) dans leur prélèvement. Cependant, ces auteurs n'ont pas réussi à enregistrer le moindre PA dit *pacemaker*, c'est-à-dire présentant une phase 4 de dépolarisation lente diastolique. La VCS, quant à elle, était quiescente en dehors de toute stimulation électrique externe. A ma connaissance, une seule étude effectuée sur des cardiomyocytes isolés de Chien concerne l'électrophysiologie de la VCS (Chen *et al.*, 2002). Dans cette étude, la moitié des cellules isolées possèdent une activité automatique intrinsèque. Le RMP de ces cellules est moins polarisé que celui des cellules quiescentes. Ces cellules automatiques semblent présenter une incidence plus élevée d'EAD et de DAD. Néanmoins, un courant transitoire sortant (I_{to} impliqué dans le début de la repolarisation du PA) plus important dans les cellules automatiques semble être la seule différence électrophysiologique entre les 2 types cellulaires.

Malheureusement, aucune comparaison n'est effectuée avec un autre tissu cardiaque mieux connu comme l'oreillette droite.

Très peu d'études concernent la VCI, pour les bonnes raisons que les auteurs ne sont pas d'accord quant à la présence d'un manchon de cardiomyocytes dans cette structure et que très peu de foyers ectopiques en sont issus (environ 2 cas pour 100 cas dans les VP). A ma connaissance, une seule étude rapporte un cas de FA induite par un foyer ectopique localisé dans la VCI (Mansour *et al.*, 2002) mais aucune étude fondamentale concernant l'électrophysiologie de cette veine n'a été menée.

2.5.2.2. Le Sinus Coronaire

En 1907, Erlanger et Blackman ont montré que la zone située autour de l'orifice du SC chez le Lapin possède un « haut degré de rythmicité » (pour revue, Wit et Cranefield, 1977). Le sinus coronaire a été l'objet d'étude dans les années 1970 à 1980, notamment chez le Chien. Les cellules quiescentes du SC (non stimulées) possèdent un RMP moins polarisé que celui des cellules atriales (Boyden *et al.*, 1983). Cette dépolarisation du RMP semble être due à une perméabilité au Na^+ accrue. La pompe $\text{ATPase Na}^+/\text{K}^+$ semble jouer un rôle dans ce RMP dépolarisé. La NA induit une forte hyperpolarisation de la membrane des cardiomyocytes du SC (Boyden *et al.*, 1983). Cette hyperpolarisation semble être due à une augmentation de la perméabilité membranaire au K^+ . La NA est capable d'induire l'apparition de DAD qui peuvent générer une activité déclenchée dans les fibres musculaires striées du SC (Wit et Cranefield, 1977). Cette activité est bloquée par le vérapamil (bloqueur sélectif des canaux calciques de type L) et l'ACh. A ma connaissance, aucune étude n'a encore été effectuée sur des cellules isolées du SC.

2.5.2.3. Le Ligament de Marshall

C'est probablement le tissu le moins étudié des 4 présenté ici. De par sa situation (il relie le sinus coronaire et les VPS), il pourrait permettre de transmettre une activité électrique de la base de l'oreillette vers l'apex (et vice-versa). Le LM est riche en neurones sympathiques (Doshi *et al.*, 1999). Il pourrait donc jouer un rôle dans la FA induite par une stimulation adrénergique. Il a d'ailleurs été montré que l'isoprénaline peut augmenter l'activité spontanée observée dans les cardiomyocytes du LM (Doshi *et al.*, 1999). Néanmoins, tout comme le SC, aucune étude concernant l'électrophysiologie de cellules isolées à partir du LM n'a encore été effectuée.

En conclusion, les veines thoraciques diffèrent des autres veines de l'organisme par la présence de cellules musculaires striées dans leur structure. Elles sont difficiles à étudier du fait qu'elles contiennent plusieurs types cellulaires pouvant interagir entre eux (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses et cellules musculaires striées). D'ailleurs il n'existe encore aujourd'hui quasiment aucun consensus, que ce soit à propos de l'origine embryologique des veines ou du manchon de cardiomyocytes ou encore à propos de l'électrophysiologie de ces cardiomyocytes. Cependant, il est clair que ces veines thoraciques sont impliquées dans l'induction et probablement le maintien de la FA chez l'Homme (Haissaguerre *et al.*, 1998) ; (Tsai *et al.*, 2000). En effet elles apparaissent comme un substrat propice à une activité automatique, qu'elle soit spontanée ou induite. Au laboratoire, nous avons montré que la NA peut induire une activité automatique en salves dans la VP mais pas dans l'OG (Maupoil *et al.*, 2007 ; Doisne *et al.*, 2009). Cette activité automatique nécessite la stimulation conjointe des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques. Dans la partie suivante, nous allons nous intéresser particulièrement aux récepteurs α_1 -adrénergiques : leur structure, leurs fonctions au niveau cardiaque et leur régulation.

3. Les Récepteurs α_1 -Adrénrgiques (α_1 -AR)

Comme leur nom l'indique, les ligands endogènes des récepteurs adrénrgiques sont 2 catécholamines, l'adrénaline et la noradrénaline également appelées hormones du stress. Il existe 3 types de récepteurs adrénrgiques, α_1 , α_2 et β chacun divisé en 3 sous-types. Dans ce chapitre, nous ne parlerons que des α_1 -AR. Ce sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires qui font partie de la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). L'adrénaline et la noradrénaline sont impliquées dans le contrôle des fonctions cardiaques, respiratoires et neuronales, la digestion, la dilatation de la pupille, la contraction musculaire, le métabolisme énergétique et la fonction endocrinienne (...).

3.1. Un Peu d'Histoire

L'histoire des récepteurs α -adrénrgiques commence il y a environ 70 ans. En 1937, Cannon et Rosenblueth ont montré que la stimulation des récepteurs adrénrgiques induisait des réponses excitatrices et inhibitrices (pour revue, Civantos Calzada et Aleixandre de Artinano, 2001). Ils ont alors pensé que 2 médiateurs différents (« Simpatina E » et « Simpatina I » pour les réponses excitatrices et inhibitrices respectivement) stimulaient un seul récepteur. Ce n'est que 10 ans plus tard que la notion actuelle de plusieurs récepteurs différents activés par un seul médiateur va apparaître. En utilisant des amines synthétiques analogues de l'adrénaline, Ahlquist montra qu'une même molécule possédait des fonctions différentes dépendant de l'organe cible (Ahlquist, 1948). Il en conclut donc qu'une même molécule pouvait activer différents récepteurs qu'il nomma α et β . Il fut également le premier à établir une classification de ces récepteurs basée sur leur profil pharmacologique. Les récepteurs α étaient impliqués principalement dans les fonctions excitatrices (vasoconstriction, contraction utérine et de l'urètre, dilatation de la pupille,...) et une importante fonction inhibitrice (relaxation intestinale). Les récepteurs β quant à eux étaient principalement impliqués dans les fonctions inhibitrices (vasodilatation, relaxation utérine, bronchodilatation,...) et une importante fonction excitatrice (stimulation de la fonction cardiaque).

Suite au travail d'Ahlquist, les auteurs se sont essentiellement intéressés aux récepteurs β -adrénrgiques. Il faudra attendre presque 30 ans pour voir la classification des

récepteurs α -adrénergiques modifiée. En 1974, Langer différencie les récepteurs α_1 post-synaptiques et les récepteurs α_2 pré-synaptiques (Langer, 1974). Les premiers, situés au niveau de l'organe effecteur, sont responsables de la réponse de celui-ci à une stimulation adrénergique, alors que les seconds régulent la libération de noradrénaline (NA) par le neurone catécholaminergique. Cependant, les récepteurs α_2 sont impliqués dans des mécanismes ne faisant pas intervenir de synapse (glycolyse et inhibition de la lipolyse ; (Schimmel, 1976). De plus, il existe des récepteurs post-synaptiques avec un profil d'affinité pharmacologique semblable aux récepteurs α_2 qui seraient donc présents en positions pré- et post-synaptiques. La classification de ces 2 types de récepteurs devient alors fonctionnelle (Berthelsen et Pettinger, 1977 ; Drew et Whiting, 1978).

Nous avons donc maintenant 3 types de récepteurs adrénergiques : α_1 -, α_2 - et β -adrénergiques. La croissance de l'industrie pharmaceutique et la synthèse de nouvelles molécules avec une plus forte sélectivité vont permettre une classification plus juste de ces récepteurs, basée alors sur leur profil d'affinité pharmacologique.

3.2. Caractéristiques des α_1 -AR

3.2.1. Classification

La classification des récepteurs adrénergiques, et plus particulièrement des α_1 -AR qui nous intéressent ici, est basée sur leur profil d'affinité pharmacologique. Il existe 3 sous-types d' α_1 -AR codés par 3 gènes différents : α_{1A} (codé par le gène ADRA1C), α_{1B} (ADRA1B) et α_{1D} (ADRA1D). Ces 3 sous-types diffèrent au niveau de leur structure (nombres de résidus différents) et donc aussi au niveau de leur profil pharmacologique (Tableau II).

Nomenclature	α_{1A}	α_{1B}	α_{1D}
Gène	ADRA1C	ADRA1B	ADRA1D
Chromosome	8	5q33	20p13
Nombre de résidus	466	519	572
Agoniste(s) sélectif(s)	A-61603		
	Oxymétazoline		
	WB-4101		
	KMD-3213 (+)		
Antagoniste(s) sélectif(s)	Niguldipine	AH11110A	
	5-Méthylurapidil	Chloréthylclonidine	BMY7378
	SNAP5089	Cyclazosine	SKF105854
	RS17053		
	SZL-49		

Tableau II : Caractéristiques des 3 sous-types d' α_1 -AR.

(d'après Varma et Deng, 2000 ; Civantos Calzada et Aleixandre de Artinano, 2001 ; Koshimizu *et al.*, 2003).

3.2.2. Distribution

Les α_1 -AR sont exprimés dans la plupart des tissus, notamment les différentes cavités cardiaques, dans de nombreuses espèces animales, notamment le Rat (notre modèle expérimental). En effet, des études fonctionnelles et de *binding* ont montré une expression de la protéine dans toutes les cavités cardiaques de cette espèce, alors que l'expression des transcrits (ARNm) a été montrée dans le cœur de Rat et d'Homme (Civantos Calzada et Aleixandre de Artinano, 2001 ; Myslivecek *et al.*, 2006). De plus, il semble que le sous-type α_{1B} soit plus exprimé que les autres (Myslivecek *et al.*, 2006).

Au niveau des veines pulmonaires (VP), des études fonctionnelles ont montré la présence d' α_1 -AR dans les cardiomyocytes (MacLeod et Hunter, 1967 ; Maupoil *et al.*, 2007 ; Sweeney *et al.*, 2007 ; Doisne *et al.*, 2009).

3.2.3. Structure

La structure générale d'un α_1 -AR est semblable à celle des autres RCPG. La protéine possède 7 segments hydrophobes qui s'insèrent dans la membrane (les 7 domaines

transmembranaires). Ces 7 segments sont interconnectés *via* des boucles hydrophiles (3 extracellulaires et 3 intracellulaires). La troisième boucle intracellulaire semble être impliquée dans le couplage à la protéine G (G_q ou G_{14}). L'extrémité amino-terminale (N-terminale) de la protéine est extracellulaire et possède des sites consensus de N-glycosylation. L'extrémité carboxy-terminale (C-terminale) quant à elle est intracellulaire et possède des sites de phosphorylation notamment par les protéines kinases C (PKC) et les kinases des RCPG (GRK ; Figure 21 ; Garcia-Sainz *et al.*, 1999).

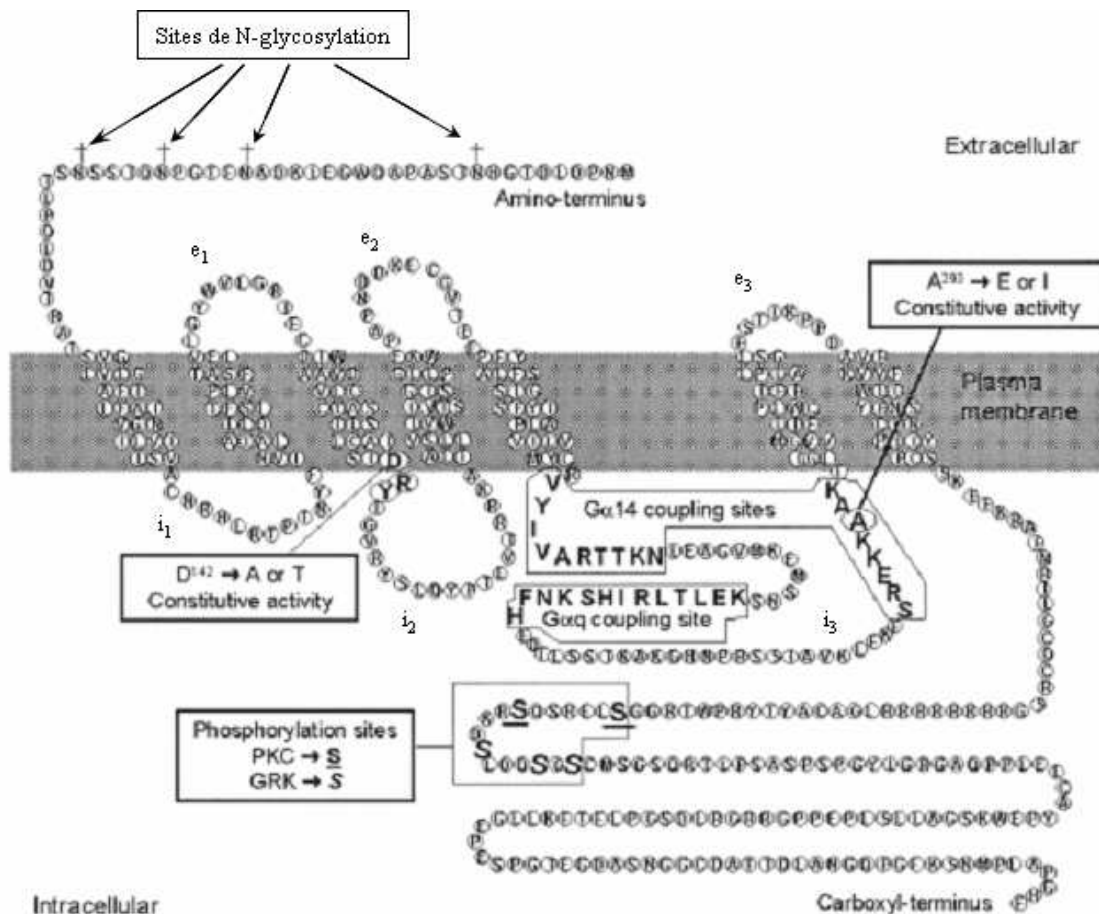


Figure 21 : Représentation schématique d'un α_1 -AR de Hamster.

Les mutations au niveau de l'aspartate 142 (D^{142} muté en alanine A ou thréonine T) ou de l'alanine 293 (A^{293} muté en glutamate E ou isoleucine I) induisent une activité constitutive du récepteur. Le motif DRY (aspartate-arginine-tyrosine) situé à la jonction du 3^{ème} domaine transmembranaire et de la 2^{ème} boucle intracellulaire est présent dans la plupart des RCPG ; e₁, e₂ et e₃ : boucles extracellulaires 1, 2 et 3 respectivement ; i₁, i₂ et i₃ : boucles intracellulaires 1, 2 et 3 respectivement (modifié d'après Garcia-Sainz *et al.*, 1999).

3.3. Voies de Signalisation α_1 -Adrénérgiques

3.3.1. La Protéine G Hétérotrimérique

Comme leur nom l'indique, le premier effecteur des RCPG est la protéine G hétérotrimérique. Elle se compose d'une sous-unité α associée à un complexe indissociable de 2 sous-unités $\beta\gamma$. La sous-unité α fixe et hydrolyse le GTP (Guanosine TriPhosphate). Afin de transmettre le signal provenant du récepteur, cette protéine G suit un cycle d'activation-inactivation (Figure 22 ; Wettschureck et Offermanns, 2005) :

- A l'état basal, les 3 sous-unités sont liées et la sous-unité α est liée à un GDP (Guanosine DiPhosphate).
- Le ligand se fixe sur son récepteur qui établit son couplage à la protéine G. la sous-unité α échange alors son GDP par un GTP grâce à un facteur d'échange des nucléotides à guanine (GEF).
- La sous-unité α -GTP se dissocie du récepteur et du complexe $\beta\gamma$. Les 2 membres de la protéine G peuvent alors transmettre le signal indépendamment l'un de l'autre.
- La sous-unité α hydrolyse son GTP en GDP grâce à un facteur d'activation de la GTPase (GAP). Elle se réassocie alors au complexe $\beta\gamma$. La protéine G hétérotrimérique est alors prête à se coupler à un autre RCPG. L'hydrolyse du GTP en GDP peut être modulée par des protéines régulatrices des protéines G (RGS).

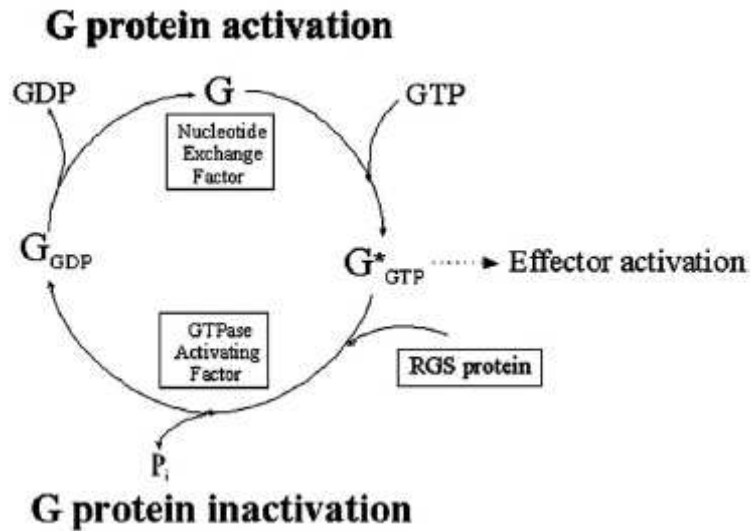


Figure 22 : Cycle d'activation-inactivation de la protéine G hétérotrimérique.

RGS : protéines régulatrices des protéines G (d'après Hollmann *et al.*, 2005).

Il existe plusieurs familles de protéines G hétérotrimériques définies en fonction de la sous-unité α qu'elles possèdent : G_{as} , G_{ai}/G_{ao} , G_{aq}/G_{a11} et G_{a12}/G_{a13} . De plus, il existe 5 sous-unités β et 12 sous-unités γ différentes (Tableau III ; Wettschureck et Offermanns, 2005 ; Milligan et Kostenis, 2006).

Famille	Principaux sous-types	Principaux effecteurs	Expression	Régulation pharmacologique
G_{as}	$G_{as(S, L, XL)}$; G_{aolf}	➦ AMPc et Canaux Maxi K	G_{as} : ubiquistes G_{aolf} : neurones olfactifs surtout	Inhibées par CTX
$G_{ai/o}$	G_{ai1-3} ; G_{ao1-2} ; G_{agust}	➦ AMPc, MAPK et ERK et canaux potassiques ➦ canaux calciques	G_{ai} : quasi ubiquistes G_{ao} : neurones, cellules neuroendocrines, cœur G_{agust} : bourgeons du goût	Inhibées par PTX
$G_{aq/11}$	G_{aq} ; G_{a11} ; G_{a15} ; G_{a16}	➦ PLC β et canaux potassiques	$G_{aq/11}$: ubiquistes $G_{a15/16}$: cellules hématopoïétiques	$G_{aq/11}$ inhibées par un depsipeptide, le YM-254890
$G_{a12/13}$	G_{a12} ; G_{a13}	➦ PLD et PLC ϵ , NHE-1 et iNOS	Ubiquistes	
$G_{\beta/\gamma}$	β_{1-5} ; γ_{1-12}	➦ PLC β , AMPc (AC II, IV et VII), PI-3K, Kir1, 2 et 4, PKD et recrutement à la membrane des RCPG ➦ AMPc (AC I) et canaux calciques de type N, P/Q et R	$\beta_1\gamma_1$, $\beta_3\gamma_8$ et $\beta_{5(L)}$: rétine β_5 : neurones et organes neuroendocrines La majorité des types cellulaires expriment plusieurs sous-types β et γ	

Tableau III : Classification des sous-types de protéines G hétérotrimériques.

AMPc : adénosine mono-phosphate cyclique ; Maxi K : canaux potassiques à large conductance ; MAPK : *mitogen-activated protein kinase* ; PLC : phospholipase C ; PLD : phospholipase D ; NHE : échangeur Na^+/H^+ ; iNOS : NO synthase inductible ; AC : adénylate cyclase ; PI-3K : phosphatidyl-inositol-3 kinase ; Kir : canaux potassiques rectifiants entrants ; PKD : protéine kinase de type D ; CTX : toxine cholérique ; PTX : toxine pertussique ; depsipeptide : peptide dans lequel une ou plusieurs liaisons amines (-CONHR-) sont remplacées par des liaisons esters (-COOR-) (d'après Milligan et Kostenis, 2006).

3.3.2. La Voie des Phosphatidyl-inositols

3.3.2.1. La Voie du Phosphatidyl-inositol-4,5-biphosphate (PIP₂)

Les α_1 -AR sont majoritairement couplés à la protéine G_{q/11} (pour revue, Terzic *et al.*, 1993 ; Varma et Deng, 2000). La sous-unité α de cette protéine G active la PLC β . Cette enzyme clive des phospholipides membranaires et plus particulièrement le PIP₂. Ce PIP₂ est clivé en 2 produits : l'inositol-1,4,5-triphosphate (IP₃) et le 1,2-diacylglycérol (DAG). L'IP₃ ainsi formé va se fixer sur ses récepteurs situés sur la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS). Cette fixation induit la libération de Ca²⁺ par le RS. Néanmoins, cette libération de Ca²⁺ n'est pas comparable à celle observée lors du « Calcium-Induced Calcium Release » (CICR) *via* les récepteurs à la ryanodine (RyR) du RS lors d'une contraction normale de la cellule myocardique. Elle ressemblerait plus à une série d'oscillations calciques intracellulaires. Ce Ca²⁺ ainsi libéré *via* les récepteurs à l'IP₃ peut néanmoins activer ce phénomène de CICR en se fixant sur des RyR adjacents. Il peut également s'ajouter à celui libéré dans le cadre du CICR et sera impliqué dans la contraction.

Le DAG quant à lui active une protéine kinase de type C (PKC). Le C de PKC signifie dépendante du Ca²⁺ et a été donné par Inoue et collaborateurs quand ils les ont identifiées pour la première fois dans le cerveau de rat (Inoue *et al.*, 1977 ; pour revue, Hofmann, 1997). Ce sont des sérine/thréonine protéines kinases. C'est-à-dire qu'elles phosphorylent spécifiquement des résidus sérine ou thréonine. Il existe 12 isoformes différentes de PKC et toutes ne sont pas dépendantes de cet ion. On distingue 3 familles de PKC :

- cPKC ou PKC conventionnelles, sont réellement dépendantes du Ca²⁺. Elles sont sensibles au Ca²⁺ au DAG et aux esters de phorbol (promoteurs tumoraux et activateurs « classiques » de ces kinases). Il existe 4 cPKC (α , β_I , β_{II} et γ).
- nPKC ou PKC nouvelles sont indépendantes du Ca²⁺ mais sensibles au DAG et aux esters de phorbol. Il existe 5 nPKC (δ , ϵ , η , θ et μ).
- aPKC ou PKC atypiques ne requièrent ni Ca²⁺, ni DAG, ni ester de phorbol pour être activées. Elles sont au nombre de 3 (λ , ι et ζ).

On peut noter que dans le cas de l'activation d'une cPKC par le DAG, le Ca²⁺ libéré du RS grâce à l'IP₃ peut participer à cette activation. Les PKC, cytosoliques à l'état basal, sont transloquées vers différents sites (membrane plasmique, RS et autres organites intracellulaires) suite à leur activation. Les principales des PKC sont :

- Le phospholemman à la membrane plasmique (Presti *et al.*, 1985 ; Talosi et Kranias, 1992). Cette protéine, qui semble être un canal chlorure (Moorman *et al.*, 1992), est activée suite à sa phosphorylation par les PKC.
- Le phospholamban (PLB) à la membrane du RS (*in vitro* ; Movsesian *et al.*, 1984 ; Iwasa et Hosey, 1984). Le PLB est une protéine régulatrice de l'activité de la pompe ATPase au Ca^{2+} du RS (SERCA). Sa phosphorylation par les PKC induirait une augmentation de l'activité de la SERCA et donc de la recapture du Ca^{2+} par le RS. Néanmoins, la stimulation des PKC sur des cœurs isolés de cobaye (pour revue, Puceat et Vassort, 1996) ou des cardiomyocytes isolés de rat (Hartmann et Schrader, 1992) n'induit pas d'augmentation de la phosphorylation du PLB.
- Les canaux potassiques voltage-dépendants (Apkon et Nerbonne, 1988) et *delayed rectifier* I_{Ks} (Tohse *et al.*, 1987 ; Walsh et Kass, 1988 ; Tohse, 1988) à la membrane plasmique. Le courant généré par les premiers est diminué suite à leur phosphorylation par les PKC entraînant une augmentation de l'APD. La phosphorylation des *delayed rectifier* par les PKC induit une augmentation de I_{Ks} entraînant une diminution de l'APD.
- Les canaux sodiques membranaires (Qu *et al.*, 1994). La phosphorylation de ces canaux Na^+ par les PKC induit une diminution du courant correspondant pouvant avoir des conséquences au niveau de l'excitabilité des cardiomyocytes.
- Les canaux calciques de type L et T membranaires. La phosphorylation de ces canaux induit une augmentation transitoire de I_{CaL} et une abolition complète de I_{CaT} (Lacerda *et al.*, 1988 ; Tseng et Boyden, 1991 ; Bourinet *et al.*, 1992 ; Liu *et al.*, 1993).
- Des protéines contractiles, notamment la protéine C et la chaîne légère de myosine de type 2 (MLC-2) pour le filament épais et les troponines I et T (TnI et TnT) pour les filaments fins. La phosphorylation de la protéine C (*in vitro*, Lim *et al.*, 1985 ; *in vivo*, Venema et Kuo, 1993) et des TnI et TnT (*in vitro*, Katoh *et al.*, 1983 ; Noland et Kuo, 1991 ; Clement *et al.*, 1992) induit une diminution de la vitesse maximale (V_{max}) de la myosine ATPase activée par le Ca^{2+} et de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments. Cependant, la phosphorylation de la MLC-2 par les PKC et plus précisément par la PKC ϵ (qui semble être transloquée aux myofilaments ; Venema et Kuo, 1993 ; Venema *et al.*, 1993) induit une

augmentation de la sensibilité au Ca^{2+} de cette protéine (Clement *et al.*, 1992). La résultante de ces différentes phosphorylations au niveau des protéines contractiles s'en trouve être un effet inotrope positif.

- Les PKC induisent également l'activation de la transcription de différents gènes, notamment le facteur natriurétique atrial (ANF), la chaîne lourde de myosine de type β (β -MHC) et la MLC-2 (pour revue, Chien *et al.*, 1991). Ces effets étant majoritairement médiés par la PKC β et l'activation de la voie des MAP kinases (*mitogen-activated protein*).

La Figure 23 ci-après résume cette voie de signalisation α_1 -adrénergique.

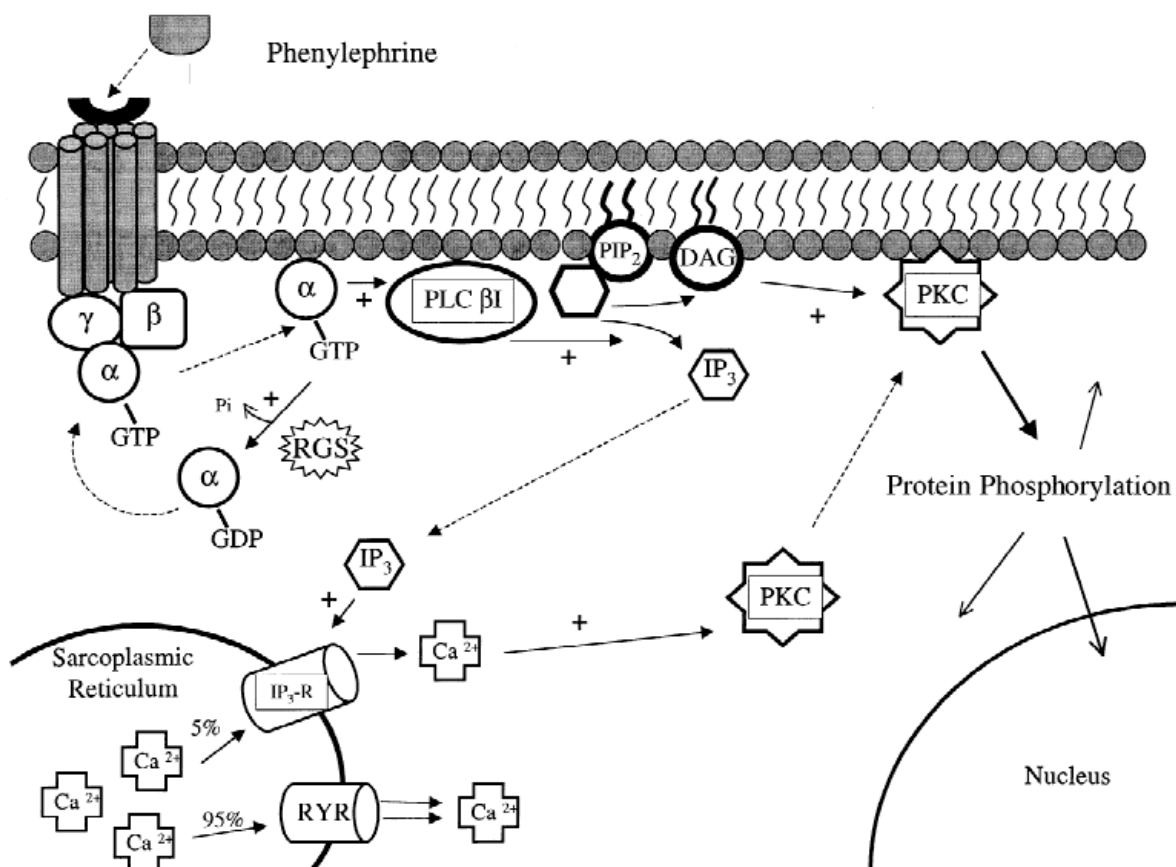


Figure 23 : Voie de signalisation α_1 -adrénergique impliquant les voies de l'IP $_3$ et du DAG.

La fixation d'un agoniste α_1 -adrénergique (ici la phényléphrine) induit le couplage du récepteur à une protéine G $_{q/11}$. La sous-unité α (liée à un GTP) de cette protéine active une PLC β I membranaire qui clive le PIP $_2$ en IP $_3$ et DAG. L'IP $_3$ ainsi formé se fixe sur ses récepteurs au niveau du RS et permet la libération (mineure comparée à celle impliquée dans le CICR) de Ca^{2+} du RS. Le DAG, de son côté, active les PKC qui phosphorylent des protéines membranaires, du RS ou d'autres organites intracellulaires ainsi que des facteurs de transcription de différents gènes (modifié d'après Jalili *et al.*, 1999).

3.3.2.2. Les Autres Phosphatidyl-inositols

Il existe 5 phospholipases différentes qui hydrolysent des fonctions esters différentes à l'intérieur des phospholipides : les phospholipases A1 (PLA1), les phospholipases A2 (PLA2), les phospholipases B (E.C.3.1.1.5), les phospholipases C (PLC) et les phospholipases D (PLD).

La stimulation α_1 -adrénergique peut activer des PLC (voir 3.3.2.1.) mais également des PLD et des PLA2 (pour revue, Varma et Deng, 2000).

L'activation des PLD conduit à l'hydrolyse de la phosphatidylcholine (PC) en acide phosphatidique qui est ensuite converti en DAG par une DAG hydrolase. Comme pour la voie des PLC, le DAG et l'acide phosphatidique peuvent activer des PKC. Une activation des PKC par un ester de phorbol induit l'inhibition des PLC mais une activation importante des PLD. Il est donc possible que la voie des PLC produise une augmentation transitoire de la concentration intracellulaire de DAG permettant l'activation des PKC. Ces PKC activées stimuleraient alors la voie des PLD, permettant une production maintenue dans le temps de DAG. Celle-ci pourrait être à l'origine de l'effet à long terme de la stimulation α_1 -adrénergique (pour revue, Varma et Deng, 2000).

L'activation des PLA2 conduit à l'hydrolyse de la PC en lysoPC et acides gras cis-insaturés (FFA). Les agonistes α_1 -adrénergiques activent la voie des PLA2 *via* un couplage du récepteur à une protéine G PTX-sensible ($G_{i/o}$) ou *via* le complexe $\beta\gamma$ (pour revue, Nishizuka, 1992 ; Terzic *et al.*, 1993 ; Nishizuka, 1995). Là encore, il a été montré que la lysoPC et les FFA pouvaient potentialiser l'activation des PKC après une stimulation α_1 -adrénergique (pour revue, Nishizuka, 1992 et Nishizuka, 1995).

La Figure 24 permet de faire une synthèse des différentes phospholipases activées par un couplage des α_1 -AR aux protéines $G_{q/11}$.

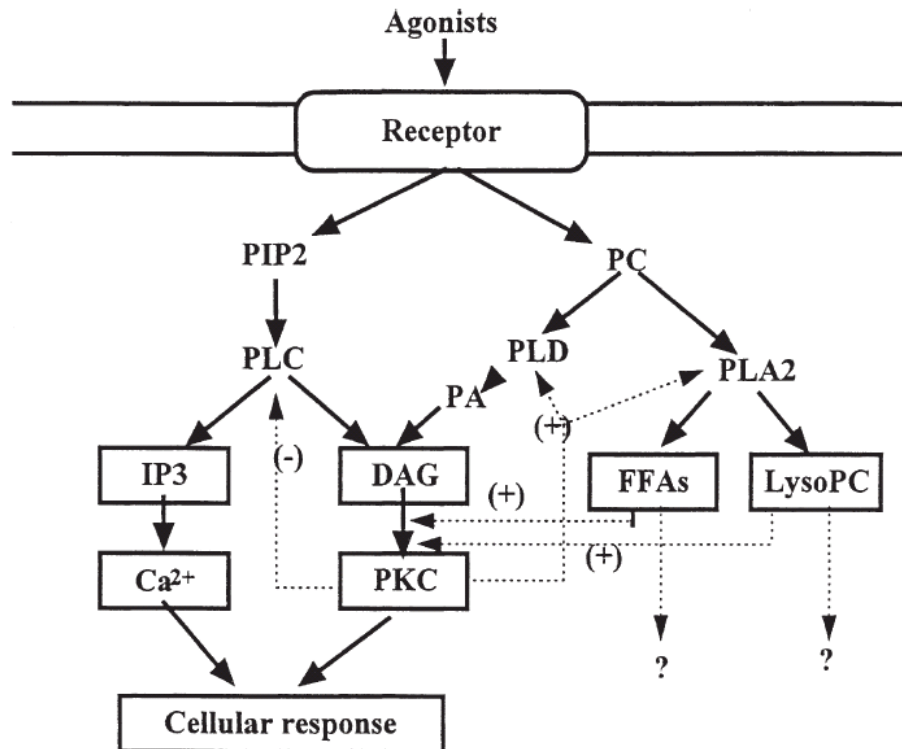


Figure 24 : Les phospholipases impliquées dans la transduction du signal α_1 -adrénergique.
(d'après Varma et Deng, 2000).

3.3.3. Les Autres Voies de Signalisation

La voie de signalisation IP₃-DAG-dépendante a longtemps été considérée comme l'unique voie de transduction du signal α_1 -adrénergique. Cependant, il semble que la signalisation des α_1 -AR soit beaucoup plus complexe et ferait intervenir notamment d'autres protéines G hétérotrimériques, d'autres seconds messagers ou d'autres effecteurs.

3.3.3.1. Voies Indépendantes des Protéines G_{q/11}

Nous avons vu que les α_1 -AR sont majoritairement couplés aux protéines G_{q/11}. Néanmoins, ces récepteurs sont capables d'activer d'autres protéines G.

En effet, il a été montré chez le Rat que ces α_1 -AR sont couplés à des protéines G_{i/o}. Pour certains auteurs, ce couplage induirait une diminution de l'AMPc produit par une pré-stimulation β -adrénergique (Barrett *et al.*, 1993). Pour d'autres, cela permettrait une activation de la Na⁺/K⁺ ATPase membranaire (Otani *et al.*, 2001). Enfin, il apparaît que ce couplage à la protéine G_o pourrait induire une diminution du courant calcique de type L *via* le complexe $\beta\gamma$ de cette protéine (J *et al.*, 2008). Gallego et collaborateurs ont montré, chez le Rat également, que les α_1 -AR pouvaient être couplés à une protéine G_s (Gallego *et al.*, 2005). Ce couplage

particulier permettrait l'activation de l'AC avec production d'AMPc, lequel activerait des PKA (comme la stimulation β -adrénergique). Ces PKA induirait en bout de ligne une inhibition du courant potassique transitoire sortant I_{to} .

3.3.3.2. Voies Indépendantes des PKC

Outre des protéines G différentes, la stimulation α_1 -adrénergique peut générer des seconds messagers différents (notamment l'AMPc, voir 3.3.3.1.) ou activer des effecteurs différents. La voie PKC-dépendante a longtemps été décrite comme LA voie de signalisation α_1 -adrénergique, comme la voie PKA-dépendante pour la stimulation β -adrénergique. Néanmoins, de plus en plus de preuves apparaissent montrant une certaine indépendance des α_1 -AR vis-à-vis des PKC. C'est le cas lors d'un couplage à d'autres protéines G que la protéine $G_{q/11}$ (voir 3.3.3.1.). Il apparaît également qu'une autre kinase soit impliquée dans la transduction du signal α_1 -adrénergique plutôt que les PKC, la kinase des chaînes légères de myosine (MLCK). L'inhibition de cette kinase (par le ML-7 ou le ML-9) bloque les effets induits par une stimulation α_1 -adrénergique, notamment chez le Rat et la Souris, alors que la PLC et les PKC ne semblent jouer aucun rôle (Andersen *et al.*, 2002 ; Wang *et al.*, 2006 ; Zitron *et al.*, 2008). Il avait déjà été montré que la phosphorylation de la MLC-2 (qui est un substrat de la MLCK) était une conséquence de l'activation des PKC et induisait un effet inotrope positif semblable à la réponse à une stimulation α_1 -adrénergique (Clement *et al.*, 1992 ; Venema et Kuo, 1993 ; Venema *et al.*, 1993). Certains auteurs vont même jusqu'à dire que « la phosphorylation de la MLC-2 par les PKC dans des cardiomyocytes est le mécanisme principal de l'effet inotrope positif induit par une stimulation α_1 -adrénergique » (Varma et Deng, 2000). Cependant, Grimm et collaborateurs ont montré chez la Souris que la stimulation α_1 -adrénergique est associée à une phosphorylation de la MLC-2, inhibée par le ML-7 et la wortmannin, et une translocation de la PKC ϵ à la membrane plasmique et aux myofilaments (Grimm *et al.*, 2006). Seulement, l'inhibition de la translocation de cette PKC (par le KIE1-1) potentialise les effets α_1 -adrénergiques alors qu'une inhibition de toutes les PKC (par la chélerythrine) n'a aucun effet. Il apparaît donc que la stimulation α_1 -adrénergique active la MLCK qui phosphoryle la MLC-2 et que cette activation est modulée négativement par la PKC ϵ .

En conclusion, il n'existe pas une seule voie de transduction du signal α_1 -adrénergique comme c'est le cas pour la stimulation β_1 -adrénergique. La voie PKC-dépendante a longtemps

été décrite comme unique mais aujourd'hui les auteurs ne sont pas d'accord et les résultats sont très souvent dépendants de l'espèce animale considérée ou du tissu myocardique étudié.

3.4. Fonctions Myocardiques des α_1 -AR

Les α_1 -AR sont impliqués dans la contractilité cardiaque, l'hypertrophie myocardique et ont également une influence sur les propriétés électrophysiologiques des cellules cardiaques. Par conséquent, ils sont impliqués dans des pathologies telles que l'insuffisance cardiaque, des cardiomyopathies (notamment hypertrophiques ou ischémiques), les conséquences cardiaques du diabète, ou encore l'hypertension (pour revue, Varma et Deng, 2000).

3.4.1. α_1 -AR et Contractilité

3.4.1.1. Caractéristiques des Effets Inotropes induits par la Stimulation α_1 -Adrénérergique

Ces effets inotropes induits par la stimulation α_1 -adrénérergique ont été montrés pour la première fois, il y a un peu plus de 40 ans, chez le Rat (Wenzel et Su, 1966), le Cobaye (Govier, 1967) et le Lapin (Benfey et Varma, 1967). La stimulation des α_1 -AR induit des effets inotropes positifs chez la majorité des espèces et sur différentes préparations (cœur entier, papillaire, lambeau de ventricule, oreillette et cardiomyocytes isolés) (Wagner et Brodde, 1978 ; Skomedal *et al.*, 1983 ; Terzic et Vogel, 1990 ; Fedida et Bouchard, 1992 ; Gambassi *et al.*, 1992 ; pour revue, Brückner *et al.*, 1985 ; Osnes *et al.*, 1985 ; Endoh, 1986 ; Scholz *et al.*, 1986 ; Nawrath, 1989 ; Pucéat *et al.*, 1992 ; Terzic *et al.*, 1993 ; Varma et Deng, 2000). Plus récemment, un effet inotrope négatif a été décrit en réponse à la stimulation des α_1 -AR chez la Souris (Tanaka *et al.*, 1995 ; Nishimaru *et al.*, 2001 ; McCloskey *et al.*, 2002 ; Varma *et al.*, 2003 ; Roman *et al.*, 2004 ; Hirano *et al.*, 2006) et sur le ventricule de rat (Kissling *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2006).

Cet effet inotrope positif (PIE) est majoritairement médié par le sous-type α_{1B} - chez le Lapin (Takanashi *et al.*, 1991). Par contre, chez le Rat il est majoritairement médié par le sous-type α_{1A} - (Rokosh et Sulakhe, 1991 ; Gambassi *et al.*, 1991). Le sous-type α_{1D} - semble ne pas jouer de rôle dans ce PIE (ou alors très mineur) (Wang *et al.*, 1997 ; Zhang *et al.*, 1999). Ce PIE est plus important chez des espèces comme le Rat ou le Lapin que chez le Cobaye et le Chien notamment (Scholz *et al.*, 1986). Des différences de densité de récepteurs pourraient expliquer ces différences de réponse à la stimulation α_1 -adrénérergique entre espèces

(Mukherjee *et al.*, 1983 ; Endoh *et al.*, 1991). Enfin, il semble que ce PIE diminue avec l'âge (Kimball *et al.*, 1991).

Ce PIE peut être complexe et comporter 2 ou 3 phases dont un effet inotrope négatif transitoire (Govier, 1968 ; Hattori et Kanno, 1982 ; Osnes *et al.*, 1985 ; Tohse *et al.*, 1987 ; Otani et Das, 1988 ; Ertl *et al.*, 1991 ; Chen et Su, 2000 ; Kim et Kang, 2005 ; Wang *et al.*, 2006). C'est notamment souvent le cas sur le ventricule de rat. La résultante de ces 2 ou 3 phases reste tout de même un PIE (dans la majeure partie des études).

3.4.1.2. Mécanismes à l'Origine de ces Effets Inotropes

3.4.1.2.1. Modifications des Caractéristiques Electrophysiologiques des Cardiomyocytes

Il existe une relation étroite entre les paramètres électrophysiologiques des cellules myocardiques et leur contractilité. Ce qui fait qu'une modification du PA ou du RMP aura une répercussion directe (ou quasi-directe) sur la contraction de la cellule ou du tissu considéré.

La stimulation α_1 -adrénergique induit une diminution du courant transitoire sortant I_{to} (Fedida *et al.*, 1989). Cette diminution du courant I_{to} induit un allongement de l'APD, ce qui permet une entrée accrue de Ca^{2+} par les canaux calciques de type L. Cette entrée plus importante de Ca^{2+} induit alors un PIE. Un prétraitement par la 4-aminopyridine (4-AP, bloque le courant I_{to}) prévient ce PIE induit par une stimulation α_1 -adrénergique (Tohse *et al.*, 1990). De plus, les antagonistes des canaux calciques de type L (verapamil, diltiazem et nifédipine) bloquent en partie ce PIE (Tohse *et al.*, 1987 ; Kushida *et al.*, 1990 ; Endou *et al.*, 1991).

Les antagonistes calciques bloquent en partie seulement le PIE induit par une stimulation α_1 -adrénergique (Tohse *et al.*, 1987 ; Kushida *et al.*, 1990 ; Endou *et al.*, 1991). De plus, la stimulation des α_1 -AR peut induire un PIE sans augmentation de I_{CaL} sur des cellules isolées de chat (Hartmann *et al.*, 1988), de rat (Gambassi *et al.*, 1992) et du ventricule de cobaye (Dirkson *et al.*, 1991). Une augmentation de l'influx calcique dans la cellule n'est donc pas le seul mécanisme permettant d'expliquer le PIE induit par la stimulation α_1 -adrénergique.

3.4.1.2.2. Dégradation des Phosphatidyl-Inositols : Rôle de l' IP_3 ?

La stimulation des α_1 -AR induit la dégradation du PIP_2 en IP_3 et DAG (voir 3.3.2.1.). Le PIE induit par cette stimulation des α_1 -AR est précédé par une diminution de la concentration de PIP_2 et une augmentation de celle de l' IP_3 (Schmitz *et al.*, 1987 ; Scholz *et al.*, 1988). De plus, lorsque la dégradation de l' IP_3 est inhibée par l'intermédiaire du lithium (inhibiteur de l'hydrolyse des inositols-phosphate), le PIE induit par la stimulation α_1 -adrénergique est potentialisé (Molderings et Schumann, 1987 ; Skomedal *et al.*, 1991). Lorsque la PLC (qui hydrolyse le PIP_2 en IP_3 et DAG) est inhibée, le PIE α_1 -adrénergique est diminué (Otani et Das, 1988 ; Wald *et al.*, 1988). Enfin, dans le cas d'un effet triphasique, sur le papillaire de rat, l'inhibition de la dégradation de l' IP_3 entraîne une augmentation des 2 phases transitoires (PIE suivi d'une diminution de l'amplitude de contraction) (Otani et Das, 1988).

L' IP_3 semble être impliqué dans les 2 phases transitoires de l'effet inotrope triphasique induit par la stimulation α_1 -adrénergique sur le papillaire de rat mais pas dans l'effet inotrope positif soutenu (phase 3) (Otani et Das, 1988). Il est à noter que la production d' IP_3 suite à l'hydrolyse du PIP_2 est transitoire alors que le PIE induit est maintenu dans le temps (plusieurs heures). De plus, l'inhibition de la PLC entraîne une diminution du PIE mais pas l'abolition complète de celui-ci (Otani et Das, 1988 ; Wald *et al.*, 1988). L' IP_3 formé suite à l'hydrolyse du PIP_2 par la PLC se fixe sur ses récepteurs au niveau du RS. Cette fixation induit une libération de Ca^{2+} par cet organite. Plus précisément, l' IP_3 semble moduler assez finement la libération de Ca^{2+} par le RS plutôt que l'augmenter (ce n'est pas comme le CICR impliqué dans les mécanismes du couplage excitation-contraction) (Kentish *et al.*, 1990). D'ailleurs, il est possible d'observer un PIE suite à une stimulation des α_1 -AR sans augmentation des transitoires calciques intracellulaires (Dirksen *et al.*, 1991 ; Gambassi *et al.*, 1992 ; Terzic *et al.*, 1992 ; Hansen *et al.*, 1994). Pour induire un PIE sans augmentation franche du Ca^{2+} intracellulaire, il faut donc que les myofilaments possèdent une sensibilité accrue pour cet ion. Or, l' IP_3 est incapable d'augmenter celle-ci (Puceat *et al.*, 1990 ; Scholz *et al.*, 1992). Il existe donc un autre mécanisme induit par la stimulation des α_1 -AR permettant d'augmenter la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+} .

3.4.1.2.3. Augmentation de la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+} : Rôle du DAG ?

Suite à la stimulation α_1 -adrénergique, il est observé une faible augmentation des transitoires calciques accompagnée d'une forte (tout est relatif !) augmentation de la contraction. Il y a donc nécessité d'augmenter la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments (Endoh,

1986 ; Endoh et Blinks, 1988. L'équipe de Lakatta a montré que si la quantité de Ca^{2+} libéré par le RS est fixe, alors la stimulation α_1 -adrénergique induit quand même un PIE (Capogrossi *et al.*, 1990 ; Gambassi *et al.*, 1992). De plus, des cellules pelées (dépourvues de membrane plasmique) présentent un déplacement vers la gauche de leur courbe tension-pCa (c'est-à-dire qu'une moindre quantité de Ca^{2+} induit une contraction supérieure ou égale au contrôle) lorsqu'elles ont été prétraitées avec de la phényléphrine (agoniste sélectif des α_1 -AR) ou un activateur de PKC (Puceat *et al.*, 1990). Cet effet traduit une augmentation de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments. Celui-ci est médié par les PKC, plus précisément la PKC ϵ (Collins *et al.*, 1992 ; Khalil *et al.*, 1992). Le second messenger responsable est donc le DAG. Les PKC sont capables de phosphoryler directement les protéines contractiles (voir 3.3.2.1.). Cependant, il a été postulé qu'une autre kinase plus spécifique des myofilaments pouvait être impliquée : la MLCK. Cette kinase, qui phosphoryle spécifiquement la MLC-2, induit une augmentation de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments (Morano *et al.*, 1985 ; Clement *et al.*, 1992 ; Venema *et al.*, 1993). La capacité des PKC à activer la MLCK a été montrée sur des cardiomyocytes pelés (Clement *et al.*, 1992). L'alcalinisation du cytoplasme (augmentation du pH) permet également d'accroître la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments et d'induire un PIE (Fabiato et Fabiato, 1978 ; Vaughan-Jones *et al.*, 1987). La stimulation α_1 -adrénergique induit une alcalinisation du cytoplasme *via* l'activation de l'échangeur Na^+/H^+ (Iwakura *et al.*, 1990 ; Terzic *et al.*, 1992 ; Wallert et Fröhlich, 1992 ; Pucéat *et al.*, 1993).

En résumé, l'effet inotrope positif observé suite à la stimulation des α_1 -AR est induit par au moins 2 mécanismes :

- Une sensibilité accrue au Ca^{2+} des myofilaments par l'intermédiaire de leur phosphorylation par la PKC ϵ et la MLCK et l'activation de l'échangeur Na^+/H^+ et l'alcalinisation du milieu intracellulaire.
- L'augmentation de l'APD consécutive à l'inhibition du courant I_{to} permettant un influx calcique intracellulaire plus important.

Je ne cite que ces 2 mécanismes car le rôle de l' IP_3 semble jouer un rôle mineur dans le PIE induit par la stimulation α_1 -adrénergique. Ces mécanismes sont résumés dans la Figure 25.

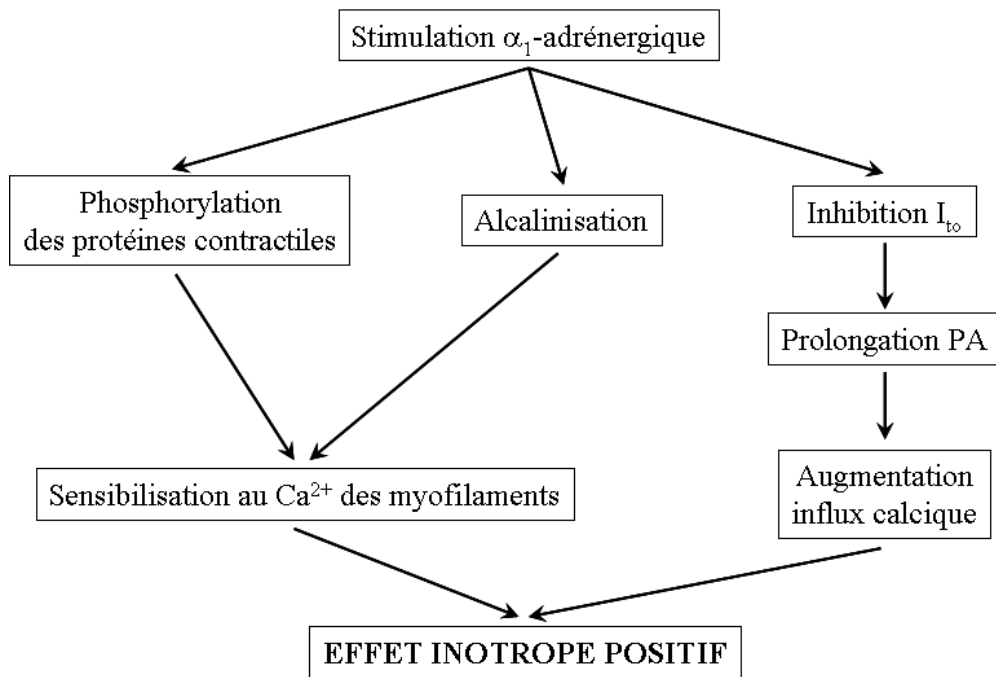


Figure 25 : Mécanismes impliqués dans le PIE induit par une stimulation α_1 -adrénergique.

3.4.1.2.4. Effet inotrope négatif

Bien qu'il soit communément admis que la stimulation des α_1 -AR induise un PIE, certains auteurs montrent que les agonistes α_1 -adrénergiques peuvent induire un effet inotrope négatif notamment chez la Souris et le Rat.

Chez la Souris, la stimulation α_1 -adrénergique induit un effet inotrope négatif *via* :

- Une augmentation de l'efflux de Ca^{2+} de la cellule par l'intermédiaire de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Nishimaru *et al.*, 2001).
- L'activation de la PKC δ (Varma *et al.*, 2003).
- Une diminution de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments (McCloskey *et al.*, 2002 ; Hirano *et al.*, 2006). Cet effet semble être du à l'activation d'une PKC (δ ?).
- La phosphorylation de la TnI par une PKC (δ ?) (Roman *et al.*, 2004). Cette phosphorylation de la TnI pourrait participer à la diminution de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments.

Chez le Rat en revanche, les résultats sont plus contradictoires. En effet, Kissling et collaborateurs ont montré que l'effet inotrope induit par la stimulation α_1 -adrénergique sur le papillaire de rat est du à l'activation des PKC (Kissling *et al.*, 1997). Contrairement aux travaux de Wang et collaborateurs qui montrent que la phénylphrine induit une diminution

vraisemblable de la sensibilité au Ca^{2+} des myofilaments sur le ventricule droit sans implication des PKC (Wang *et al.*, 2006).

3.4.2. α_1 -AR et Hypertrophie

L'hypertrophie cardiaque est un mécanisme adaptatif en réponse à différents stimuli physiques, chimiques, hormonaux et neuronaux dont les agonistes des α_1 -AR font partie. L'hypertrophie induite par une stimulation α_1 -adrénergique est due à une synthèse accrue de protéines sans qu'il y ait différenciation cellulaire (Simpson, 1988 ; Simpson *et al.*, 1991). L'implication des α_1 -AR dans l'hypertrophie cardiaque a été montrée *in vivo* sur des rats hypertendus par Takeda et collaborateurs (Takeda *et al.*, 1991) et *in vitro* sur des cardiomyocytes de rats nouveau-nés en culture (Simpson, 1983, Simpson, 1985 ; Meidell *et al.*, 1986). Elle a ensuite été confirmée sur des myocytes de rats adultes (Fuller et Sugden, 1989, Fuller *et al.*, 1991 ; Chien *et al.*, 1991 ; Allo *et al.*, 1992 ; Deng *et al.*, 1998) et de lapins (Decker *et al.*, 1993).

L'hypertrophie cardiaque se caractérise par l'expression successive de différents gènes. Tout d'abord, des protooncogènes (gènes impliqués dans le contrôle de la division cellulaire ; *c-myc*, *c-fos*, *Egr-1*, *c-jun*, *jun-B*) sont exprimés. Ils ne requièrent pas de synthèse protéique et la plupart codent des facteurs de transcription de gènes exprimés plus tard (pour revue, Varma et Deng, 2000). Ensuite, la cellule réactive l'expression de gènes embryonnaires (c'est-à-dire des gènes exprimés dans des cellules indifférenciées) comme l'ANF (Knowlton *et al.*, 1991), l' α -actine squelettique (Bishopric *et al.*, 1987 ; Bishopric et Kedes, 1991) et la MHC- β (Waspé *et al.*, 1990). Enfin, l'expression de gènes de protéines contractiles comme la MLC-2 et l' α -actine cardiaque est augmentée (Long *et al.*, 1989) dans le but de produire et assembler de nouvelles unités sarcomériques (Lee *et al.*, 1988).

La stimulation des α_1 -AR induit l'expression des protooncogènes *c-myc* (Starksen *et al.*, 1986 ; Ikeda *et al.*, 1991), *c-jun*, *c-fos* et *Egr-1* (Iwaki *et al.*, 1990). L'expression de ces gènes est probablement médiée par les PKC (Starksen *et al.*, 1986 ; Dunnman *et al.*, 1990) par l'intermédiaire d'une protéine G PTX-insensible (Iwaki *et al.*, 1990). De plus, elle induit l'augmentation de l'expression des gènes codant des myofilaments, notamment la MLC-2 et l' α -actine cardiaque (Bishopric *et al.*, 1987 ; Lee *et al.*, 1988 ; Long *et al.*, 1989 ; Iwaki *et al.*, 1990). Ces effets médiés principalement par le sous-type α_{1A} - dont l'expression est augmentée par les stimuli hypertrophiques prouvent l'implication des α_1 -AR dans l'hypertrophie cardiaque.

3.4.3. α_1 -AR et Chronotropie

Contrairement aux agonistes des β -AR, la stimulation des α_1 -AR induit un PIE sans augmentation du rythme cardiaque chez l'adulte (Wagner et Brodde, 1978 ; Osnes *et al.*, 1989). En effet, les agonistes α_1 -adrénergiques sont incapables de moduler l'activité *pacemaker* du nœud sinusal (Hewett et Rosen, 1985), contrairement aux cellules *pacemaker* dites silencieuses telles que les fibres de Purkinje (Rosen *et al.*, 1988).

Les effets chronotropes induits par la stimulation α_1 -adrénergique sont essentiellement importants en conditions pathologiques telles que l'ischémie. En effet, les agonistes des α_1 -AR induisent l'apparition de DAD sur des fibres de Purkinje en surcharge calcique pendant une ischémie (Boutjdir et el-Sherif, 1991) mais pas en condition de normoxie (Priori et Corr, 1990).

Ces effets pro arythmiques sont principalement dus à la stimulation du sous-type α_{1A} puisqu'ils sont significativement réduits par l'utilisation d'un antagoniste sélectif de ce sous-type, le WB-4101 (Molina-Viamonte *et al.*, 1991). En revanche, la stimulation du sous-type α_{1B} induit des effets protecteurs vis-à-vis des conséquences délétères de l'ischémie (Hu et Nattel, 1995), notamment par l'intermédiaire de la stimulation de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase, générant un courant sortant supprimant l'activité automatique (Shah *et al.*, 1988 ; Zaza *et al.*, 1990 ; Williamson *et al.*, 1993).

En conclusion, les récepteurs adrénergiques sont impliqués dans toutes les fonctions indispensables à la vie de l'individu. Au niveau cardiaque, les récepteurs β -adrénergiques ont bénéficié de plus d'attention de part leurs effets chronotropes (relatif à la fréquence), inotropes (relatif à la force de contraction), lusitropes (relatif à la relaxation), dromotropes (relatif à la conduction) et bathmotropes (relatif à l'excitabilité) importants, beaucoup plus importants que ceux des récepteurs α_1 . Néanmoins, ces derniers prennent le relais lorsque les récepteurs β -adrénergiques ne sont plus ou peu fonctionnels. Ils sont impliqués dans différentes pathologies telles que des cardiomyopathies, l'insuffisance cardiaque, l'ischémie et des troubles du rythme (notamment la fibrillation auriculaire). Leurs fonctions et les mécanismes impliqués dans la transduction de leur signal sont encore partiellement élucidés et il reste encore beaucoup de choses à apprendre de ces récepteurs.

Objectifs

Les objectifs de ce travail ont été :

- Caractériser d'un point de vue électrophysiologique l'activité automatique catécholaminergique observée sur la VP ainsi que les effets de la stimulation α_1 -adrénergique sur le RMP et le PA d'OG et de VP.
- Caractériser le rôle du courant I_{K1} dans la différence de RMP observée entre la VP et l'OG et celui du courant I_f dans la genèse de l'activité automatique catécholaminergique observée sur la VP.
- Caractériser les effets de la stimulation α_1 -adrénergique sur la contractilité de l'OG et la VP et explorer les voies de signalisation impliquées.
- Déterminer si l'activité automatique catécholaminergique pouvait être enregistrée au niveau de la veine cave supérieure.
- Evaluer l'influence du vieillissement sur l'incidence de l'activité automatique catécholaminergique et les réponses à la stimulation α_1 -adrénergique sur la VP.

Deuxième partie

Matériel et Méthodes

1. Animaux

Des rats mâles de souche Wistar de deux âges différents ont été utilisés :

- Des jeunes provenant du Centre d'élevage R. Janvier (Le Genest Saint Isle, France) âgés 10 ± 2 semaines.
- Des animaux âgés de 24 ± 2 mois provenant de l'INRA de Nouzilly (France).

Tous les animaux ont été hébergés dans l'animalerie de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Tours selon la réglementation en vigueur (agrément C37-261-4) dans les conditions environnementales suivantes :

- Température $22 \pm 1^\circ\text{C}$; humidité $55 \pm 10\%$
- Alternance jour/nuit par cycle d'éclairage de 12 heures
- Consommation de nourriture et d'eau *ad libitum*.

Les animaux ont été acclimatés une semaine au moins à ces conditions après leur arrivée afin d'éviter toute interaction de nos résultats avec des phénomènes liés au stress du transport.

1.1. Euthanasie des Animaux

Les rats sont anesthésiés par du pentobarbital sodique par voie intrapéritonéale à la dose de 60 mg/kg puis sont ensuite héparinés par voie intraveineuse (500 UI/kg) et placés en décubitus dorsal. Le bloc cœur-poumon est prélevé puis plongé dans une solution de Krebs-Henseleit (voir composition plus loin) froide ($4-5^\circ\text{C}$) dans le but de stopper la contraction et de limiter au maximum l'ischémie. La dissection du bloc cœur-poumon s'effectue dans une cuve contenant du Krebs réfrigéré.

1.2. Prélèvements

1.2.1. Les Oreillettes Gauche et Droite

Le prélèvement est effectué par incision de la base de l'auricule au moyen de micro-ciseaux (Moria, France). La préparation est ensuite placée dans un bécher contenant du Krebs froid.

Pour l'enregistrement de l'activité contractile, l'OG est placé intacte dans la cuve expérimentale. Par contre, pour l'enregistrement de l'activité électrique par la technique de microélectrode intracellulaire, l'OG et l'OD sont coupées dans le plan sagittal. Ensuite, seule la partie ventrale de l'oreillette est conservée pour expérimentation.

1.2.2. Les Veines Pulmonaires

Les différents sites de prélèvement des préparations de veines pulmonaires chez le Rat sont présentés dans la Figure 26. Les VP postérieure droite, gauche et post-cavale ont été utilisées pour les expérimentations. Une fois placée sous la loupe binoculaire, la préparation de la veine commence. La veine est nettoyée du tissu graisseux qui l'enrobe surtout dans la région veino-atriale.

Une fois la veine bien nettoyée, elle est sectionnée transversalement à l'aide de micro-ciseaux (au niveau de la région proximale) à environ 2 mm de sa jonction à l'OG. A ce stade, la dissection diffère selon l'expérimentation.

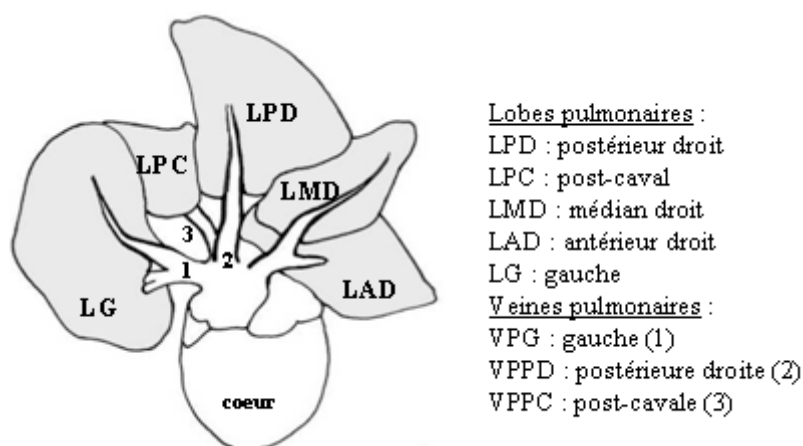


Figure 26 : Schéma de l'anatomie du bloc cœur/poumon chez le rat

1, 2 et 3 montrent les sites de prélèvement des veines pulmonaires (d'après (Bronquard *et al.*, 2007)).

1.2.2.1. Le Lambeau

La partie supérieure de la veine est prélevée à l'aide de micro-ciseaux en remontant dans la direction du poumon de chaque côté en évitant de prélever trop de tissu pulmonaire. Il est important lors de la dissection de différencier la face externe et le lumen de la veine. Le lambeau ainsi isolé (8-10 mm de long sur 3-4 mm de large) est immédiatement transféré dans la cuve expérimentale contenant du Krebs thermostaté à 36-37 °C et dont le pH est ajusté à 7,4 par du carbogène (95 % O₂ ; 5 % CO₂).

1.2.2.2. Les Anneaux

Pour les anneaux, la veine est prélevée dans son ensemble en remontant vers le poumon comme pour le lambeau et placée sur la glace de la cuve de dissection. Elle est sectionnée transversalement afin de former deux anneaux de 2 à 3 mm de longueur chacun. Ceux-ci sont ensuite placés directement sur les tiges mobiles pour être montés sur le banc de contraction (voir description du montage plus loin).

1.2.3. La Veine Cave Supérieure

Tout comme pour la VP, la VCS a été prélevée sous la forme d'un lambeau ou d'un anneau (pour le détail, voir le prélèvement de la VP). Brièvement, la VCS est sectionnée à environ 2 mm de sa jonction à l'OD. Ensuite un anneau (~ 1,5 mm de long) ou un lambeau (3-4 mm de long) est disséqué. L'anneau est ensuite installé directement sur la tige mobile puis monté dans la cuve expérimentale (voir plus loin). Le lambeau est installé dans la cuve expérimentale avec la face luminale sur le dessus (voir plus loin).

2. Solutions et Réactifs

2.1. Solutions Physiologiques

Le Tyrode, le Krebs-Henseleit, le KRB et une solution intra-pipette (MIP, pour les expériences de *patch-clamp*) sont les quatre solutions physiologiques utilisées pour l'ensemble de l'étude. Leur composition est donnée dans le tableau suivant (Tableau IV) :

Composés	Tyrode (mM)	Krebs (mM)	KRB (mM)	MIP (mM)
NaCl	140	119	35,1	5
KCl	5,4	4,7	4,7	25
NaHCO ₃		25	25	
Glucose	11	5,5	10	
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	0/1,36	1,36		
MgCl ₂ , 6 H ₂ O	1			
NaH ₂ PO ₄ , 2 H ₂ O	0,3		16	
KH ₂ PO ₄		1,18	1,2	
MgSO ₄ , 7 H ₂ O		1,36		
HEPES	10		10	10
Sucrose			134	
K-Aspartate				115
Mg-ATP				5
EGTA				10
pH	7,35	7,4	7,4	7,3

Tableau IV : Composition des solutions physiologiques.

Le pH est ajusté par tonométrie (95% O₂ ; 5% CO₂) ou par l'ajout de quelques gouttes d'un acide fort (HCl 1N) ou d'une base forte (KOH 1N ou NaOH 1N).

2.2. Réactifs Pharmacologiques

Tous les réactifs pharmacologiques (voir (Doisne *et al*, 2009) proviennent des laboratoires Sigma (Sigma-Aldrich Chimie, Saint-Quentin Fallavier, France) ou Merck DG (Darmstadt, Allemagne) sauf la cirazoline hydrochloride qui provient des laboratoires Tocris (Tocris Bioscience ; Fisher-Bioblock, Illkirch, France). L'ivabradine nous a été gracieusement fournie par les laboratoires Servier (Neuilly-sur-Seine, France).

Des solutions mères concentrées de la plupart des réactifs pharmacologiques sont réalisées dans l'eau distillée et conservées à -20 °C. L'ensemble des réactifs est fraîchement préparé, par dilution dans la solution physiologique, chaque jour avant utilisation.

Certaines molécules nécessitent une mise en solution dans le DMSO (GF 109203X, rotlérine). Des expérimentations contrôles ont été réalisées en présence et en absence de cette substance aux concentrations finales équivalentes à celles des substances utilisées afin de vérifier qu'elles n'ont aucun effet propre sur la contractilité.

3. Enregistrement de l'Activité Contractile

3.1. Montage du Lambeau et Conditions d'Etudes

Les préparations (oreillettes et lambeau de veine pulmonaire) sont montées dans des cuves similaires thermostatées à 36-37 °C (Bain-Marie ; Polystat, Bioblock Scientific, France) et oxygénées d'une contenance de 5 ml environ. Les préparations prélevées sont superfusées par la solution physiologique à un débit de 5 ml/min maintenu constant par une pompe péristaltique (Reglo 4 canaux, Ismatec, Glattbrugg, Suisse). Le fond de la cuve est recouvert par de l'élastomère silicone (CAF 3 Rhodorsil, Rhodia, La Défense, Courbevoie, France), ce qui permet la fixation des différentes préparations à l'aide de petites minuties (Figure 27).

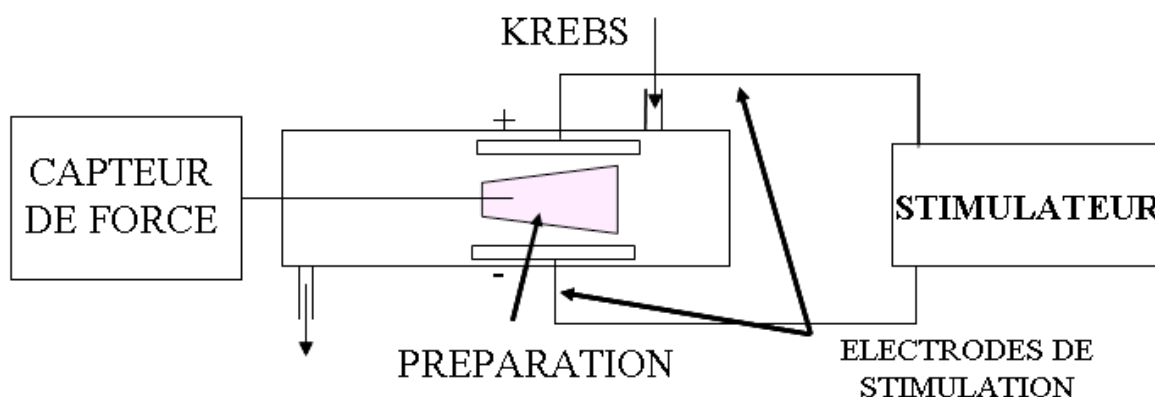


Figure 27 : Dispositif expérimental permettant l'enregistrement de la contraction

L'autre extrémité de la préparation est reliée, au moyen d'un petit crochet, à un mécano-transducteur Pioden UF1 (Pioden Controls, Royaume-Uni), lui même monté sur un micromanipulateur tridimensionnel (Narishige International, Royaume-Uni).

Après avoir déterminé la force maximale, l'étirement des préparations est ramené progressivement à 90 % de la longueur induisant cette force. Une période de récupération est observée avant de débiter l'expérimentation, afin d'obtenir des amplitudes de contractions stables.

La préparation est soumise à une stimulation de champ dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Une fréquence de 0,1, 1 et 2 Hertz (Hz).
- Une tension supraliminaire équivalente à deux fois le seuil de stimulation.

- Une durée de 2 ms.

Les contractions sont recueillies par le mécano-transducteur puis amplifiées à l'aide d'un amplificateur d'instrumentation. Les signaux sont ensuite envoyés à l'entrée d'une interface analogique/numérique (Powerlab 4/25, ADInstruments, Charlgrove, Royaume-Uni) puis analysés grâce au logiciel Chart (version 5.4.2, ADInstruments, Charlgrove, Royaume-Uni).

3.2. Montage des Anneaux

Les anneaux, après dissection, sont placés dans des cuves à organes isolés (Figure 28). Des électrodes de stimulation ont été élaborées au laboratoire pour pouvoir s'adapter à ce poste. Elles permettent de réaliser une stimulation de champ de la préparation (stimulation assurée par le logiciel Chart). Les anneaux prélevés mesurent 2 à 3 mm de longueur et sont montés sur une tige fixe. Une seconde tige mobile reliée au mécano-transducteur est passée dans l'anneau et l'ensemble est plongé dans une cuve de 2,5 ml environ. Les conditions expérimentales sont identiques aux précédentes, excepté le débit ramené à 3 ml/min afin de maintenir un renouvellement du contenu de la cuve en 1 minute environ.

Le protocole d'étirement et la méthode d'acquisition sont similaires à ceux décrits plus haut.

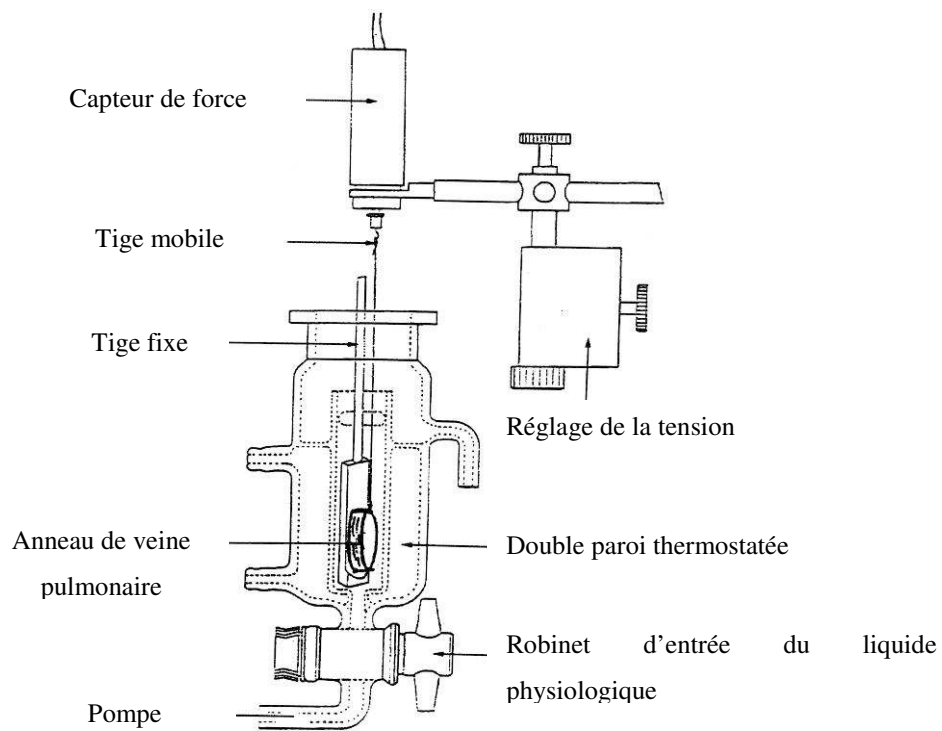


Figure 28 : Montage de l'anneau de veine pulmonaire dans la cuve à organe.

4. Enregistrement de l'Activité Electrique

L'oreillette gauche et le lambeau de veine pulmonaire de Rat sont les deux préparations utilisées pour les études électrophysiologiques. Le prélèvement des deux tissus est celui présenté précédemment.

4.1. Technique de Microélectrode Intracellulaire

La base triangulaire du lambeau est légèrement étirée et maintenue par deux ou trois minutes piquées dans le fond de la cuve. Le lambeau est légèrement étiré et maintenu au niveau de l'extrémité distale par une dernière minutie. L'oreillette est disséquée et seul le mur dorsal de la préparation est installé, face endocardique vers le haut. Le poste de microélectrode est configuré de la même façon pour les deux préparations.

La cuve d'expérimentation est placée sur une table anti-vibratoire à l'intérieur d'une cage de Faraday afin de diminuer les artefacts engendrés par le fonctionnement des appareils électriques. Les conditions expérimentales sont identiques aux précédentes, seul le débit est maintenu à 5 ml/min.

Les microélectrodes utilisées pour l'étude sont élaborées à l'aide d'une étireuse horizontale (modèle 773, Campden Instruments Limited, Loughborough, Royaume-Uni) à partir d'un programme automatique préalablement configuré (succession de périodes de chauffage et d'étirement du capillaire en borosilicate de 1 mm de diamètre externe, World Precision Instruments, CA, USA). Elles sont remplies d'une solution de KCl 3 M et sont conservées dans une boîte de Pétri comportant un linge humide pour éviter que le KCl à l'intérieur des électrodes ne cristallise. Le jour de l'expérimentation, le « holder » qui relie l'électrode à la tête de l'amplificateur est rempli de KCl 3 M. Cette opération réalisée ½ heure avant le début de l'expérimentation permet de limiter le potentiel de jonction. Les électrodes de stimulation sont du type Ag/AgCl et sont connectées à un stimulateur (A310 Accupulser, World Precision Instruments, CA, USA) qui permet de moduler l'intensité, la durée et la fréquence de la stimulation *via* une unité d'isolation du stimulus (A360, World Precision Instruments, CA, USA). Dans nos expérimentations, la durée de la stimulation est de 2 ms et l'intensité est équivalente à deux fois le seuil de stimulation.

Au moment de débiter l'expérimentation, la microélectrode est insérée dans le « holder ». L'ensemble est connecté à un amplificateur (M 707, World Precision Instruments, CA, USA) et le signal est directement visualisé sur l'oscilloscope (Figure 29).

Le signal électrique est ensuite transféré à une interface analogique/numérique (Powerlab 4/25, ADInstruments, Charl Grove, Royaume-Uni). Ainsi numérisé, il est visualisé sur l'ordinateur au moyen du logiciel d'acquisition Chart (version 5.4.2, ADInstruments, CA, USA). Ce même logiciel est utilisé ultérieurement pour l'analyse des données à l'aide du module d'analyse *Peak Parameters* (ADInstruments, Charl Grove, Royaume-Uni).

Lorsque l'électrode pénètre dans le bain, un potentiel de jonction se forme. Ce potentiel est dû à la différence de composition du milieu intra-pipette et du liquide de perfusion. Une compensation sur l'amplificateur permet de ramener le potentiel à zéro. De même, lorsque l'on retire la microélectrode du tissu, le potentiel ne revient pas toujours à zéro traduisant une variation de ce potentiel de jonction.

L'obtention d'un potentiel d'action après l'empalement est dépendante de l'intensité de la stimulation. Si cette stimulation est inférieure au seuil d'excitabilité de la préparation, la réponse obtenue sera une simple réponse évoquée (potentiel local). Si la stimulation est supérieure au seuil d'excitabilité, la réponse obtenue sera un PA (Figure 29).

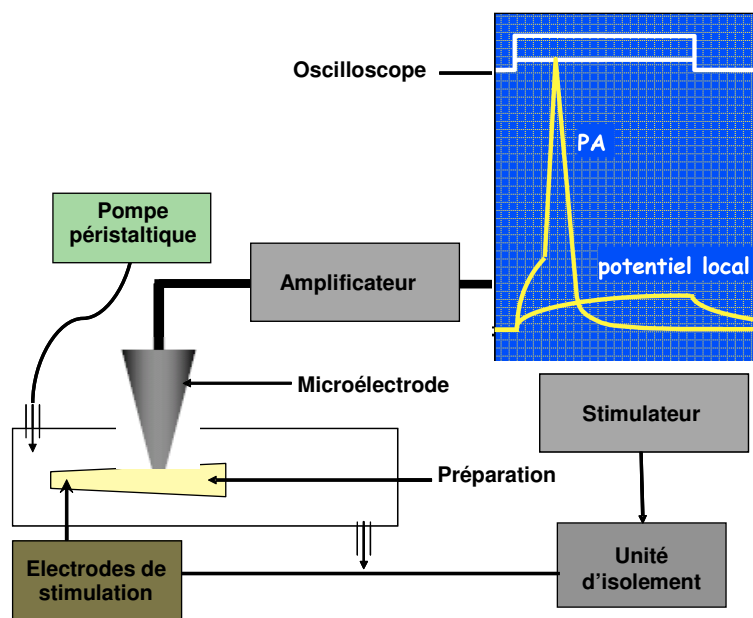


Figure 29 : Schéma du montage expérimental de microélectrode intracellulaire.

La microélectrode est empalée dans le tissu, et c'est la différence de potentiel entre le milieu intracellulaire et l'électrode de référence qui est visualisée sur l'oscilloscope (d'après <http://www.sante.univ-nantes.fr/med/physio/2008chapitre04.pdf>).

4.2. Technique de *Patch-clamp*

4.2.1. Isolement Cellulaire

Beaucoup d'équipes effectuent l'isolement cellulaire des cardiomyocytes de la VP en perfusant la veine avec les enzymes protéolytiques. Pour des soucis économiques (les enzymes coûtent cher), nous avons effectué cet isolement cellulaire composé de deux digestions enzymatiques successives en plongeant les tissus dans une solution contenant les enzymes. Ceci nous a permis de travailler avec des quantités moindres d'enzymes. Les différentes étapes de l'isolement sont les suivantes :

- **Étape 1** : Transfert des tissus dans du KRB (composition voir Tableau IV) pour découpage de l'OG en morceaux et nettoyage des VP ; Rinçage 10 min à 37 °C dans du KRB et EGTA 2 mM (agitation et carbogène).
- **Étape 2** : 1^{ère} digestion. Transfert des VP dans une solution de KRB contenant de la libérase 0,6 U.mL⁻¹ et de la protéase 2 U.mL⁻¹ et de l'OG dans une solution de KRB ne contenant que de la libérase 0,6 U.mL⁻¹ 30 min à 37 °C (agitation et bullage).
- **Étape 3** : Transfert du surnageant S1 dans KRB, EGTA 2 mM et sérum de veau foetal (SVF). Si ce surnageant contient des cellules, l'isolement s'arrête et nous allons directement au dépôt de l'étape 5 sinon passage à la seconde digestion.
- **Étape 4** : 2^{nde} digestion. Resuspension du culot C1 dans KRB ne contenant que de la libérase 0,48 U.mL⁻¹ 10 min à 37 °C (agitation et bullage).
- **Étape 5** : Transfert du surnageant S2 dans une solution de KRB, EGTA 2 mM, SVF et un cocktail d'inhibiteurs de protéases (PIC) ; Dépôt de cette solution sur un coussin de sérum albumine bovine (BSA) puis sédimentation pendant deux heures à température ambiante. Cette sédimentation permet d'obtenir un culot dépourvu quasiment entièrement de débris cellulaires et tissulaires.
- **Étape 6** : Resuspension du culot C2 dans Tyrode 0 Ca²⁺, EGTA 2 mM, SVF et PIC et agitation douce pendant deux heures à température ambiante.
- **Étape 7** : Resuspension du culot C3 (provenant de la sédimentation de S2 sur le coussin de BSA) dans Tyrode 0 Ca²⁺, EGTA 2 mM et SVF.

Après isolement, nous obtenons donc 2 tubes pour chaque tissu :

- Un tube contenant le S3 (provenant de la resuspension de C2) et contenant une densité relativement importante de cellules dans un mélange de cellules vivantes, de cellules mortes et de débris cellulaires et tissulaires.
- Un tube contenant le S4 (provenant de la resuspension de C3) et contenant une densité plus faible de cellules mais avec très peu de débris.

4.2.2. Montage Expérimental et Conditions d'Etude

Les cellules sont installées dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre posée sur la platine d'un microscope inversé (Nikon Instruments Europe, Amstelveen, Pays-Bas). Celui-ci est placé sur une table anti-vibratoire à l'intérieur d'une cage de Faraday afin de diminuer les artéfacts engendrés par le fonctionnement des appareils électriques.

Les électrodes utilisées pour l'étude sont élaborées à l'aide d'une étireuse verticale (modèle PC-10, Narishige International Europe, Londres, Royaume-Uni) à partir d'un programme composé de deux étapes de chauffage et d'étirement du capillaire en borosilicate de 1,5 mm de diamètre externe GC150TF-15, Harvard Apparatus France, Les Ulis, France). Elles sont remplies du MIP (composition, voir 2.1.) juste avant leur utilisation et leur résistance est $3 \pm 0,1 \text{ M}\Omega$. L'électrode est alors insérée dans la tête de l'amplificateur (modèle CV202AU, Axon Instruments, CA, USA). Celle-ci est connectée à un amplificateur (Axopatch 200A, Axon Instruments, CA, USA) et le signal est directement visualisé sur l'oscilloscope (Gould 20 MHz type 1421, HBM Genesis HighSpeed, Darmstadt, Allemagne).

Le signal électrique est ensuite transféré à une interface analogique/numérique (Digidata 1200, Axon Instruments, CA, USA). Ainsi numérisé, il est visualisé sur l'ordinateur au moyen du logiciel d'acquisition pClamp (version 9.0, Axon Instruments, CA, USA). Ce même logiciel est utilisé ultérieurement pour l'analyse des données à l'aide du programme d'analyse Clampfit (Axon Instruments, CA, USA).

Lorsque l'électrode pénètre dans le bain, comme avec la technique de microélectrode, un potentiel de jonction se forme, compensé là encore par une fonction de l'amplificateur.

L'électrode est approchée doucement de la cellule choisie à l'aide d'un macromanipulateur (Burleigh PZ301, EXFO chez DIPSI Industrie, Châtillon, France). Lorsque l'électrode touche la cellule (nous préférons dire « caresser » la cellule), une légère succion est appliquée à l'aide d'une seringue de verre. Cette succion permet d'établir un scellement hermétique ou *seal* résultant de liaisons électriques de très forte résistance (supérieure à $1 \text{ G}\Omega$) entre le verre de l'électrode et la membrane. Une fois le *seal* établi, une deuxième succion est appliquée afin de rompre la zone membranaire située dans la pointe de

l'électrode. Cette configuration, appelée « cellule entière » (Figure 30) permet d'enregistrer des courants ioniques de l'ordre du picoampère (pA). Lorsque le patch est rompu, il est nécessaire de compenser la capacité membranaire et la résistance série (composée de la résistance d'électrode et de la résistance d'accès due à l'accolement de lambeaux membranaires sur les faces internes de l'électrode) grâce à deux fonctions de l'amplificateur.

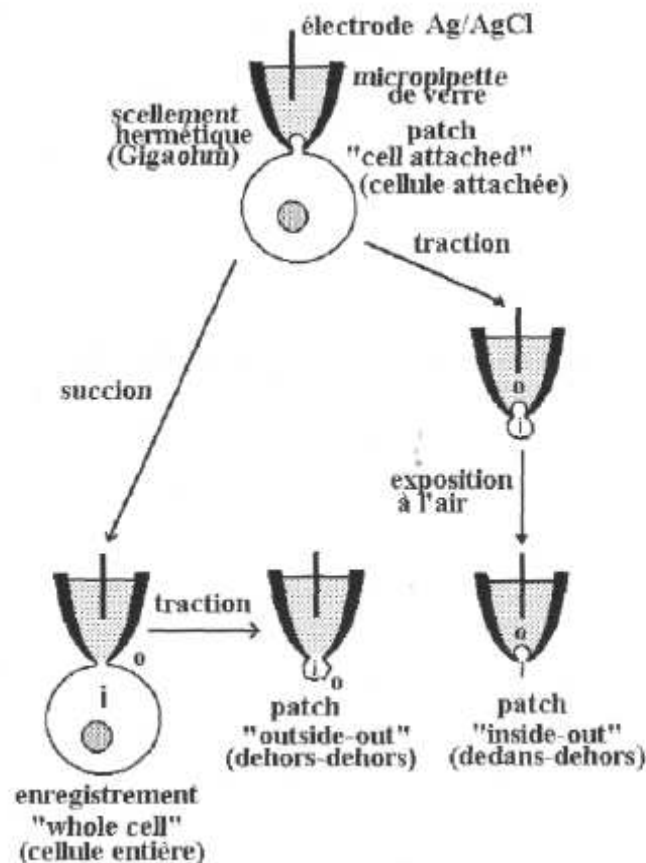


Figure 30 : Schéma représentant les différentes configurations de *patch-clamp*.

(d'après (D'Alché, 2003).

Les changements du milieu sont effectués par gravitation à l'aide d'une électrovanne. L'aspiration du milieu est assurée par une pompe à vide. Les expériences ont été effectuées à température ambiante (~22 °C).

5. Protocoles et Analyse des Résultats

5.1. Etudes de Contractilité

5.1.1. Effets Inotropes des Agonistes Adrénérgiques

Il est important d'étirer les préparations (oreillette, lambeau ou anneau de VP) pour obtenir une tension de référence qui permet d'obtenir environ 90 % de la contraction maximale (suivant la Loi de Frank Starling).

Les différentes préparations sont soumises à l'action de réactifs pharmacologiques à des concentrations croissantes et cumulées, ou choisies de façon aléatoire. Des courbes concentrations-effets sont réalisées en utilisant divers agonistes en absence ou en présence d'antagonistes. La prise en compte de l'effet inotrope provoqué par l'ajout de l'agoniste a lieu au maximum de l'effet pour chaque concentration.

L'amplitude des contractions induites par l'agoniste est exprimée en pourcentage de l'amplitude de la contraction contrôle (amplitude relevée avant l'ajout de tout réactif pharmacologique). Un ajustement non linéaire d'une équation logistique (simple) aux données expérimentales est réalisé afin de déterminer l'effet inotrope maximal de l'agoniste et l'EC₅₀ (concentration à laquelle on obtient 50 % de l'effet maximal) de cet agoniste. L'ajustement est réalisé en utilisant le logiciel Origin (version 6.0, OriginLab, Northampton, MA). L'équation utilisée est la suivante : $y = A_{\max} + \{(A_{\min} - A_{\max})/[1 + (EC_{50}/x)^p]\}$ (logistique). Dans cette équation :

- $A_{\max}$ correspond à l'amplitude maximale
- $A_{\min,i}$ correspond à l'amplitude minimale de la composante i considérée
- $EC_{50,i}$ correspond à l'EC₅₀ de la composante i considérée
- x est la concentration utilisée.

L'ensemble des tests de significativité a été réalisé à l'aide du logiciel Sigmaplot (version 3.5). Pour cela nous avons utilisé de manière conjointe le test-t de Student et une analyse de variance à un ou deux facteurs validée par l'utilisation d'un test post hoc tel que le test de Tukey. De manière générale, lorsque le n expérimental est trop faible le logiciel signale l'impossibilité d'effectuer un test paramétrique sur nos valeurs, des tests non

paramétriques tels que les tests de Mann Whitney ou de Friedman (analyse de variance des petits échantillons) sont alors utilisés. Dans l'ensemble et en fonction des tests effectués, des valeurs de $p < 0,05$ (*) ont été considérées comme significatives.

5.1.2. Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Automatique Catécholaminergique Observée sur la VP

En collaboration avec les laboratoires Servier qui nous l'ont gracieusement fournie, nous avons étudié l'effet de l'ivabradine (bloqueur sélectif du courant I_f) sur l'activité automatique catécholaminergique observée sur la VP de Rat. L'ivabradine est ce que l'on appelle un « opened-channel inhibitor » ou inhibiteur de canaux ouverts. Il n'était donc pas possible d'effectuer un pré-traitement. Nous avons donc superfusé la NA afin d'induire une activité automatique sur la VP. Après 30 minutes de stabilisation de l'activité automatique, nous avons superfusé l'ivabradine à la concentration de 10^{-6} M pendant 90 minutes. C'est la durée nécessaire à cette concentration d'ivabradine pour atteindre un effet stable. Au bout de 90 minutes, nous avons relevé les éventuels changements au niveau de :

- La durée des salves
- La période entre deux salves
- L'organisation des salves :
 - La fréquence au début de la salve
 - La fréquence maximale durant la salve
 - La fréquence à la fin de la salve

Nous avons utilisé l'oreillette droite (OD) possédant une activité spontanée sinusale comme contrôle de l'effet bradycardisant de l'ivabradine.

5.1.3. Etude de l'Activité Déclenchée sur la SVC

Devant l'impossibilité d'induire une activité automatique catécholaminergique sur la SVC du rat, nous avons cherché si une autre forme d'activité arythmogène était présente au niveau du manchon de cette veine. Nous avons recherché une éventuelle activité déclenchée.

Pour cela, nous avons effectué une stimulation à haute fréquence (entre 1 et 8 Hz) pendant 60 sec sur des anneaux de SVC et de VP naïves ou sous des concentrations d'isoprénaline comprises entre 10^{-9} M et 10^{-6} M. puis nous avons regardé si à l'arrêt de la stimulation une activité était alors déclenchée.

5.2. Etude du PA par Microélectrode Intracellulaire

Le terme de potentiel membranaire de repos (RMP) est une notion propre à notre équipe. Nous définissons ici deux termes qui seront souvent utilisés par la suite (Figure 31) :

- Le potentiel diastolique (DP) correspond à la valeur du potentiel en fin de repolarisation lorsque la préparation est stimulée. C'est la valeur de potentiel référence lorsque l'on arrête la stimulation.

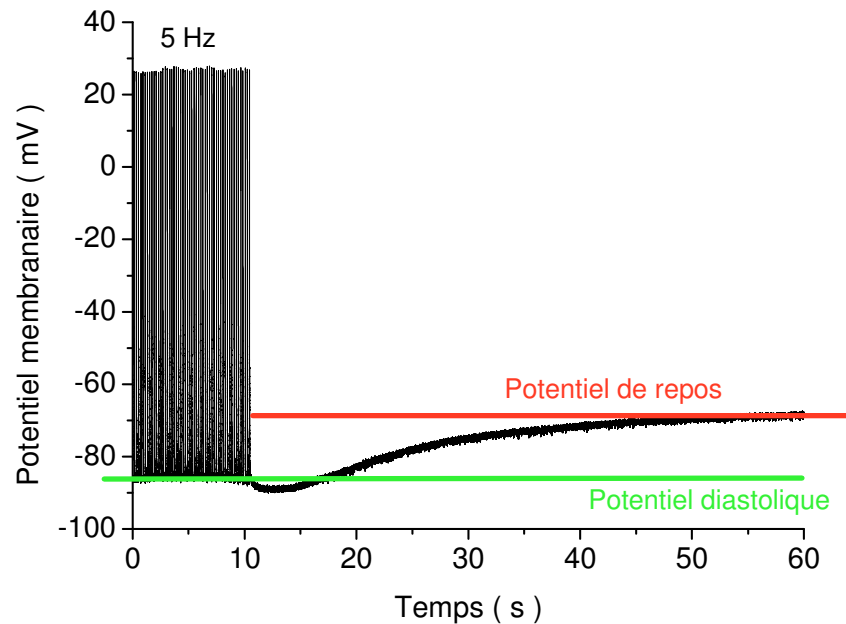


Figure 31 : Protocole d'étude du potentiel de repos suite à l'arrêt de la stimulation

Présentation de la notion de potentiel diastolique et de potentiel de repos.

- Le RMP correspond au potentiel qui s'installe lorsque la stimulation est arrêtée. La valeur de ce potentiel est généralement mesurée une minute après, mais pour certains protocoles, nous avons suivi son évolution au cours du temps en fonction des réactifs pharmacologiques superfusés.

5.2.1. Effets des Agonistes Adrénergiques et du Vieillissement sur le PA d'OG et de VP

Lorsque l'empalement est réussi, on vérifie qu'il se maintient et cette période permet à l'activité électrique enregistrée de se stabiliser.

Dans ce travail, nous avons étudié l'influence des réactifs pharmacologiques (agonistes α_1 -adrénergiques pour corrélérer les résultats obtenus en contractilité) et du vieillissement sur le décours du PA.

Pour cela, une étude de population de PA a été réalisée pour chaque condition. Lorsque le PA semble à l'état stable, on enregistre 10 PA successifs. On retire ensuite l'électrode de la préparation puis on réitère le protocole. Pour l'OG, nous avons enregistré des PA à une fréquence de stimulation de 2 Hz. Quant à la VP, nous avons travaillé à une fréquence de stimulation de 2 Hz pour l'étude sur l'activité automatique catécholaminergique et à 5 Hz pour l'étude sur l'influence du vieillissement. Cette fréquence nous a permis d'enregistrer des PA à chaque empalement dans les VP d'animaux âgés, ce qui n'était pas le cas à une fréquence plus faible. Les paramètres du PA qui ont été étudiés sont :

- L'amplitude maximale du PA ($A_{\max}$)
- La durée du potentiel d'action à 90 % (APD_{90}) et à 20 % (APD_{20}) de repolarisation.
- Le potentiel diastolique
- La vitesse maximale de dépolarisation (phase 0) du potentiel d'action ($V_{\max}$)

5.2.2. Etude de l'Evolution du RMP

Lorsque l'empalement se maintient, on observe une période de stabilisation durant une minute puis on arrête la stimulation provoquant la mise en place d'une conductance de fond (correspond à l'activité des pompes et des échangeurs) qui après une période d'adaptation se stabilise à une valeur de potentiel que nous avons appelé « potentiel de repos » (il n'y a plus de stimulation).

Ce potentiel transmembranaire est plus polarisé dans l'oreillette que dans la veine. Nous avons étudié l'effet des agonistes (NA et cirazoline) adrénergiques en présence ou non des antagonistes sélectifs des α_1 - et β_1 -AR (prazosine et aténolol respectivement) sur le RMP. Pour l'étude en présence des antagonistes, ceux-ci sont superfusés sur la préparation, après 10 minutes de stabilisation du RMP. Après 10 minutes encore, l'agoniste est ajouté à la solution superfusée. Nous avons également étudié l'effet du baryum (bloqueur du courant I_{K1}) sur le RMP suivant le même protocole.

Après l'arrêt de la stimulation, la valeur du potentiel de repos est mesurée toutes les minutes et on suit son évolution en fonction des différentes solutions superfusées (Figure 32).

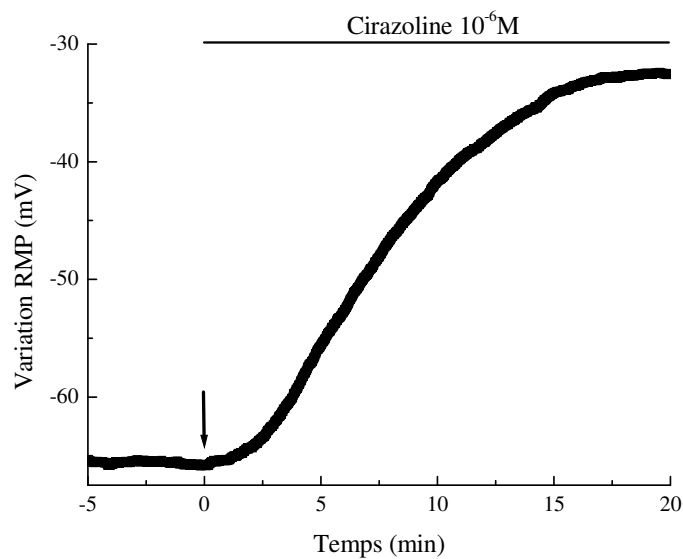


Figure 32 : Evolution du potentiel de repos en fonction du temps.

Le temps 0 correspond au moment où la superfusion du réactif débute (flèche). Ici, la cirazoline est superfusée à la concentration de 10^{-6} M sur un lambeau de VP.

Les contractions des préparations ne favorisent pas la qualité des enregistrements en provoquant des artéfacts de mouvements le plus souvent localisés dans la phase de repolarisation tardive du PA. Ces artéfacts rendent les enregistrements inexploitable car ils modifient les caractéristiques du PA, objet de la première partie de notre étude. Les contractions des préparations perturbent aussi l'étude du RMP. Lors de l'évolution de ce potentiel après l'arrêt de la stimulation, des contractions spontanées (ou extrasystoles) peuvent survenir (surtout sur l'OG). Celles-ci peuvent provoquer un saut du potentiel de membrane qui soit se restabilise à une valeur différente de la précédente soit provoque la sortie de l'électrode. Dans les deux cas, l'enregistrement est de mauvaise qualité et ne peut être analysé.

5.3. Etude du Courant Sensible au Baryum par la Technique de *Patch-clamp*

Pour cette dernière étude, nous avons travaillé sur des cellules isolées enzymatiquement d'OG et de VP (voir 4.2.1.).

Nous avons utilisé deux protocoles afin de caractériser ce courant sensible au Ba^{2+} :

- Une rampe de potentiel de -140 mV à +20 mV avec une vitesse de dépolarisation de $10 \text{ mV} \cdot \text{sec}^{-1}$. Nous avons utilisé une telle vitesse afin d'inactiver les courants entrants activés par la dépolarisation (notamment les courants sodique et calciques). Un tel protocole permet d'enregistrer les courants instantanés de la cellule qui ici ne doivent être que des courants potassiques.
- Des créneaux de potentiels de 10 mV en commençant à -140 mV jusqu'à +20 mV d'une durée de 200 msec. Là encore, nous avons besoin d'inactiver les courants activés par la dépolarisation. C'est pourquoi chaque créneau est précédé d'un test-pulse à -40 mV d'une durée de 50 msec. Dans ce protocole, nous enregistrons le courant généré en fin de pulse.

La Figure 33 schématise ces deux protocoles.

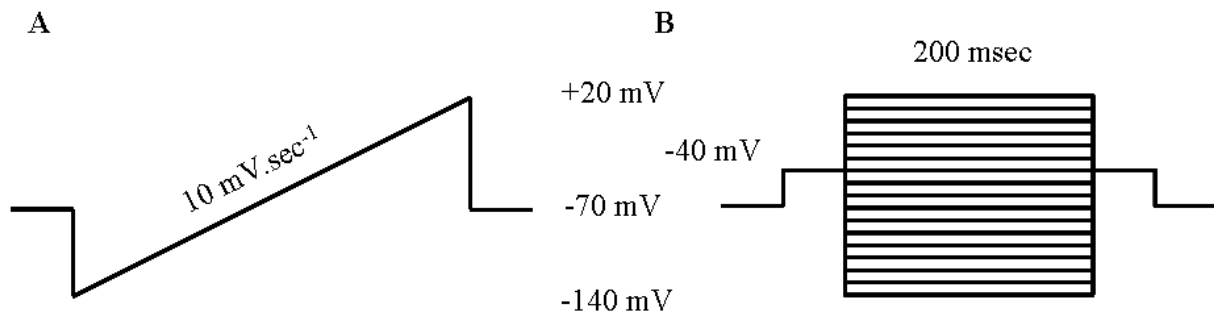


Figure 33 : Schéma des protocoles utilisés pour les expérimentations de *patch-clamp*.

A : Rampe de potentiel ; B : Créneaux de potentiel.

Troisième partie

Résultats – Discussion

1. Activité Automatique Catécholaminergique dans la VP

1.1. Activité Automatique

Moins de la moitié des études traitant de la physiologie des VP et de leur implication dans l'induction de FA montre une activité automatique intrinsèque des cardiomyocytes de ces veines. Celle-ci reste donc aujourd'hui controversée. La présence d'une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP dépend de l'espèce considérée.

Chez le Lapin, la grande majorité des études montre une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP où le taux de cellules automatiques varie entre 20 et 80 %. Dans tous les cas, les PA automatiques enregistrés présentent une phase 4 de dépolarisation lente diastolique suggérant l'activation de courants tels que I_f ou I_{NCX} (Chen *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2006 ; Wongcharoen *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2007 ; Lo *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2008 ; Chang *et al.*, 2008). Chez le Chien en revanche, très peu d'études montrent une activité automatique intrinsèque dans le manchon de cardiomyocytes des VP où le taux de cellules automatiques varie entre 40 et 70 %. Enfin, chez le Rat, aucune activité automatique n'a été observée. De plus, l'existence de facteurs favorisant une quelconque activité automatique tels que la présence du courant I_f ou encore une activité augmentée de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} n'a jamais été montrée.

L'activité spontanée observée dans certains cardiomyocytes de VP est modulée par différents facteurs. Une stimulation rapide des oreillettes, l'hormone thyroïdienne, la température, l'éthanol, l'AngII et le TNF α induisent notamment une plus forte incidence des EAD et DAD ainsi qu'une augmentation de la fréquence de l'activité automatique observée (Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2007).

1.2. Activité Automatique Induite

La majorité des travaux réalisés sur les VP et plus précisément sur la physiologie des cardiomyocytes des VP montre une absence d'activité automatique intrinsèque de ces cellules. Néanmoins, une activité automatique ou déclenchée au niveau des VP peut être induite soit par une stimulation sympathique ou parasympathique, soit par une stimulation électrique à haute fréquence ou forte amplitude.

Chez le Chien, la stimulation conjointe des neurones sympathiques et parasympathiques induit des EAD à l'origine d'une activité automatique rapide dans les VP (Patterson *et al.*, 2005). Cette activité est totalement bloquée par l'antagonisme des β_1 -AR et partiellement bloquée par l'antagonisme des récepteurs muscariniques à l'ACh (AChR).

Chez le Lapin, une stimulation électrique à haute fréquence (3.3 Hz) induit une salve de PA spontanés. Cette activité spontanée est diminuée par une déplétion du Ca^{2+} du RS ou une inhibition de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou des canaux Cl^- . Par contre, cette activité est augmentée par une stimulation β -adrénergique (Honjo *et al.*, 2003).

Chez le Cobaye, la NA peut induire une activité automatique rythmique basse fréquence au niveau de la VP (Cheung, 1981).

Chez le Rat, une stimulation électrique de forte amplitude induit une activité automatique rapide dans la VP et l'OG mais pas dans le ventricule. Cette activité est bloquée par l'utilisation de l'atropine (antagoniste sélectif des AChR) mais pas par l'utilisation du propranolol (antagoniste sélectif des β -AR). Cette stimulation électrique permet donc la libération locale d'ACh qui induit une hyperexcitabilité du tissu concerné, VP ou OG (Miyachi *et al.*, 2005).

Nous avons montré au laboratoire que la superfusion de NA sur un lambeau (ou un anneau) de VP induit une activité automatique (Maupoil *et al.*, 2007). Cette activité automatique apparaît en salves, est indépendante de toute stimulation électrique (Figure 34). L'induction de cette activité automatique nécessite la stimulation conjointe des α_1 - et des β_1 -AR puisque l'utilisation d'antagonistes sélectifs de ces 2 sous-types de récepteurs (la prazosine et l'aténolol, respectivement) prévient l'apparition de celle-ci (Maupoil *et al.*, 2007). Sur l'OG, la superfusion de NA n'induit qu'un PIE et en aucun cas d'activité automatique. Cette activité apparaît en salves et est sous le contrôle d'une stimulation conjointe des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques (Maupoil *et al.*, 2007).

L'objectif de ce travail a été de déterminer les effets de la stimulation catécholaminergique sur le RMP et le PA de VP et d'OG de Rat et de caractériser électrophysiologiquement l'activité automatique induite par la NA sur la VP.

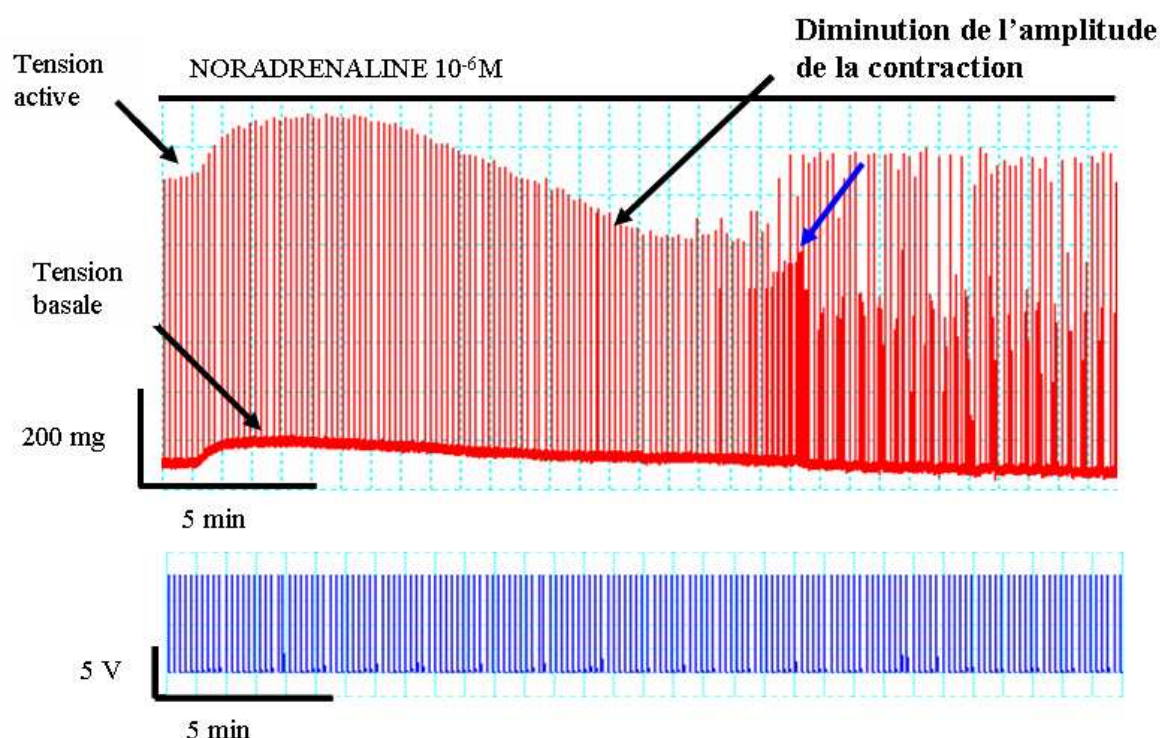


Figure 34 : Superfusion de NA à 10^{-6} M sur un lambeau de VP.

Tracé expérimental obtenu avec le logiciel Chart. Le lambeau de VP est soumis à une stimulation électrique de champ à la fréquence de 0,1 Hz (représentée en bleu). La tension basale est due à l'activité des CML et la tension active correspond à la contraction des cardiomyocytes évoquée par la stimulation électrique. Sur la VP, la NA induit un effet inotrope biphasique (PIE suivi d'une diminution de l'amplitude de la contraction) avant l'apparition d'une activité automatique (flèche bleue) en salves, indépendante de la stimulation électrique.

Cette étude a donné lieu à la publication d'un article dans *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* en 2009, présenté ci-après.

1.3. Conclusion

Dans cette étude, nous avons pu mettre en évidence des différences claires dans l'électrophysiologie du manchon de cardiomyocytes de la VP par rapport à l'OG chez le Rat. Tout d'abord, le RMP des cardiomyocytes de la VP est dépolarisé par rapport à l'OG. Sur les deux tissus, la superfusion de NA induit un effet biphasique sur le RMP : une hyperpolarisation résultant de la stimulation des β_1 -AR suivie d'une dépolarisation due à la stimulation des α_1 -AR. Ces effets sont beaucoup plus importants sur la VP que sur l'OG. Sur la VP, la dépolarisation est suivie de l'apparition d'une activité automatique en salves composées de PA dits « lents ». Cette activité n'est jamais observée sur l'OG. De plus, cette activité automatique nécessite la stimulation conjointe des deux types de récepteurs adrénergiques.

2. Etude de 2 Effecteurs Possibles des α_1 - et β_1 -AR : le Courant I_{K1} et le Courant I_f

2.1. Le Courant I_{K1}

Le RMP d'une cellule cardiaque est proche du potentiel d'équilibre du K^+ , c'est-à-dire environ -80 mV et est maintenu principalement par une conductance potassique de fond I_{K1} (Hirano et Hiraoka, 1986 ; Imoto *et al.*, 1987 ; Giles et Imaizumi, 1988 ; pour revue, Lopatin et Nichols, 2001). Nous avons vu que la membrane des cardiomyocytes de VP est moins polarisée que celle des cardiomyocytes atriaux. Cette dépolarisation du RMP des cellules de VP par rapport aux cellules atriales pourrait donc être due à une différence au niveau de cette conductance potassique. Celle-ci pourrait s'expliquer par :

- Une différence d'expression de la protéine-canal (Melnik *et al.*, 2005) entre les 2 tissus.
- Une différence de densité du courant I_{K1} entre les cellules atriales et de VP (Chen *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Ehrlich, 2003 #9)).

La stimulation α_1 -adrénergique induit une diminution du courant I_{K1} sur le ventricule de Lapin (Fedida *et al.*, 1991), de Chien (Wang *et al.*, 2001) ; (Sosunov *et al.*, 2004), l'oreillette de Lapin (Braun *et al.*, 1992), de Rat (Jahnel *et al.*, 1991) et d'Homme (Sato et Koumi, 1995) ainsi que sur un système d'expression (Zitron *et al.*, 2008). Il a également été montré qu'une stimulation α_1 -adrénergique induit une diminution de la conductance potassique de fond globale (g_K) sur des fibres de Purkinje (Hauswirth *et al.*, 1976 ; Shah *et al.*, 1988). Une telle diminution de I_{K1} ou de la g_K induit alors une dépolarisation membranaire ainsi qu'une augmentation de l'APD. Cette dépolarisation membranaire peut alors favoriser la survenue d'arythmie (Sosunov *et al.*, 2004).

Dans ce travail, nous avons tout d'abord caractérisé l'effet de l'inhibition du courant I_{K1} (en utilisant le Ba^{2+}) sur le RMP de lambeaux isolés de VP et d'OG par la technique de microélectrode intracellulaire, afin de le comparer à l'effet de la stimulation α_1 -adrénergique.

Le deuxième objectif de cette étude a été de déterminer l'implication du courant I_{K1} dans la relative dépolarisation des cardiomyocytes de VP par rapport aux cellules atriales.

Pour cela, nous avons comparé le courant sensible au Ba^{2+} (I_{Basens} , apparenté à I_{K1}) de cardiomyocytes isolés de VP et d'OG par la technique de *patch-clamp* en configuration cellule entière.

2.1.1. Effet du Ba^{2+} sur le RMP de Lambeaux Isolés de VP et d'OG

Pour évaluer l'effet du Ba^{2+} sur le RMP des cardiomyocytes de VP et d'OG, nous avons utilisé la technique de microélectrode intracellulaire sur des lambeaux isolés des 2 tissus. Là encore, seuls les empilements montrant des PA possédant un pic positif ont été conservés. Après l'arrêt de la stimulation électrique, une période de stabilisation du RMP d'au moins 10 minutes a été observée. Ensuite, des solutions de concentrations de Ba^{2+} comprises entre 2.10^{-5} à 5.10^{-4} M ont été superfusées.

Des expériences préliminaires au cours desquelles nous avons effectué des courbes concentrations-effets de Ba^{2+} ont montré qu'il était possible d'induire une dépolarisation similaire à celle observée sous cirazoline sur la VP. Cette dépolarisation induite par le Ba^{2+} est observée sur les deux tissus comme le montre la Figure 35.

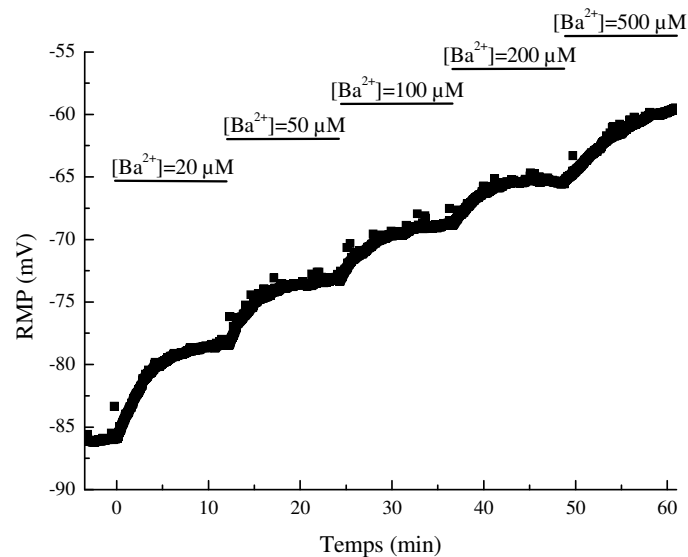


Figure 35 : Effet du Ba^{2+} sur le RMP de l'OG de Rat.

Enregistrement obtenu par la technique de microélectrode intracellulaire en utilisant des concentrations croissantes et cumulées de Ba^{2+} .

On peut voir que la dépolarisation augmente avec la concentration de Ba^{2+} . A 500 µM, le RMP atteint environ -60 mV. Cette valeur représente une dépolarisation du RMP d'environ

25 mV. Cette valeur est beaucoup plus importante que celle correspondant à la dépolarisation induite par une concentration de cirazoline maximale (1 μ M).

Par la suite, nous avons comparé l'effet du Ba^{2+} entre l'OG et la VP (Figure 36).

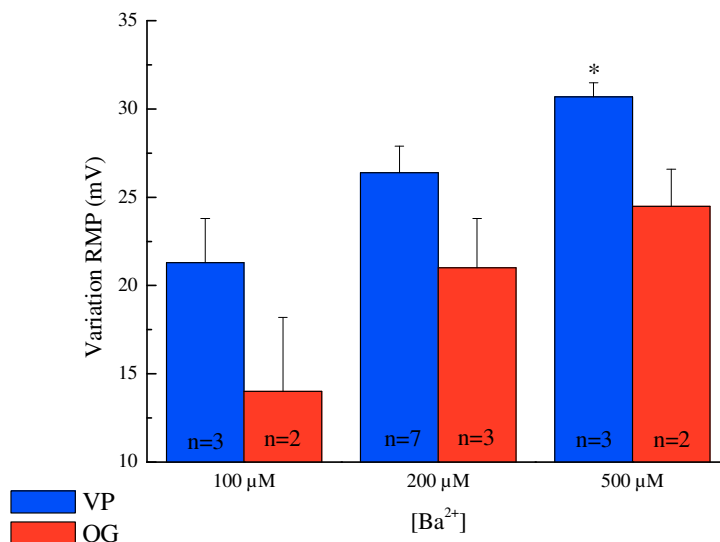


Figure 36 : Effet du Ba^{2+} sur le RMP de la VP et l'OG en fonction de sa concentration.

* : $p < 0,05$ par rapport à OG 500 μ M et à VP 100 μ M.

La dépolarisation induite par le Ba^{2+} augmente avec la concentration. En effet, elle est plus importante à 500 μ M qu'à 100 μ M de Ba^{2+} (NS sur l'OG mais $p < 0,05$ sur la VP). Sur l'OG, elle passe de $+14 \pm 4$ mV à 100 μ M à $+24,5 \pm 2,1$ mV à 500 μ M. Sur la VP, elle passe de $+21,3 \pm 2,5$ mV à 100 μ M à $+30,7 \pm 0,8$ mV à 500 μ M. Cette dépolarisation est donc plus importante sur la VP que sur l'OG quelle que soit la concentration de Ba^{2+} . Néanmoins, cette différence n'est significative que pour 500 μ M ($p < 0,05$). La dépolarisation du RMP induite par 500 μ M de Ba^{2+} est donc similaire à celle induite par une stimulation α_1 -adrénergique sur la VP ($+36,7 \pm 0,8$ mV sous 1 μ M de cirazoline).

Les cardiomyocytes de la VP possèdent un RMP moins polarisé que les cardiomyocytes atriaux et le Ba^{2+} semble plus efficace pour diminuer le RMP sur la VP que sur l'OG. Nous avons donc essayé de quantifier le courant sensible au Ba^{2+} sur des cardiomyocytes isolés des deux tissus par la technique de *patch-clamp* en configuration cellule entière.

2.1.2. I_{Basens} des cardiomyocytes isolés de VP et d'OG

Le premier point important à noter est qu'il nous est possible d'isoler des cardiomyocytes de VP et d'OG comme le montre la Figure 37. Maintenant qu'il nous est possible d'isoler des cardiomyocytes de l'OG et de la VP, nous pouvons quantifier le courant sensible au Ba^{2+} sur les deux types cellulaires en utilisant deux concentrations de Ba^{2+} :

- 200 μM : cette concentration induit une dépolarisation quasi-maximale.
- 2 mM : pour être certain de bloquer entièrement I_{K1} .

Pour quantifier le courant I_{Basens} et le comparer entre les 2 types cellulaires, nous avons utilisé 2 protocoles :

- Une rampe de voltage entre -140 et +20 mV à la vitesse de 10 mV.sec⁻¹ afin que les courants entrants activés par la dépolarisation ne « parasitent » pas nos enregistrements. Ce protocole permet d'enregistrer les courants instantanés qui ne sont potentiellement que des courants potassiques.
- Un protocole de voltage imposé à l'aide de créneaux de potentiels de 10 mV entre -140 et +20 mV d'une durée de 200 msec. Le courant qui nous intéresse étant enregistré en fin de pulse.

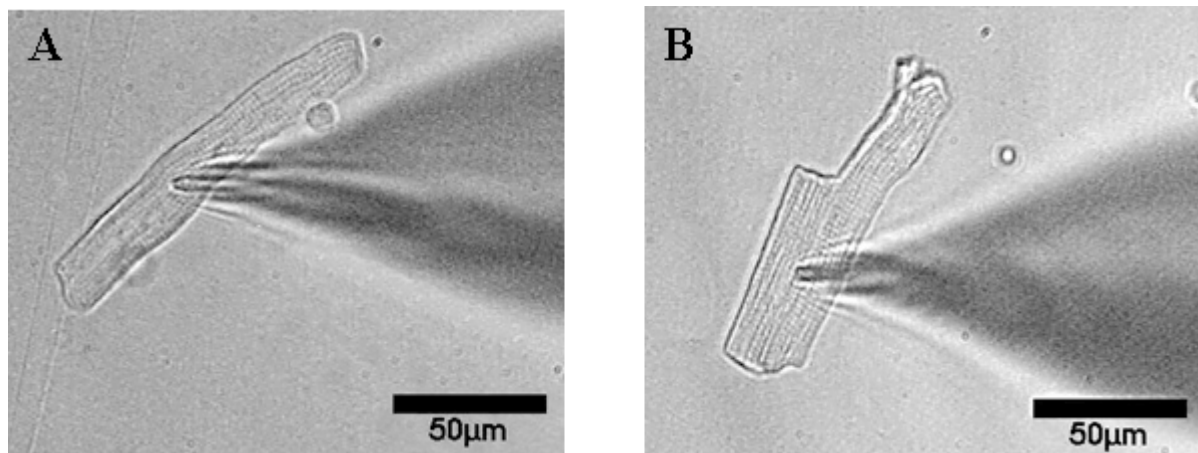


Figure 37 : Photographies de cardiomyocytes isolés d'OG (A) et de VP (B).

Photographies prises pendant une expérience de *patch-clamp*.

Dans un premier temps, nous avons évalué l'effet de ces deux concentrations de Ba^{2+} sur les courants enregistrés pendant une rampe de voltage ou pendant un protocole de créneaux de potentiels. Les résultats sont résumés dans la Figure 38.

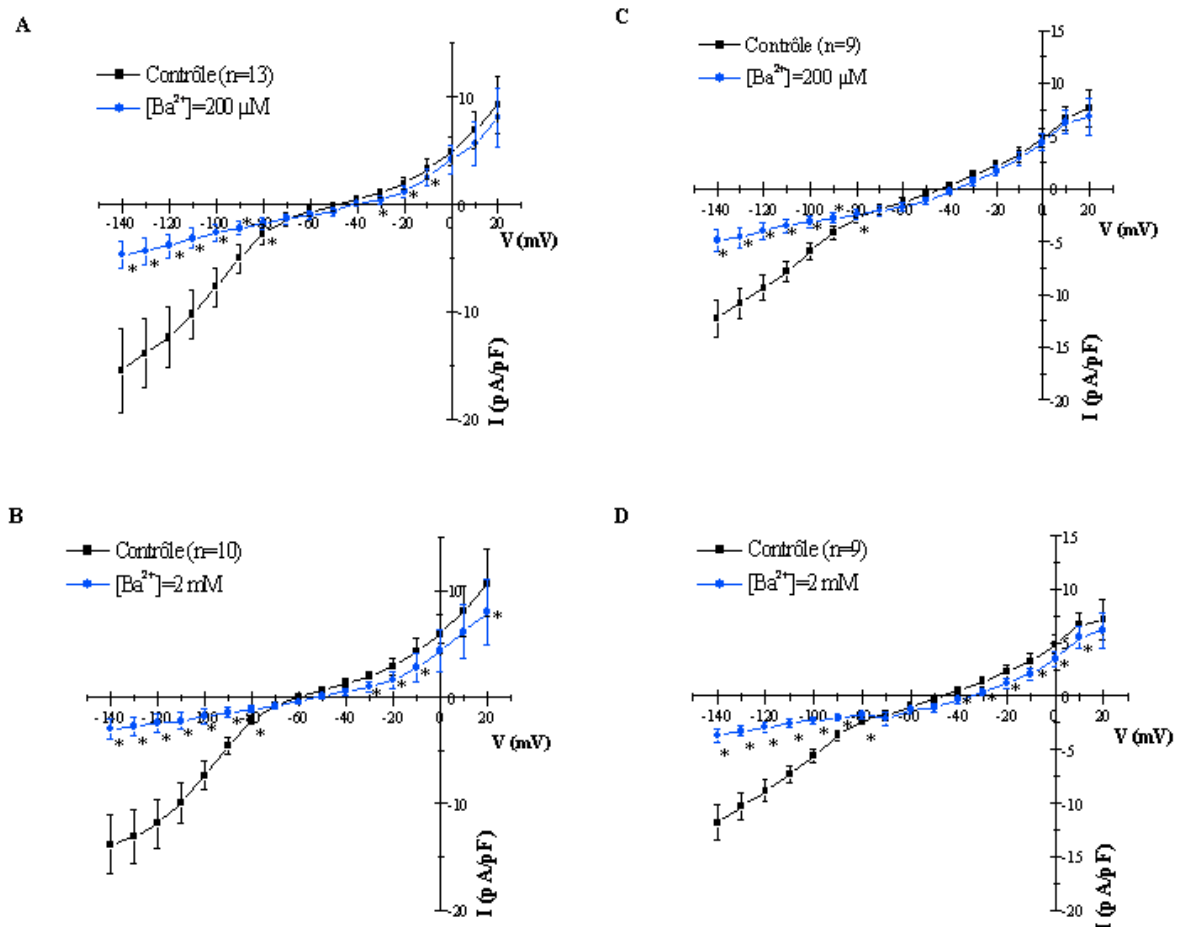


Figure 38 : Courbes courant-voltage (I-V) en absence (noir) ou en présence (bleu) de Ba²⁺.

A : [Ba²⁺] = 200 μM sur l'OG ; B : [Ba²⁺] = 2 mM sur l'OG ; C : [Ba²⁺] = 200 μM sur la VP ; D : [Ba²⁺] = 2 mM sur la VP ; * : p < 0,05.

L'application de Ba²⁺ sur des cardiomyocytes isolés de VP et d'OG induit une inhibition des courants entrants observés à des potentiels compris entre -140 mV et -80 mV, quel que soit la concentration utilisée. A 200 μM, le Ba²⁺ induit une inhibition d'environ 70 % du courant enregistré dans cette gamme de potentiels sur l'OG contre environ 55 % sur la VP (p < ?). A 2 mM, le Ba²⁺ induit une inhibition d'environ 80 % de ce courant sur l'OG contre seulement environ 65 % sur la VP. On peut voir enfin que 2 mM Ba²⁺ induit une inhibition partielle des courants sortants observés à des potentiels positifs. Cet effet semble être du à une perte de sélectivité du Ba²⁺ pour le canal potassique rectifiant entrant Kir.

En soustrayant la courbe en présence de Ba²⁺ à celle effectuée en absence de celui-ci, on obtient la courbe I-V de I_{Basens} (Figure 39).

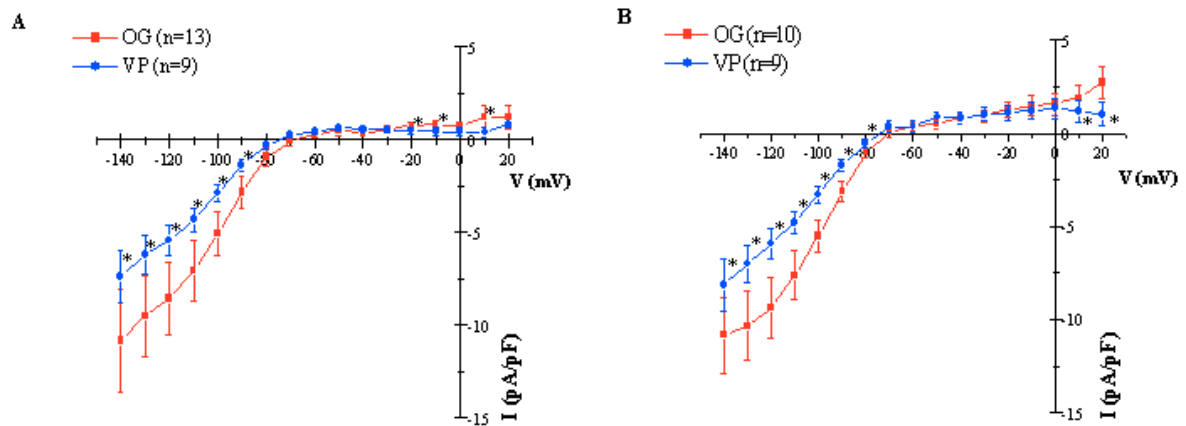


Figure 39 : Courbes I-V de I_{Basens} .

200 μM de Ba^{2+} (A) ou 2 mM (B) sur des cardiomyocytes isolés d'OG (en rouge) et de VP (en bleu) ; * : $p < 0,05$.

Pour une concentration de 200 μM , I_{Basens} est négatif pour des potentiels inférieurs à environ -80 mV puis est quasiment nul au-dessus de ce potentiel. Il atteint une valeur maximale à -140 mV de $-10,8 \pm 2,8$ pA/pF sur l'OG contre $-7,4 \pm 1,4$ pA/pF sur la VP ($p < 0,05$). Il s'inverse à $-66,5 \pm 4,1$ mV sur l'OG contre $-73 \pm 3,7$ mV sur la VP (NS). Ce courant est significativement plus faible sur la VP que sur l'OG pour des potentiels inférieurs à -80 mV ($p < 0,05$) et compris entre -20 mV et +10 mV ($p < 0,05$).

Pour une concentration de 2 mM, I_{Basens} possède un dérouls similaire que pour une concentration 10 fois plus faible de Ba^{2+} . Néanmoins, une petite différence existe. En effet, pour des potentiels supérieurs à -40 mV, ce courant est positif en présence de 2 mM de Ba^{2+} . Ce phénomène peut traduire une perte de sensibilité de cet ion vis-à-vis du canal potassique Kir. I_{Basens} atteint une valeur maximale à -140 mV de $-10,8 \pm 2,1$ pA/pF sur l'OG contre $-8,2 \pm 1,4$ pA/pF sur la VP ($p < 0,05$). Il s'inverse à $-66,9 \pm 4,1$ mV sur l'OG contre $-72 \pm 3,7$ mV sur la VP (NS). Ce courant est significativement plus faible sur la VP pour des potentiels inférieurs ou égaux à -80 mV ($p < 0,05$) et supérieurs à 0 mV ($p < 0,05$).

2.1.3. Discussion - Conclusion

En résumé, nos résultats montrent :

- Une dépolarisation du RMP concentration-dépendante induite par le Ba^{2+} sur les deux tissus. Cette dépolarisation est plus importante sur la VP que sur l'OG. De plus, elle atteint une valeur maximale similaire à celle observée en réponse à une stimulation α_1 -adrénergique sur la VP.
- Une inhibition du courant entrant généré à des potentiels inférieurs à -80 mV concentration-dépendante induite par le Ba^{2+} sur les deux tissus. Cette inhibition semble être moins importante sur la VP que sur l'OG.
- Un courant sensible au Ba^{2+} I_{Basens} présent dans des cardiomyocytes isolés d'OG et de VP de Rat. Ce courant possède une rectification entrante. Il est entrant pour des potentiels inférieurs à environ -70 mV, s'inverse aux environs de ce potentiel puis est proche de 0 pA/pF au-delà. Il s'apparente donc à I_{K1} . Ce courant est plus faible sur la VP que sur l'OG.

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence un courant sensible au Ba^{2+} au niveau de cardiomyocytes isolés d'OG et de VP de Rat. Ce courant I_{Basens} possède une courbe I-V similaire à celle du courant potassique rectifiant entrant I_{K1} (pour revue, (Lopatin et Nichols, 2001)). On peut donc penser que notre courant sensible au Ba^{2+} s'apparente à I_{K1} .

Dans nos conditions expérimentales, ce courant I_{Basens} possède une densité maximale à -140 mV d'environ 11 pA/pF sur l'OG. Cette densité est en accord avec une étude comparant les courants ioniques de cellules ventriculaires et atriales de Rat (Giles et Imaizumi, 1988). Le courant I_{Basens} est plus faible sur les cardiomyocytes isolés de VP que sur les cellules isolées d'OG de Rat. D'autres équipes ont déjà montré un tel résultat chez le Lapin (Chen *et al.*, 2002) et chez le Chien (Ehrlich *et al.*, 2003). Nous avons montré que les cardiomyocytes qui composent le manchon myocardique des VP du Rat possède un RMP dépolarisé par rapport aux cardiomyocytes atriaux (voir 1 ; (Doisne *et al.*, 2009)). Cette relative dépolarisation du RMP pourrait être expliquée par une densité plus faible du courant I_{K1} dans ces cellules myocardiques de la VP du Rat.

Dans la VP du Rat, la stimulation des α_1 -AR induit une forte dépolarisation du RMP (environ +37 mV). Ce RMP atteint donc une valeur d'environ -30 mV sur la VP. Sur l'OG en revanche, une même stimulation de ces récepteurs n'induit qu'une très faible dépolarisation (+6 mV). Il est possible de reproduire cette dépolarisation du RMP sur la VP *via* l'inhibition du courant I_{K1} par le Ba^{2+} . En effet, une concentration de Ba^{2+} maximale (500 μ M) permet

d'induire une dépolarisation du RMP d'environ + 31 mV sur la VP contre environ + 25 mV sur l'OG. Il a été montré que la stimulation α_1 -adrénergique peut induire une diminution du courant I_{K1} , notamment chez le Rat (Ertl *et al.*, 1991) ; (Jahnel *et al.*, 1991). Cette diminution de I_{K1} peut alors provoquer une dépolarisation du RMP. La dépolarisation du RMP induite par la stimulation α_1 -adrénergique pourrait être expliquée en partie par une inhibition du courant I_{K1} . En effet, une inhibition du courant I_{K1} n'est pas suffisante pour induire une dépolarisation du RMP des cardiomyocytes. Pour cela, il faut qu'un courant dépolarisant soit présent. Jahnel et collaborateurs ont montré que la stimulation α_1 -adrénergique induit une dépolarisation du RMP sur l'OG quiescente de Rat (Jahnel *et al.*, 1991). Cette dépolarisation est la conséquence d'une inhibition du courant I_{K1} associée à la présence d'un courant sodique entrant dit « de fenêtre ». Nous avons montré que la dépolarisation α_1 -adrénergique est beaucoup plus importante sur la VP que sur l'OG. Le RMP dépolarisé des cardiomyocytes de VP pourrait entraîner une augmentation de la densité des courants de fond, notamment ce courant sodique de fenêtre et permettre ainsi une dépolarisation α_1 -adrénergique plus importante que dans l'OG.

Une stimulation des α_1 -AR en présence de concentrations extracellulaires faibles de Na^+ permettrait de vérifier l'implication de ce courant sodique de fenêtre dans la dépolarisation α_1 -adrénergique. De plus, il est nécessaire de vérifier que la stimulation α_1 -adrénergique induit une diminution du courant I_{K1} .

2.2. Le Courant I_f

2.2.1. Introduction

Les veines pulmonaires possèdent dans leur structure un manchon de cellules musculaires striées capables de se contracter indépendamment de l'activité auriculaire gauche (Brunton et Fayrer, 1876). L'activation de foyers d'activité ectopique dans ce manchon joue un rôle prépondérant dans le déclenchement et le maintien de la fibrillation auriculaire (FA) (Haissaguerre *et al.*, 1998). Ce trouble du rythme le plus fréquemment rencontré dans la pratique quotidienne cardiologique a des conséquences importantes en termes de morbidité (accident vasculaire cérébral, insuffisance cardiaque) et de mortalité, d'autant plus que cette arythmie est souvent réfractaire à la thérapeutique.

Sur un lambeau isolé de VP de rat, il a été montré au sein du laboratoire que la noradrénaline (NA) induit l'apparition d'une activité automatique (Maupoil *et al.*, 2007). Celle-ci est indépendante de toute stimulation électrique externe, nécessite l'activation

simultanée des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques et est organisée sous forme de salves. L'origine de cet automatisme reste inconnue.

L'activation du courant I_f [généré par les canaux cationiques non sélectifs HCN (« Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide gated channels »)] par une stimulation β_1 -adrénergique figure parmi les différentes hypothèses sur le mécanisme à l'origine de l'activité automatique catécholaminergique observée au niveau de la VP de Rat. En effet, l'expression de ces canaux a été montrée au niveau de la VP notamment chez le Lapin (Chen *et al.*, 2002) et chez le Chien (Chen *et al.*, 2001). De plus, des cellules possédant une activité automatique, dites « pacemaker », ont été retrouvées au niveau de la VP chez différentes espèces (Cheung, 1981) ; (Masani, 1986) ; (Chen *et al.*, 2002) ; (Chen *et al.*, 2009). Il a également été montré que le courant I_f contribue plus largement à la dépolarisation diastolique spontanée des cellules situées dans des zones appelées « pacemakers » secondaires (Lakatta et DiFrancesco, 2009). Ces « pacemakers » secondaires qui incluent les cellules de Purkinje, le nœud auriculo-ventriculaire et les zones d'activation ectopique (notamment des les VP) prennent le relais du nœud sinusal lorsque celui-ci ne fonctionne plus correctement. L'utilisation de l'ivabradine, un inhibiteur sélectif de ces canaux HCN (Thollon *et al.*, 2007), sans effet sur d'autres canaux ioniques comme les canaux calciques et potassiques (Bois *et al.*, 1996) se révèle donc comme particulièrement intéressante.

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'effet de l'inhibition du courant I_f par l'ivabradine sur cet automatisme généré par la NA sur la VP de rat.

2.2.2. Contrôle de l'Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Spontanée de l'OD

Après une période de stabilisation de 30 minutes, seules les préparations ayant une fréquence ≥ 4 Hertz (Hz) ont été conservées et la fréquence de contraction est enregistrée en continu. L'anneau isolé d'OD est ensuite superfusé avec une solution contenant 10^{-6} M d'ivabradine pendant 90 minutes au minimum (Figure 40).

La fréquence de contraction de l'OD en conditions basales était de $4,38 \pm 0,25$ Hz.

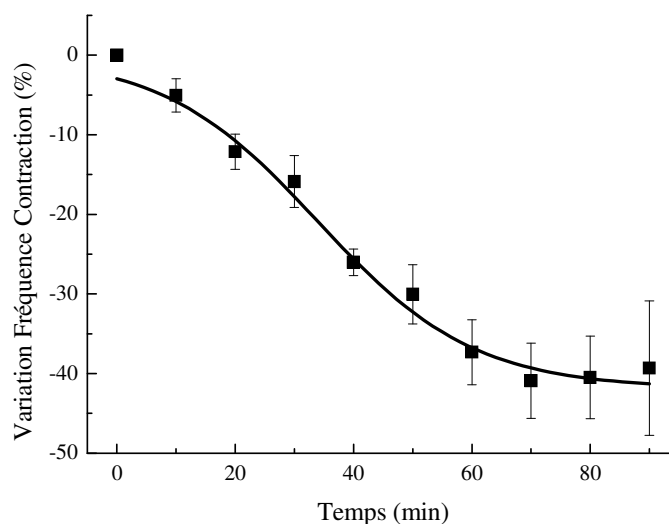


Figure 40 : Effet de l'ivabradine sur la fréquence de contraction de l'OD de Rat.

[ivabradine] = 10^{-6} M (n = 6).

Sur l'OD de Rat, l'ivabradine à la concentration de 10^{-6} M induit une diminution de la fréquence de contraction en fonction du temps. Le maximum de l'effet correspondant à une diminution d'environ 40 % de la fréquence est atteint après 70 minutes. Ce résultat est en accord avec ceux déjà publiés de Thollon et collaborateurs (Thollon *et al.*, 2007) montrant que l'ivabradine à la concentration de $0,56 \times 10^{-6}$ M induisait une diminution de la fréquence de contraction d'OD isolée de rat d'environ 40 % après 70 minutes d'incubation. Ainsi, les effets de l'ivabradine sont retrouvés dans nos conditions expérimentales.

2.2.3. Effet de l'Ivabradine sur l'Activité Automatique Catécholaminergique

L'effet de l'ivabradine a été évalué sur 12 anneaux isolés de VP présentant des salves d'activité automatique induites par la superfusion de NA à la concentration de 10^{-5} M. Plusieurs paramètres de l'activité automatique induite par la NA ont été étudiés (Figure 41) :

- la durée des salves en secondes
- la période des salves en secondes
- l'organisation des salves à travers 4 caractéristiques :
 - la fréquence maximale de contraction à l'intérieur des salves en Hz
 - la durée pour atteindre cette fréquence maximale en secondes
 - les fréquences de contraction au début et à la fin de la salve en Hz

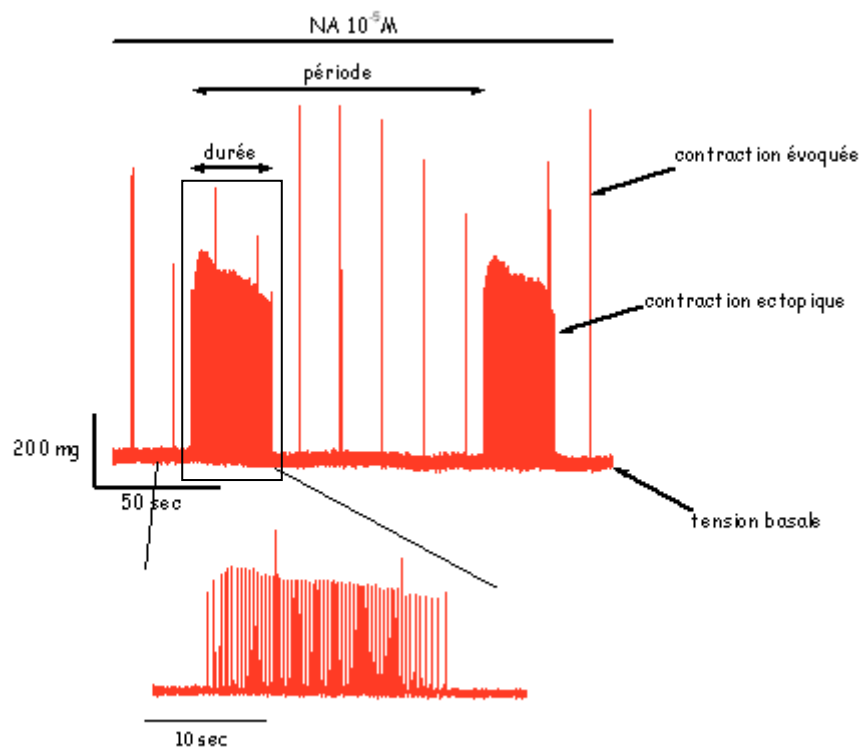


Figure 41 : Salves de contractions automatiques sous $NA\ 10^{-5}M$ sur la VP de Rat.

Tracé expérimental obtenu à partir du logiciel Chart ; contraction évoquée : contraction des cellules musculaires striées de la VP évoquée par une stimulation électrique à la fréquence de stimulation de 0,1 Hz.

L'ivabradine ne modifie pas l'incidence des salves puisque toutes les préparations en présentaient après 90 minutes de superfusion de cette molécule.

La Figure 42 montre que l'ivabradine n'exerce aucun effet sur la période des salves. La période moyenne des salves est de $80,07 \pm 7,4$ sec sous NA et de $74,73 \pm 6,83$ sec après 90 minutes de superfusion d'ivabradine.

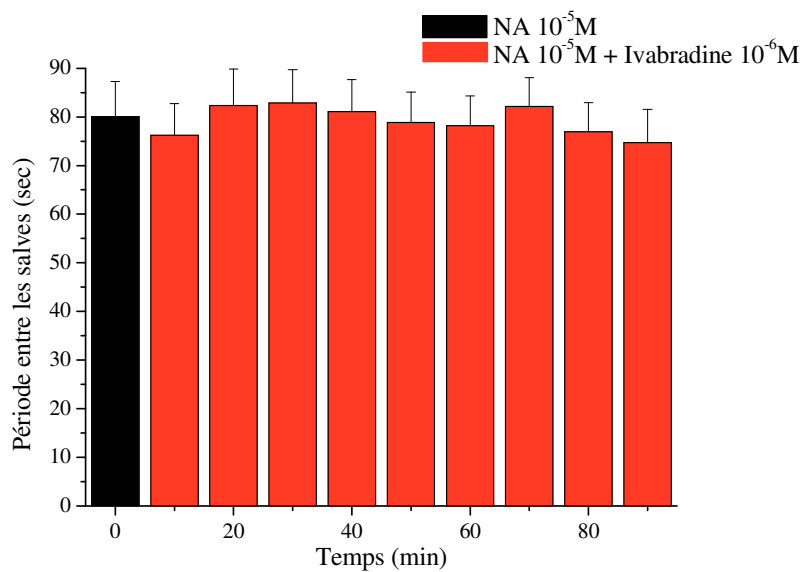


Figure 42 : Variation de la période des salves sous ivabradine 10⁻⁶M.

L'ivabradine ne modifie pas significativement la durée des salves (Figure 43). Celle-ci est de $23,28 \pm 0,57$ sec sous NA et de $22,43 \pm 1,41$ sec après 90 minutes de superfusion d'ivabradine.

L'ivabradine ne modifie pas non plus significativement l'organisation des salves (Figure 43). En effet, ni la fréquence de contraction maximale ($4,26 \pm 0,04$ Hz sous NA et $4,23 \pm 0,07$ Hz après 90 minutes de superfusion d'ivabradine), ni la durée pour atteindre cette fréquence maximale ($6,16 \pm 0,17$ sec contre $5,38 \pm 0,16$ sec), ni les fréquences de contraction en début ($2,13 \pm 0,04$ Hz contre $2,3 \pm 0,09$ Hz) et fin de salve ($2,14 \pm 0,05$ Hz contre $2,07 \pm 0,07$ Hz) ne sont modifiées.

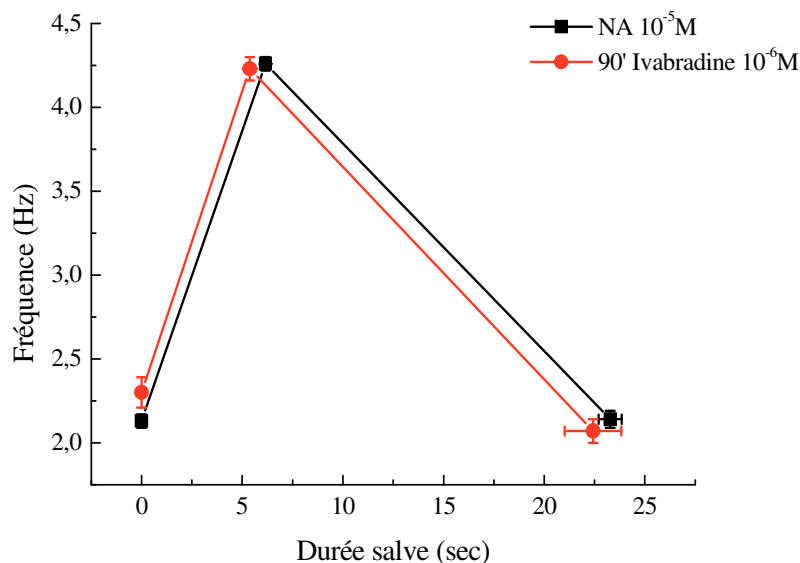


Figure 43 : Effet de l'ivabradine 10^{-6} M sur la durée et l'organisation des salves.

2.2.4. Discussion – Conclusion

Dans nos conditions expérimentales, l'ivabradine à la concentration de 10^{-6} M, induit une diminution de 40 % de la fréquence de contraction de l'OD de Rat. Ce résultat est en accord avec les précédentes études menées sur cette molécule (Thollon *et al.*, 2007).

L'activité automatique observée au niveau de la VP de Rat nécessite la stimulation conjointe des α_1 - et des β_1 -AR. Les canaux HCN étant activés par l'AMPC (dont la production est augmentée suite à la stimulation β_1 -adrénergique), on peut donc légitimement penser que ce courant I_f dit « pacemaker » est impliqué dans la genèse de cette activité automatique catécholaminergique. Celle-ci est générée à des potentiels très dépolarisés. En effet, elle apparaît aux alentours de -50 mV (voir 1 ; (Doisne *et al.*, 2009)). A ce potentiel, il semble malheureusement que tous les canaux HCN soient inactivés (Baruscotti *et al.*, 2005) ; (Thollon *et al.*, 2007), donc le courant I_f doit donc être nul. De plus, il semble que les canaux HCN4 (qui est l'isoforme majeure sous-tendant le courant I_f) ne soient pas exprimés au niveau des VP chez le Rat (Yamamoto *et al.*, 2006). Ce n'est donc pas étonnant de ne retrouver aucun effet de l'ivabradine sur l'activité automatique catécholaminergique observée sur la VP de Rat. Le courant I_f n'est donc pas impliqué dans l'automatisme induit par la NA au niveau de la VP du Rat.

Quel(s) est(sont) alors le(s) mécanisme(s) responsable(s) de cet automatisme catécholaminergique ? Dans la partie consacrée à l'étude du courant I_{K1} et de son implication

dans la dépolarisation α_1 -adrénergique, nous avons émis l'hypothèse que cette dépolarisation pourrait être due en partie à un courant de fenêtre sodique plus important dans la VP que dans l'OG. Jahnel et collaborateurs ont montré l'augmentation de la concentration intracellulaire de Na^+ induite par une stimulation α_1 -adrénergique active l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX ; (Jahnel *et al.*, 1991). Cet échangeur permet alors la sortie du Na^+ en excès dans la cellule et l'entrée de Ca^{2+} . Cette entrée de Ca^{2+} dans la cellule peut alors induire une libération de ce même ion du RS permettant la genèse d'une activité automatique. Il est également possible que la stimulation des β_1 -AR induise une augmentation cet échange $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Pabbathi *et al.*, 2002). La stimulation des β_1 -AR peut également entraîner une phosphorylation des canaux calciques de types L et T et des récepteurs à la ryanodine (RyR) du RS. Cette phosphorylation induit alors un gain de fonction de ces canaux calciques (le RyR est en quelque sorte un canal calcique du RS) qui peuvent alors générer des libérations spontanées de Ca^{2+} du RS et permettre l'apparition d'une activité automatique.

2.3. Conclusion

Chez le Rat, les cardiomyocytes de VP possèdent un courant sensible au Ba^{2+} (apparenté à I_{K1}) plus faible que les cardiomyocytes atriaux. Cette différence peut expliquer la relative dépolarisation du RMP des cardiomyocytes de VP par rapport aux cellules atriales.

L'inhibition du courant I_{K1} par le Ba^{2+} induit une dépolarisation du RMP sur l'OG et la VP du Rat. Cette dépolarisation est plus importante sur la veine que sur l'OG. Sur la VP, lorsque l'inhibition de I_{K1} est maximale, elle est similaire à celle induite par une stimulation α_1 -adrénergique.

L'ivabradine, inhibiteur sélectif du courant I_f , à la concentration de 10^{-6} M induit une diminution de l'activité spontanée de l'OD de Rat d'environ 40 %. A cette concentration, elle ne modifie pas l'incidence et l'organisation des salves de l'activité automatique catécholaminergique observée au niveau de la VP du Rat. Le courant I_f n'est donc pas impliqué dans cette activité automatique.

3. Activité Déclenchée dans la VCS

Les VC peuvent être le site de foyers ectopiques à l'origine de FA (Tsai *et al.*, 2000). Dès la fin du 19^{ème} siècle, Brunton et Fayrer observèrent une activité automatique dans les VC chez le Chat, indépendante de l'activité des cavités cardiaques (Brunton et Fayrer, 1876). Il a été montré que la VCI peut posséder une activité automatique attribuée néanmoins à la présence d'une partie du nœud sinusal (MacLeod et Hunter, 1967). Cependant, ces auteurs n'ont pas réussi à enregistrer le moindre PA dit *pacemaker*, c'est-à-dire présentant une phase 4 de dépolarisation lente diastolique. Dans cette étude, la VCS était quiescente en dehors de toute stimulation électrique externe. Dans ce qui apparaît comme la seule étude effectuée sur des cardiomyocytes isolés de VCS, la moitié des cellules isolées possèdent une activité automatique intrinsèque (Chen *et al.*, 2002). Le RMP de ces cellules est moins polarisé que celui des cellules quiescentes. Ces cellules automatiques semblent présenter une incidence plus élevée d'EAD et de DAD. Néanmoins, un courant transitoire sortant (I_{to} impliqué dans le début de la repolarisation du PA) plus important dans les cellules automatiques semble être la seule différence électrophysiologique entre les 2 types cellulaires. Malheureusement, aucune comparaison n'est effectuée avec un autre tissu cardiaque comme l'oreillette droite.

Nous avons montré au laboratoire que la superfusion de NA sur un lambeau (ou un anneau) de VP induit une activité automatique en salves (voir 1 ; Maupoil *et al.*, 2007 ; Doisne *et al.*, 2009).

L'objectif de ce travail a été de déterminer si une telle activité automatique pouvait être enregistrée au niveau de la VCS.

Cette étude a donné lieu à la rédaction d'un article soumis cette année et présenté ci-après.

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence que contrairement à l'Homme, la VCI du Rat ne présente pas de manchon de cardiomyocytes dans sa structure. Le RMP des cellules de VCS est moins polarisé que celui des cardiomyocytes atriaux. En revanche, il est hyperpolarisé par rapport à celui des cardiomyocytes de la VP. Tout comme dans l'OG et la VP, la NA induit un effet biphasique sur le RMP des cardiomyocytes de la VCS. L'hyperpolarisation induite par la stimulation des β_1 -AR est similaire dans la VCS et la VP. En revanche, la dépolarisation induite par la stimulation des α_1 -AR est moins importante dans la VCS que dans la VP. La NA n'induit pas d'activité automatique en salves sur la VCS, contrairement à la VP. Une activité déclenchée peut être provoquée dans la VCS par une stimulation à haute fréquence et une stimulation des β_1 -AR.

4. Stimulation α_1 -Adrénérergique sur la Contractilité de la VP

La stimulation α_1 -adrénérergique induit des effets inotropes variables en fonction de l'espèce, du tissu considéré, voire des conditions expérimentales. La majorité des études rapporte un PIE (comportant de 1 à 3 phases) en réponse à cette stimulation adrénérergique chez le Rat, le Lapin, le Cobaye et le Chien notamment (pour revue, Terzic *et al.*, 1993 ; Varma et Deng, 2000. Cet effet est initié par le sous-type α_{1B} - chez le Lapin (Takanashi *et al.*, 1991) alors que chez le Rat, c'est l'activation du sous-type α_{1A} - qui prévaut (Gambassi *et al.*, 1991). Un effet inotrope négatif en réponse à la stimulation des α_1 -AR a été décrit chez la Souris (Tanaka *et al.*, 1995 ; Nishimaru *et al.*, 2001 ; McCloskey *et al.*, 2002 ; Varma *et al.*, 2003 ; Roman *et al.*, 2004 ; Hirano *et al.*, 2006) et sur le ventricule de Rat (Kissling *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2006).

A ma connaissance, une seule étude traite des effets inotropes de la stimulation α_1 -adrénérergique sur la VP (MacLeod et Hunter, 1967). Dans ce travail, les auteurs décrivent un PIE en réponse à la stimulation des α_1 -AR.

Nous avons vu dans la première partie consacrée à l'activité automatique catécholaminergique induite sur la VP du Rat que la NA provoque un effet biphasique sur le RMP : une hyperpolarisation suivie d'une dépolarisation. L'hyperpolarisation apparaît en réponse à la stimulation des β_1 -AR puisqu'elle est bloquée par un antagoniste sélectif de ces récepteurs, l'aténolol et reproduite par un agoniste sélectif des β_1 -AR, l'isoprénaline. La dépolarisation apparaît en réponse à la stimulation des α_1 -AR puisqu'elle est bloquée par un antagoniste sélectif de ces récepteurs, la prazosine et reproduite par un agoniste sélectif des α_1 -AR, la cirazoline. Ces effets sont significativement plus importants sur la VP que sur l'OG.

De plus, la NA induit un effet biphasique sur la force de contraction sur la VP : un effet inotrope positif transitoire suivi d'une diminution de l'amplitude de la contraction. Le PIE transitoire apparaît en réponse à la stimulation des β_1 -AR puisqu'il est bloqué par un antagoniste sélectif de ces récepteurs, l'aténolol et est reproduit par un agoniste sélectif des β_1 -AR, l'isoprénaline. La diminution de l'amplitude de la contraction observée ensuite apparaît en réponse à la stimulation des α_1 -AR puisqu'elle est bloquée par un antagoniste

sélectif de ces récepteurs et reproduite par un agoniste sélectif des α_1 -AR, la cirazoline. Sur l'OG, la NA n'induit qu'un PIE maintenu.

La stimulation des α_1 -AR (*via* l'utilisation de la cirazoline) induit une dépolarisation du RMP sur les deux tissus. Cette dépolarisation est beaucoup plus importante sur la VP que sur l'OG. De plus, la cirazoline induit une augmentation de l'APD sur l'OG alors qu'elle entraîne une inexcitabilité de la VP. Cette inexcitabilité semble être une conséquence de la dépolarisation membranaire induite par la cirazoline. En effet, une telle dépolarisation ($+36,7 \pm 0,8$ mV à 10^{-6} M) peut entraîner une inactivation des canaux sodiques rapides responsables de la phase de dépolarisation rapide du PA. Dans cette situation, les cellules concernées deviennent incapables de générer un PA.

Les objectifs de cette étude ont été de caractériser l'effet de la stimulation α_1 -adrénergique sur la contractilité de l'OG et la VP de Rat.

4.1. Courbes Concentrations-Effets de Cirazoline

Ici, nous avons superfusé des concentrations croissantes de cirazoline (de $2 \cdot 10^{-9}$ M à 10^{-6} M) sur des lambeaux isolés de VP et d'OG soumis à une stimulation électrique à la fréquence de 0,1 Hz.

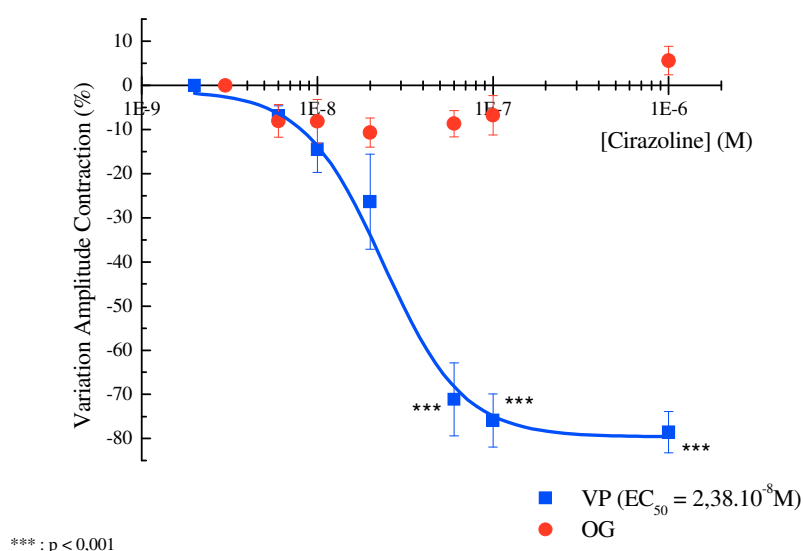


Figure 44 : Courbes concentrations-effets de cirazoline sur l'OG et la VP de Rat.

*** : $p < 0,001$.

La Figure 44 montre les courbes concentrations-effets de cirazoline effectuées sur l'OG et la VP de Rat.

Sur l'OG, la cirazoline n'induit que très peu d'effet inotrope. En effet, ses effets varient entre environ -11 % et +5 % de la contraction basale (NS).

Sur la VP en revanche, les effets de la cirazoline sont beaucoup plus prononcés. En effet, la stimulation des α_1 -AR par la cirazoline induit une diminution de l'amplitude de la contraction concentration-dépendante. Cette diminution atteint $-78,6 \pm 4,6$ % à une concentration de 10^{-6} M ($p < 0,001$). L' EC_{50} est de $2,38.10^{-8}$ M.

4.2. Stimulation α_1 -Adrénérurgique et Fréquence de Stimulation

Dans cette partie, nous avons caractérisé les effets de la stimulation α_1 -adrénérurgique sur la contractilité de l'OG et la VP de Rat en fonction de la fréquence de stimulation. Pour cela, nous avons soumis les préparations à trois fréquences de stimulation différentes : 0,1 Hz, 1 Hz et 2 Hz.

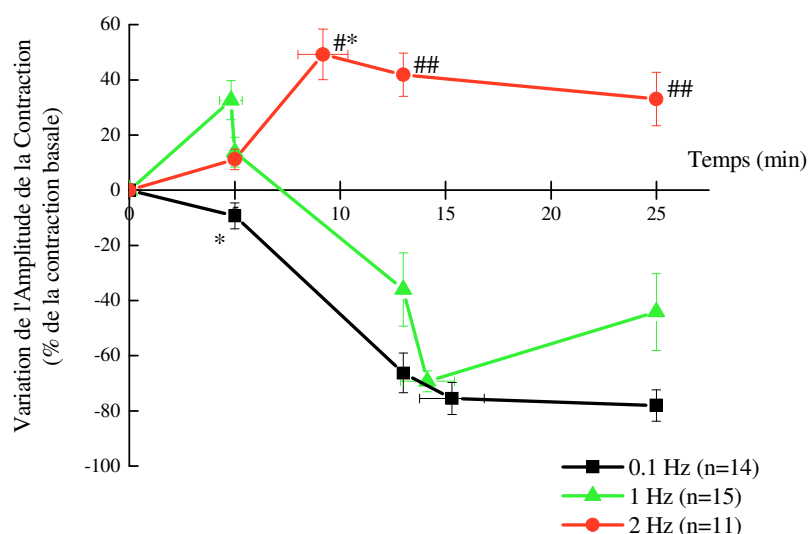


Figure 45 : Effet de la fréquence de stimulation sur la réponse α_1 -adrénérurgique sur la VP.

* : $p < 0,05$; ** : $p = 0,001$; ## : $p < 0,001$.

La Figure 45 montre la variation de la réponse à la stimulation α_1 -adrénérurgique (*via* l'utilisation de 10^{-6} M de cirazoline) en fonction de la fréquence de stimulation sur la VP de Rat.

A une fréquence de stimulation de 0,1 Hz, la cirazoline induit une forte diminution de l'amplitude de la contraction de $-75,5 \pm 5,8$ % au bout de $15,3 \pm 1,5$ minutes de superfusion.

A une fréquence de stimulation de 1 Hz, la cirazoline induit un effet biphasique : un PIE de $+32,6 \pm 7,1 \%$ au bout de $4,8 \pm 0,5$ minutes suivi d'une diminution de l'amplitude de la contraction de $-69,3 \pm 3,8 \%$ (NS par rapport à 0,1 Hz) au bout de $14,1 \pm 1,3$ minutes (NS par rapport à 0,1 Hz). A une fréquence de stimulation de 2 Hz, la cirazoline induit un PIE maintenu de $+49,2 \pm 9,2 \%$ (NS par rapport à 1 Hz) au bout de $9,2 \pm 1,2$ minutes de superfusion ($p = 0,001$ par rapport à 1 Hz).

Sur l'OG, la cirazoline n'induit qu'un PIE-fréquence dépendant. En effet, l'amplitude de la contraction est augmentée de $7,4 \pm 3,8 \%$ à 0,1 Hz, alors qu'elle est augmentée de $41,8 \pm 11,4 \%$ à 2 Hz ($p < 0,05$; résultats non montrés).

4.3. Sous-Type α_1 - Impliqué dans ces Effets

Chez le Rat, c'est le sous-type α_{1A} - qui est impliqué dans les effets inotropes induits par une stimulation α_1 -adrénergique au niveau de la cellule cardiaque (Gambassi *et al.*, 1991). Afin de caractériser le sous-type α_1 - impliqué dans la diminution de l'amplitude de la contraction induite par la stimulation α_1 -adrénergique observée sur la VP, nous avons utilisé un antagoniste sélectif des α_{1A} -AR, le WB-4101. Cet antagoniste a été utilisé à la concentration de 10^{-6} M en pré-traitement ou en post-traitement contre l'effet de la cirazoline (Figure 46 et Figure 47).

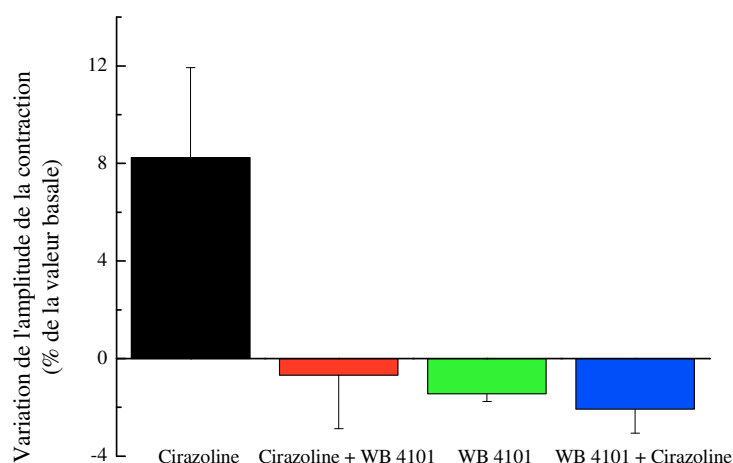


Figure 46 : Effet du WB-4101 contre la cirazoline sur l'OG de Rat.

Le WB-4101 a été utilisé en post-traitement (en rouge) et en pré-traitement (en bleu).

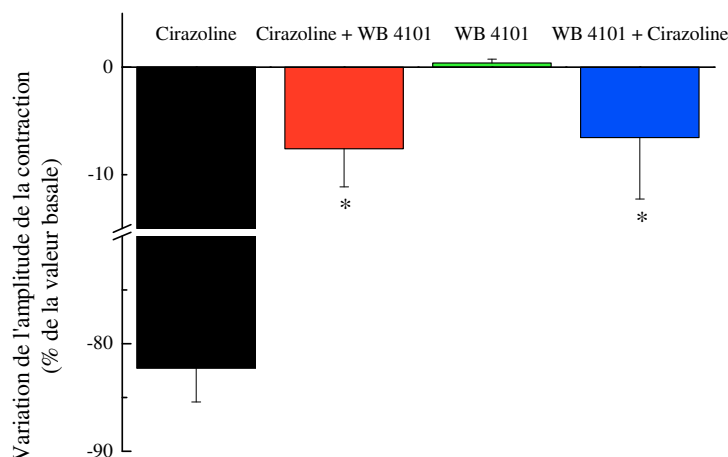


Figure 47 : Effet du WB-4101 contre la cirazoline sur la VP de Rat.

Le WB-4101 a été utilisé en post-traitement (en rouge) et en pré-traitement (en bleu). * : $p < 0,05$.

Utilisé en pré-traitement, le WB-4101 n'a aucun effet sur la contractilité de l'OG et la VP du Rat. Cependant, en présence de cet antagoniste, on n'observe plus les effets de la cirazoline sur la contractilité des deux tissus (NS sur l'OG ; $p < 0,05$ sur la VP).

Utilisé en post-traitement, le WB-4101 reverse quasiment complètement les effets induits par la cirazoline sur l'OG et la VP du Rat ($p < 0,05$).

4.4. Voies de Signalisation

La stimulation α_1 -adrénergique active des voies de signalisation multiples et complexes (voir 3.3. de la partie Revue Bibliographique). Néanmoins, la voie majoritairement activée est dépendante des PKC (pour revue, Terzic *et al.*, 1993 ; Varma et Deng, 2000). C'est pourquoi, nous avons utilisé un inhibiteur (la staurosporine) et un activateur (le PDBu) des PKC afin de déterminer si cette voie de signalisation était impliquée dans les effets de la cirazoline sur la contractilité de l'OG et la VP de Rat.

Dans un premier temps, nous avons cherché à évaluer la concentration efficace de staurosporine pour bloquer la vasoconstriction induite par la cirazoline sur des anneaux d'aorte. Celle-ci était de 10^{-5} M. Ensuite, nous avons superfusé la staurosporine à cette concentration sur des anneaux d'OG et de VP stimulés à la fréquence de 0,1 Hz. Après 30 min, la cirazoline à la concentration maximale de 10^{-6} M a été ajoutée (Figure 48).

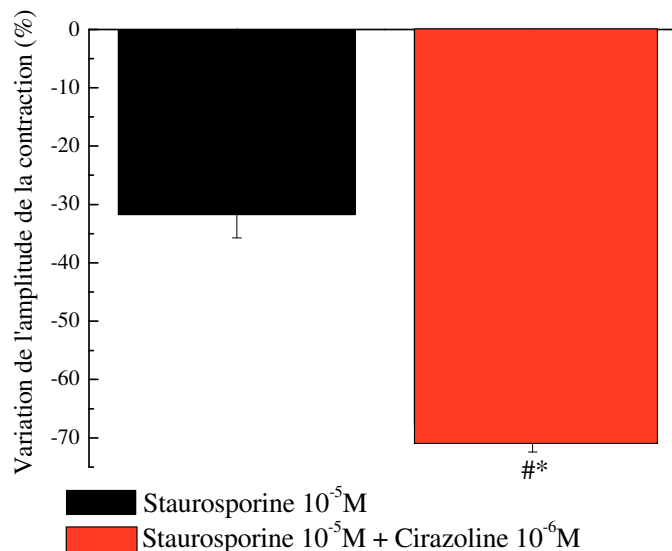


Figure 48 : Effet de la cirazoline en présence de staurosporine sur la contractilité de la VP.

[cirazoline] = 10^{-6} M ; [staurosporine] = 10^{-5} M ; n = 8 ; #* : p < 0,001.

La staurosporine à la concentration de 10^{-5} M induit une diminution significative de l'amplitude de contraction sur la VP ($-31,7 \pm 4$ % ; p < 0,05). En présence de staurosporine, la cirazoline à la concentration de 10^{-6} M induit également une diminution de l'amplitude de la contraction de la VP ($-67,9 \pm 4,5$ %). Cette diminution de l'amplitude de la contraction induite par la cirazoline en présence de staurosporine (à une concentration bloquant la vasoconstriction induite par cette même cirazoline sur des anneaux d'aorte) n'est pas significativement différente de celle induite par 10^{-6} M cirazoline seule ($-75,5 \pm 5,8$ % ; NS).

L'effet inotrope de la cirazoline sur l'OG stimulée à une fréquence de 0,1 Hz n'étant pas significatif, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'implication des PKC dans celui-ci (résultat non montré).

Par la suite, nous avons donc utilisé un activateur des PKC, le PDBu. La superfusion du PDBu à la concentration de 10^{-6} M (Wang *et al.*, 2006) sur un lambeau de VP induit une augmentation de l'amplitude de la contraction basale de $4,9 \pm 2$ %. L'activation maximale des PKC ne nous a pas permis de reproduire l'effet induit par la cirazoline sur la VP. Nous avons donc décidé de vérifier si l'effet de la cirazoline sur la contractilité de la VP était toujours présent malgré une activation maximale préalable des PKC par le PDBu (Jahnel *et al.*, 1991 ; Hirano *et al.*, 2006). Pour cela, nous avons superfusé le PDBu à la concentration de 10^{-6} M sur la VP pendant 30 min puis ajouté la cirazoline à la concentration de 10^{-6} M (Figure 49).

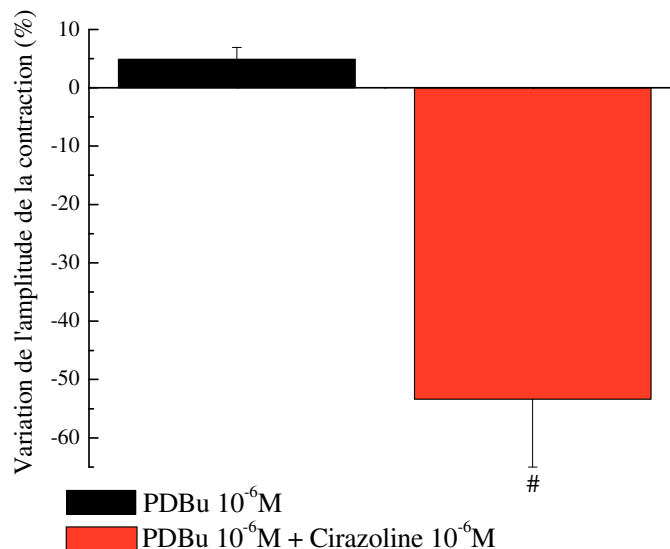


Figure 49 : Effet de la cirazoline en présence du PDBu sur la contractilité de la VP.

[cirazoline] = 10^{-6} M ; [PDBu] = 10^{-6} M ; n = 6 ; # : p < 0,005.

La superfusion de 10^{-6} M de cirazoline en présence de 10^{-6} M de PDBu induit une diminution significative de l'amplitude de la contraction de l'ordre de $-53,4 \pm 11,6$ % (p < 0,005). Cette diminution n'est pas significativement différente de celle induite par 10^{-6} M de cirazoline seule ($-75,5 \pm 5,8$ % ; NS).

La cirazoline conserve son effet sur la contractilité de la VP lorsque les PKC sont préalablement activées ou inhibées. Ces kinases ne semblent donc pas impliquées dans l'effet induit par la cirazoline sur la contractilité de la VP de Rat.

4.5. Discussion - Conclusion

Cette étude montre une différence importante dans la physiologie du manchon myocardique de la VP par rapport à l'OG chez le Rat. En effet, la stimulation des α_1 -AR, et plus précisément des α_{1A} -AR, induit une très forte diminution de l'amplitude de la contraction sur la VP alors qu'elle induit peu ou pas d'effet inotrope sur l'OG. C'est consciemment que je parle de diminution de l'amplitude de la contraction et non d'effet inotrope négatif. Contrairement à l'effet inotrope négatif observé chez la Souris (Tanaka *et al.*, 1995 ; Nishimaru *et al.*, 2001 ; McCloskey *et al.*, 2002 ; Varma *et al.*, 2003 ; Roman *et al.*, 2004 ; Hirano *et al.*, 2006) et sur le ventricule de Rat (Kissling *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2006) en réponse à une stimulation α_1 -adrénergique, l'effet que nous observons semble être une conséquence directe de la forte dépolarisation du RMP induite par les agonistes des α_1 -AR.

En effet, cette dépolarisation est telle qu'elle rend le tissu complètement inexcitable dans nos conditions expérimentales. Nous avons décrit plus tôt que le potentiel diastolique est plus négatif que le RMP sur la VP. Si l'amplitude ou la fréquence de la stimulation électrique est augmentée, alors la diminution de l'amplitude de la contraction induite par la stimulation α_1 -adrénergique est moindre (voir transformé en PIE) ou présente une cinétique plus lente.

Nous nous sommes intéressés aux voies de signalisation activées par cette stimulation α_1 -adrénergique sur l'OG et la VP de Rat. Classiquement, la stimulation des α_1 -AR induit l'activation de la voie $\text{PIP}_2\text{-IP}_3$, DAG-PKC (pour revue, Terzic *et al.*, 1993 ; Varma et Deng, 2000). Nous avons donc cherché à bloquer l'effet de la cirazoline en inhibant les PKC avec la staurosporine et à le reproduire avec un ester de phorbol, le PDBu. Nous avons pu mettre en évidence que ni la staurosporine, ni le PDBu ne préviennent la diminution de l'amplitude de la contraction induite par la cirazoline sur la VP. Ces résultats tendent à prouver que les PKC ne sont pas impliquées dans cet effet. Néanmoins, il nous manque les expériences contrôles sur l'OG. Pour cela, il est nécessaire de travailler à une fréquence de stimulation 2 Hz permettant d'observer un effet inotrope positif significatif de la cirazoline. De plus, il serait peut-être intéressant de vérifier si une éventuelle translocation aux différentes membranes des PKC est activée par une stimulation α_1 -adrénergique par des techniques biochimiques (notamment le Western-blot) et la comparer au résultat obtenu suite à l'activation des PKC par un ester de phorbol. Pour l'OG, ça ne poserait pas de problème. Malheureusement, ce ne serait pas si simple pour la VP. En effet, celle-ci est composée de plusieurs types cellulaires, notamment des cellules endothéliales, des CML et des cardiomyocytes. Il faudrait donc procéder à une séparation de ces types cellulaires, par la technique des billes magnétiques.

Il a également été montré que la MLCK pouvait être activée par une stimulation α_1 -adrénergique indépendamment des PKC (Andersen *et al.*, 2002 ; Wang *et al.*, 2006 ; Zitron *et al.*, 2008). Des expériences préliminaires utilisant un inhibiteur sélectif de la MLCK, le ML-7, ont été menées au laboratoire. Utilisé seul, cet inhibiteur semble induire une forte diminution de l'amplitude de la contraction (résultat non montré). Malheureusement, pour l'instant il nous est impossible de tirer de conclusions quant à son effet vis-à-vis de la stimulation des α_1 -AR. Enfin, les α_1 -AR sont capables d'activer une protéine G_i (Barrett *et al.*, 1993 ; Otani *et al.*, 2001) ou la sous-unité $\beta\gamma$ d'une protéine G (J *et al.*, 2008). Nous pourrions donc tenter d'utiliser des inhibiteurs sélectifs de ces protéines (la PTX et la gallein, respectivement) contre la cirazoline pour vérifier leur implication respective dans la diminution de l'amplitude de la contraction induite par celle-ci.

Des expériences préliminaires menées au laboratoire ont montré un effet de la température sur la cinétique de cette diminution de l'amplitude de la contraction sur la VP. Une diminution de la température induit également un effet moindre ou une cinétique plus lente de l'effet. A titre d'exemple, lorsque la température du bain est descendue à 25 °C, alors il faut attendre près de 90 minutes pour voir débiter l'effet induit par la stimulation des α_1 -AR. Malheureusement, peu d'études ont été consacrées à l'effet de la température sur les réponses à la stimulation α_1 -adrénergique. Il a néanmoins été montré qu'une diminution de la température induit une augmentation de l'amplitude de la contraction, notamment *via* un allongement de l'APD (Reinhardt *et al.*, 1972 ; Kiyosue *et al.*, 1993). Cet effet inotrope positif température-dépendant pourrait s'opposer à la diminution de l'amplitude de la contraction observée sur la VP de Rat. De plus, à faible température, l'activité automatique induite par la NA sur la VP du Rat disparaît. Or, il a été montré que les cardiomyocytes de VP présentent une plus forte arythmogénicité à une température élevée (Chen *et al.*, 2003).

5. Influence de l'Age

Les effets du vieillissement sur l'expression des transcrits ou des récepteurs et les réponses à la stimulation α_1 -adrénergique sont peu décrits. Tout d'abord, l'expression des transcrits des α_1 -AR dans le cœur de Rat ne semble pas modifiée par le vieillissement (Miller *et al.*, 1996), alors qu'elle semble être diminuée dans les vaisseaux chez le Rat (Xu *et al.*, 1997) et doublée chez l'Homme (Rudner *et al.*, 1999). La stimulation α_1 -adrénergique semble induire des effets inotropes moindres, une diminution de la translocation des PKC, ainsi qu'une diminution des transitoires calciques chez des rats âgés (Korzick *et al.*, 2001 ; Montagne *et al.*, 2005).

Le vieillissement augmente le risque de FA (Go *et al.*, 2001). Il a été montré que l'âge induit des modifications électrophysiologiques des cardiomyocytes atriaux (Capasso *et al.*, 1983 ; Escande *et al.*, 1985 ; Anyukhovskiy *et al.*, 2002 ; Dun *et al.*, 2003 ; Wongcharoen *et al.*, 2007a) et notamment :

- Une dépolarisation du potentiel diastolique (DP, potentiel de repos lorsque la cellule est soumise à une stimulation électrique)
- Une augmentation de l'APD
- Une diminution du potentiel au plateau du PA
- Une diminution de I_{CaL} et une augmentation des courants sortants (notamment I_{to})
- Une plus forte amplitude des DAD

Ces différences électrophysiologiques contribueraient à faire du tissu auriculaire d'animaux âgés un meilleur substrat pour développer des arythmies, notamment une FA (Wongcharoen *et al.*, 2007a ; Wongcharoen *et al.*, 2007b). Cependant, l'automaticité médiée par les α -AR sur des fibres de Purkinje de Rat semble être diminuée chez des animaux âgés (del Balzo *et al.*, 1990).

Il semble qu'aucune étude ne se soit intéressée aux effets du vieillissement sur les propriétés électrophysiologiques et contractiles de la VP de Rat et sur la stimulation adrénergique sur ce tissu.

Les objectifs de cette étude ont été d'évaluer l'effet de l'âge sur :

- Les caractéristiques électrophysiologiques (RMP et PA) de l'OG et la VP de Rat.

- Les effets d'un agoniste sélectif des α_1 -AR (la cirazoline) sur la contractilité de l'OG et la VP de Rat.
- L'incidence de l'activité automatique catécholaminergique induite sur la VP de Rat.

5.1. Influence du Vieillissement sur les Propriétés Electrophysiologiques Basales de l'OG et la VP de Rat

Avant d'évaluer l'effet du vieillissement sur les réponses à la stimulation α_1 -adrénergique, il est nécessaire d'en vérifier les effets sur les propriétés électrophysiologiques basales des cardiomyocytes de l'OG et la VP. Pour cela, nous avons comparé le RMP sur des préparations quiescentes et les caractéristiques du PA des cardiomyocytes sur des préparations stimulées des deux tissus dans deux groupes d'âge d'animaux :

- Un groupe d'animaux jeunes, âgés de 10 ± 2 semaines.
- Un groupe d'animaux âgés de 24 ± 2 mois.

5.1.1. Le Potentiel de Membrane de Repos

Les effets du vieillissement sur le RMP des cardiomyocytes d'OG et de VP de Rat sont présentés dans la Figure 50.

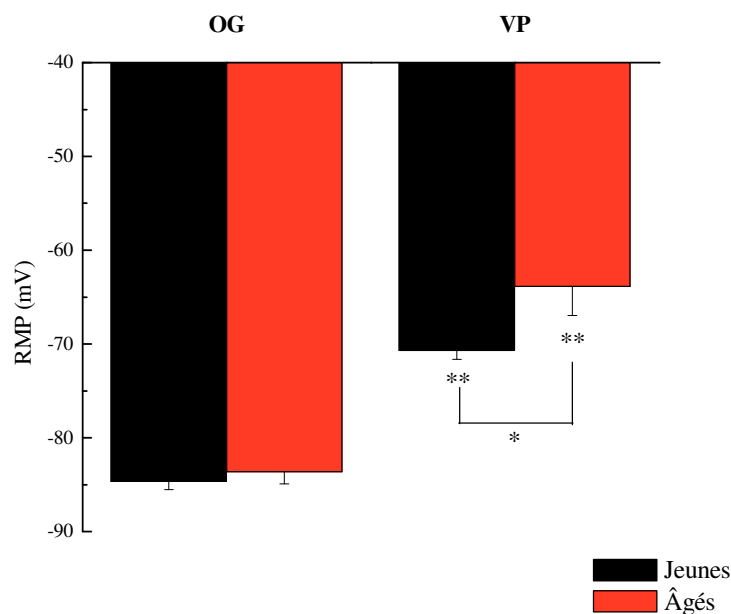


Figure 50 : RMP des cardiomyocytes de l'OG (à gauche) et la VP (à droite).

* : $p < 0,05$; $p < 0,001$.

Sur l'OG, le RMP des cardiomyocytes des animaux jeunes est de $-84,7 \pm 0,9$ mV (n = 19) contre $-83,6 \pm 1,3$ mV (n = 13) chez les animaux âgés (NS). Sur la VP, le RMP est significativement moindre dans les deux groupes par rapport à l'OG ($p < 0,001$). Chez les animaux jeunes, il est de $-70,7 \pm 1$ mV (n = 20) contre $-63,8 \pm 3,1$ mV (n = 12) chez les animaux âgés ($p < 0,05$).

5.1.2. Le Potentiel d'Action

Sur l'OG, les PA ont été enregistrés à une fréquence de stimulation de 2 Hz. Sur la VP en revanche, une telle fréquence de stimulation ne nous permettait pas d'enregistrer des PA au cours de chaque empalement à cause d'un potentiel diastolique (DP) très dépolarisé. Nous avons donc appliqué une fréquence de stimulation de 5 Hz sur la VP afin d'obtenir des PA de « bonne qualité » à chaque empalement. Nous ne comparerons donc les PA qu'en fonction de l'âge et non en fonction du tissu au sein d'un groupe d'âge. Pour cela, nous avons retenu quatre caractéristiques des PA (Tableau V) :

- Le potentiel diastolique (DP) en mV.
- L'amplitude maximale du PA (Amax) en mV.
- La durée du PA à 20 % de repolarisation (APD₂₀) en msec.
- La durée du PA à 90 % de repolarisation (APD₉₀) en msec.

	DP (mV)	Amax (mV)	APD ₂₀ (msec)	APD ₉₀ (msec)
OG Jeunes (n = 29)	$-85,3 \pm 1,1$	$113,8 \pm 1,1$	$3,3 \pm 0,3$	$49,9 \pm 1,9$
OG Âgés (n = 57)	$-81,5 \pm 0,7 \#$	$108 \pm 0,9 **$	$3,1 \pm 0,2$	$41,9 \pm 2,2 **$
VP Jeunes (n = 33)	$-84,6 \pm 1,3$	$100,5 \pm 1,2$	$2,5 \pm 0,1$	$32,9 \pm 1,2$
VP Âgés (n = 46)	$-84,6 \pm 0,6$	$104,5 \pm 1,3$	$2,6 \pm 0,3$	$38,1 \pm 2$

Tableau V : Caractéristiques des PA de l'OG et la VP dans les deux groupes d'animaux.

DP : potentiel diastolique ; ** : $p < 0,01$; # : $p < 0,005$.

Sur l'OG, le DP et l'Amax sont plus faibles chez les animaux âgés que chez les jeunes ($p < 0,005$ et $p < 0,01$, respectivement). De plus, l'APD₉₀ est plus courte chez les animaux âgés que chez les jeunes ($p < 0,05$).

Sur la VP, il n'y a aucune différence significative entre les PA des animaux âgés et des animaux jeunes, au moins pour les quatre caractéristiques retenues. Néanmoins, l'Amax a tendance à être plus importante et l'APD₉₀ a tendance à être plus longue chez les animaux âgés que chez les jeunes, sans être significatif pour autant.

En résumé, sur des préparations quiescentes, le vieillissement induit une dépolarisation du potentiel de membrane de repos sur la VP de Rat mais pas sur l'OG. Sur des préparations soumises à une stimulation électrique externe, le vieillissement induit une dépolarisation du potentiel diastolique, une diminution de l'amplitude maximale du potentiel d'action ainsi qu'un allongement de sa durée sur l'OG de Rat mais pas sur la VP.

5.2. Influence du Vieillissement sur la Genèse de l'Activité Automatique Catécholaminergique et la Dépolarisation α_1 -Adrénérergique sur la VP de Rat

5.2.1. Incidence de l'Activité Automatique Catécholaminergique sur la VP de Rat

Chez les animaux jeunes, la NA à la concentration de 10^{-5} M induit l'apparition d'une activité automatique en salves sur la VP dans 100 % des préparations. En revanche, chez les animaux âgés, la même concentration de NA induit l'apparition d'une même activité automatique sur 85 % des VP (17 préparations sur 20 ; $p < 0,05$; résultat non montré).

Il est plus surprenant de remarquer que chez les animaux âgés, la superfusion de cirazoline à la concentration de 10^{-6} M induit l'apparition d'une activité que l'on qualifie de déclenchée dans 10 VP sur 30 étudiées (33,3 %) contre une seule VP du groupe d'animaux jeunes ($p < 0,001$). Cette activité induite par la cirazoline est dite déclenchée car elle intervient après une stimulation à haute fréquence (5 Hz). Néanmoins, nous n'avons enregistré aucune EAD, ni DAD à l'initiation de cette activité déclenchée. Celle-ci consiste en une pseudo salve de PA (ou d'oscillations du RMP qui n'atteignent pas le seuil permettant de déclencher des PA) qui s'arrête seule au bout d'une quinzaine de sec. L'amplitude des PA (ou

des oscillations) diminue au cours de cette pseudo salve. De plus, le DP diminue au cours de la pseudo salve. Un exemple est représenté dans la Figure 51.

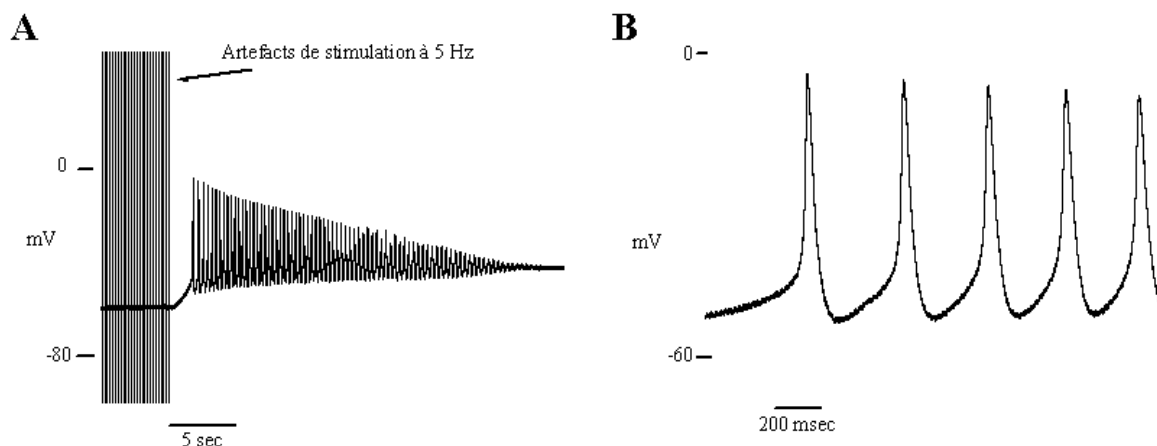


Figure 51 : Activité Déclenchée induite par la cirazoline sur la VP des animaux âgés.

Exemple enregistré par la technique de microélectrode intracellulaire. A : Pseudo salve de PA après une stimulation à une fréquence de 5 Hz. On peut noter ici que la stimulation électrique n'induit pas de PA ; B : Cinq premiers PA de la pseudo salve représentée en A ; [cirazoline] = 10^{-6} M

Il est important de noter que ni la NA, ni la cirazoline (quelle que soit la concentration utilisée) n'induisent une quelconque activité automatique ou déclenchée sur l'OG quel que soit l'âge des animaux (résultat non montré).

5.2.2. Vieillesse et Stimulation α_1 -Adrénergique

L'activité automatique observée sous NA sur la VP de Rat est précédée d'un effet biphasique sur le RMP : une hyperpolarisation induite par la stimulation des β_1 -AR suivie d'une dépolarisation induite par la stimulation des α_1 -AR. Cet effet biphasique sur le RMP est présent sur l'OG mais avec une intensité beaucoup plus faible et n'est pas suivi de l'apparition d'une activité automatique. Nous avons donc évalué l'influence du vieillissement sur cet effet biphasique en utilisant les agonistes sélectifs des deux types de récepteurs adrénergiques : la cirazoline (à la concentration de 10^{-6} M) et l'isoprénaline (à la concentration de 10^{-7} M).

La Figure 52 montre l'effet de la superfusion de 10^{-6} M de cirazoline sur le RMP des cardiomyocytes d'OG et de VP chez des animaux jeunes et des animaux âgés.

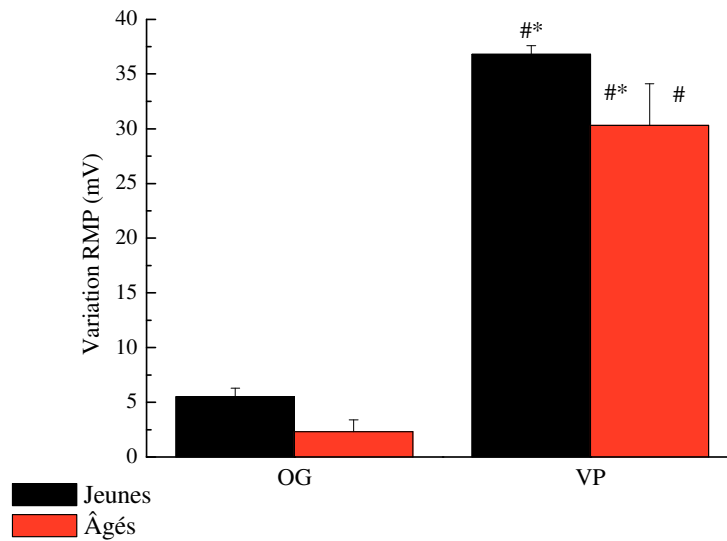


Figure 52 : Effet de 10^{-6} M de cirazoline sur le RMP.

OG (à gauche) et VP (à droite) chez des rats jeunes (en noir) et âgés (en rouge) ; # : $p < 0,005$ par rapport au groupe VP Jeunes ; #* : $p < 0,001$ par rapport à l'OG.

Sur l'OG, la cirazoline induit une très faible dépolarisation non significative du RMP de $+5,5 \pm 0,8$ mV ($n = 6$) chez les animaux jeunes contre $+2,3 \pm 1,1$ mV ($n = 4$) chez les animaux âgés (NS).

Sur la VP, la cirazoline induit une forte dépolarisation du RMP de $+36,8 \pm 0,8$ mV ($n = 9$) chez les animaux jeunes contre $+30,3 \pm 3,8$ mV ($n = 3$) chez les animaux âgés ($p < 0,005$). La cirazoline induit donc une dépolarisation moins importante du RMP des cardiomyocytes de la VP chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes. Cependant, la valeur du RMP atteinte sous cirazoline n'est pas significativement différente entre les deux groupes d'animaux ($-35,5 \pm 0,8$ mV chez les jeunes contre $-38,2 \pm 3,4$ mV chez les âgés ; NS).

Tout comme chez les animaux jeunes, la dépolarisation induite par la cirazoline sur la VP entraîne une inexcitabilité du tissu. Il nous a donc été impossible d'enregistrer des PA dans la VP sous 10^{-6} M de cirazoline. Néanmoins, nous avons effectué des courbes concentrations-effets de cirazoline en contractilité sur la VP (Figure 53).

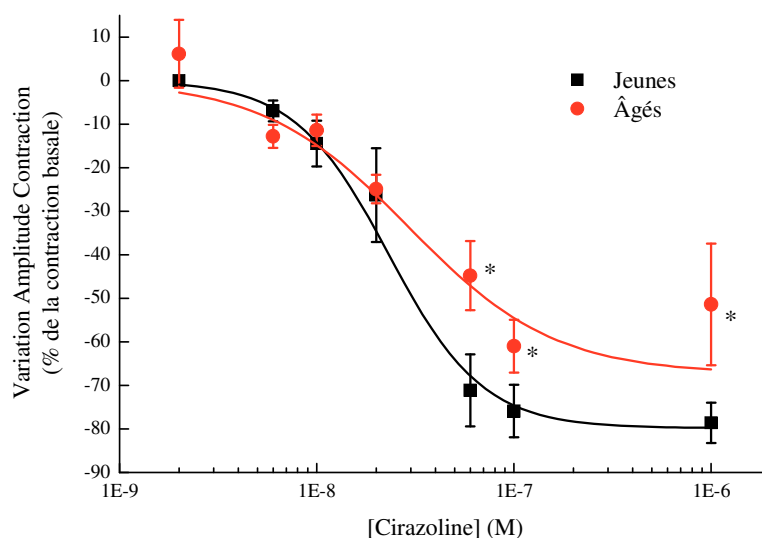


Figure 53 : Courbes concentrations-effets de cirazoline sur la VP.

Rats jeunes (en noir) et rats âgés (en rouge) ; * : $p < 0,05$.

Comme chez les animaux jeunes, la cirazoline induit une forte diminution de l'amplitude de la contraction consécutive à la dépolarisation du RMP sur la VP des animaux âgés. Cependant, cette diminution est moins importante chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes. En effet, elle atteint un maximum de $-78,6 \pm 4,8 \%$ chez les animaux jeunes contre seulement $-51,4 \pm 14 \%$ chez les animaux âgés ($p < 0,05$). Néanmoins, les EC_{50} sont similaires dans les deux groupes : $2,3 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ chez les animaux jeunes contre $2,9 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ chez les animaux âgés (NS).

5.3. Discussion – Conclusion

Dans cette étude, nous avons montré des différences entre les deux groupes d'animaux :

- Chez les animaux âgés, le RMP de la VP est plus dépolarisé que chez les animaux jeunes.
- Le PA des cardiomyocytes de l'OG des animaux âgés présente un DP dépolarisé, une Amax plus faible et une APD_{90} réduite.
- Chez les animaux âgés, l'incidence de l'activité automatique induite par la NA sur la VP est plus faible que chez les animaux jeunes. Néanmoins, la stimulation α_1 -adrénergique induit une activité déclenchée suite à une stimulation électrique

haute fréquence (5 Hz) sur la VP (mais pas sur l'OG) chez les animaux âgés mais pas chez les animaux jeunes.

- Chez les animaux âgés, la stimulation des α_1 -AR induit une dépolarisation du RMP plus faible que chez les animaux jeunes. De plus, la diminution de l'amplitude de la contraction qui en découle est plus faible chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes.

Dans nos conditions expérimentales, le vieillissement induit une dépolarisation du RMP sur la VP mais pas sur l'OG. A ma connaissance, cette dépolarisation du RMP induite par le vieillissement sur la VP de Rat est observée pour la première fois. Le RMP est maintenu à un potentiel proche du potentiel d'équilibre du K^+ par une conductance potassique de fond : I_{K1} (Hirano et Hiraoka, 1986 ; Imoto *et al.*, 1987 ; Giles et Imaizumi, 1988 ; pour revue, Lopatin et Nichols, 2001). Il est possible que le vieillissement induise une diminution de l'expression de la protéine-canal ou simplement une diminution du courant comme c'est le cas pour le courant calcique de type L I_{CaL} et le courant transitoire sortant I_{to} sur l'OD de Chien (Dun *et al.*, 2003). Pour le vérifier, il serait intéressant de caractériser le courant sensible au Ba^{2+} (bloqueur « sélectif » du courant I_{K1}) sur des cellules isolées de VP de rats âgés afin de le comparer à celui présent au niveau des cardiomyocytes isolés de VP de rats jeunes (voir 2.1). Sur l'OG, le vieillissement induit une dépolarisation du DP, une diminution de l'Amax du PA ainsi qu'une réduction de l'APD₉₀. La dépolarisation du DP est en accord avec les résultats observés chez le Rat (Capasso *et al.*, 1983) et chez l'Homme (Escande *et al.*, 1985). Là encore, une diminution des conductances potassiques impliquées dans la repolarisation et/ou le maintien du DP (I_{to} , I_{Kr} , I_{Ks} et I_{K1}) pourraient expliquer ce phénomène. La diminution de l'Amax du PA peut avoir deux explications. La première est également la plus simple : elle serait une conséquence de la dépolarisation du DP. L'amplitude maximale du PA dépend de l'intensité du courant sodique rapide activé par la dépolarisation. Or si le DP est dépolarisé, alors une partie des canaux Na^+ qui portent ce courant seront inactivés avant d'être activés. Le courant sodique sera donc un peu plus faible et la dépolarisation moins importante. Cette diminution d'Amax pourrait également être expliquée par une diminution du courant sodique induite directement par le vieillissement. Escande et collaborateurs ont montré chez l'Homme une diminution plus importante encore de l'Amax chez les patients âgés par rapport aux jeunes (Escande *et al.*, 1985). Cependant, ils ne donnent pas d'explication possible. La réduction de l'APD₉₀ est en revanche plus surprenante. En effet, la littérature montre une augmentation de l'APD induite par l'âge (Capasso *et al.*, 1983 ; Escande *et al.*, 1985 ; Anyukhovskiy *et al.*, 2002). Cependant, une étude menée sur l'OD de

Chien montre une diminution du courant I_{CaL} et une augmentation du courant I_{to} (Dun *et al.*, 2003). Ces effets peuvent induire une réduction de l'APD.

L'incidence de l'activité automatique induite par la NA sur la VP est plus faible chez les rats âgés que chez les rats jeunes. Ce résultat est surprenant car il a été montré que le risque de FA augmente avec l'âge (Go *et al.*, 2001). De plus, des études ont montré une augmentation de l'arythmogénicité des VP et de l'OG avec l'âge chez l'Homme (Liu *et al.*, 2004) et chez le Lapin (Wongcharoen *et al.*, 2007a ; Wongcharoen *et al.*, 2007b). Ceci prouve que le lien entre l'activité automatique catécholaminergique observée sur la VP de Rat et la FA reste encore à prouver. Néanmoins, la stimulation des α_1 -AR seuls induit une activité déclenchée sur la VP (mais pas sur l'OG) des animaux âgés mais pas chez les animaux jeunes. Cette activité déclenchée induite par la cirazoline est différente de celle induite par la NA puisqu'elle n'apparaît pas en salves répétitives mais plutôt sous la forme d'une seule pseudo salve suite à une stimulation à haute fréquence (5 Hz). L'amplitude des PA (ou des oscillations du RMP) diminue au cours de cette pseudo salve parallèlement à la diminution du DP. Nous ne pouvons pas encore expliquer ce phénomène, d'autant plus qu'il a été montré que l'automaticité médiée par les α -AR sur des fibres de Purkinje de Rat est diminuée chez les animaux âgés (del Balzo *et al.*, 1990). Néanmoins, il est possible qu'une fibrose liée au vieillissement s'installe au niveau de la VP (Ho *et al.*, 2001), ce qui pourrait permettre de faire du manchon myocardique un substrat propice à une activité arythmogène (par un mécanisme de réentrée par exemple).

La stimulation α_1 -adrénergique induit des effets plus faibles sur la VP chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes. Elle induit notamment une dépolarisation du RMP moins importante. Néanmoins, la valeur du RMP sous stimulation α_1 -adrénergique est similaire dans les deux groupes d'animaux. Il est donc possible que la dépolarisation moins importante induite par la cirazoline observée sur la VP chez les animaux âgés ne soit qu'une conséquence de la dépolarisation basale du RMP chez ces animaux par rapport aux animaux jeunes. Cette dépolarisation pourrait être expliquée par une densité moindre du courant I_{K1} . D'après les courbes d'activation et d'inactivation du courant sodique, si le RMP est dépolarisé alors le courant de fenêtre sera certainement plus faible. Par conséquent, la dépolarisation induite par la stimulation α_1 -adrénergique sera moins importante. La diminution de l'amplitude de la contraction consécutive à cette dépolarisation induite par la stimulation des α_1 -AR est également réduite. Jahnel et collaborateurs ont montré que la stimulation α_1 -adrénergique au niveau de l'OG de Rat induit une dépolarisation du RMP due à

l'inhibition du courant I_{K1} associée à l'activation d'un courant sodique de fenêtre (Jahnel *et al.*, 1991).

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons pu mettre en évidence des différences fonctionnelles (à la fois contractiles et électrophysiologiques) entre le myocarde de l'oreillette gauche et celui des veines thoraciques (veine pulmonaire et veine cave supérieure) du Rat.

Tout d'abord, nous avons montré que la noradrénaline induit une activité automatique en salves sur la veine pulmonaire. Ces salves sont composées de potentiels d'action « lents ». L'induction de cette activité automatique catécholaminergique est indépendante de la stimulation électrique externe. Ce n'est donc pas une activité déclenchée de type EAD ou DAD. De plus, elle nécessite la stimulation conjointe des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques. L'organisation des salves est particulière. En effet, la fréquence des potentiels d'action augmente au début de la salve puis diminue. Les premiers potentiels d'action présentent une dépolarisation lente diastolique de type phase 4 qui disparaît avec l'augmentation de la fréquence durant la salve. Nous avons pu mettre en évidence que le courant « pacemaker » I_f n'est pas impliqué dans cette phase 4 puisque l'ivabradine (inhibiteur sélectif de ce courant) n'exerce aucun effet sur l'organisation des salves. Le potentiel diastolique augmente progressivement au cours des salves qui se terminent par une ou plusieurs oscillations du potentiel de membrane qui n'atteint pas le seuil de déclenchement du potentiel d'action. Enfin, le potentiel de membrane de repos diminue lentement entre chaque salve jusqu'à atteindre le seuil permettant le déclenchement de la salve suivante.

Sur la veine cave supérieure la noradrénaline n'induit pas une telle activité automatique. Par contre, une stimulation à haute fréquence permet d'induire une activité dite déclenchée, bien qu'elle ne nécessite pas d'EAD ni de DAD pour s'installer. L'induction de cette activité déclenchée est favorisée par la stimulation des récepteurs β_1 -adrénergiques. Quelles que soient les conditions expérimentales, nous n'avons jamais observé d'activité automatique ou déclenchée sur l'oreillette gauche. Le manchon myocardique présent dans la veine pulmonaire et la veine cave supérieure du Rat possède donc une électrophysiologie différente de l'oreillette gauche. Il est notamment un substrat propice au développement d'activité automatique ou déclenchée. Cette électrophysiologie particulière pourrait expliquer pourquoi ce manchon est un substrat préférentiel à la genèse d'une activité ectopique à l'origine de fibrillation auriculaire chez l'Homme. Cependant, bien que l'incidence de la fibrillation auriculaire augmente avec l'âge chez l'Homme (Go *et al.*, 2001), l'incidence de l'activité automatique observée sur la veine pulmonaire diminue avec l'âge chez le Rat. Néanmoins, chez les animaux âgés, une activité déclenchée peut être induite par une stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques seuls, suite à une stimulation à haute fréquence (5 Hz). Là encore, comme sur la veine cave supérieure, cette activité déclenchée apparaît sans

EAD, ni DAD préalable. Ce résultat montre que la relation entre cette activité automatique observée chez le Rat et la fibrillation auriculaire reste encore à établir.

Le potentiel de membrane de repos des cellules quiescentes est différent entre les trois tissus. En effet, il est dépolarisé dans la veine pulmonaire par rapport à la veine cave supérieure, lui-même dépolarisé par rapport à l'oreillette gauche. Ce résultat est en accord avec la littérature (Cheung, 1981 ; Chen *et al.*, 2002 ; Ehrlich *et al.*, 2003 ; Po *et al.*, 2005). Ce potentiel de membrane de repos est maintenu à un potentiel négatif (proche de la pile au potassium) principalement par le courant potassique rectifiant entrant I_{K1} (pour revue, Lopatin et Nichols, 2001). Les cardiomyocytes isolés de veine pulmonaire possède une densité moins importante de ce courant I_{K1} que les myocytes isolés d'oreillette gauche, comme montré chez le Chien (Ehrlich *et al.*, 2003). Cette différence pourrait expliquer le potentiel de membrane de repos différent entre les deux tissus. L'inhibition de ce courant par le baryum induit une dépolarisation du potentiel de membrane de repos plus importante dans la veine pulmonaire que dans l'oreillette gauche. Ce résultat pourrait également être expliqué en partie par la densité plus faible du courant I_{K1} dans la veine que dans l'oreillette. En effet, l'inhibition de I_{K1} n'est pas suffisante pour induire une dépolarisation. Pour cela, il faut que d'autres courants de fond dépolarisants soient présents ou activés. Comme l'ont montré Jahnel et collaborateurs, il est possible que l'inhibition du courant I_{K1} permette l'activation d'un courant sodique de fenêtre, ce qui provoquerait alors une dépolarisation du potentiel de membrane de repos (Jahnel *et al.*, 1991). Du fait d'un potentiel de membrane de repos moins polarisé dans la veine pulmonaire que dans l'oreillette gauche, le courant sodique de fenêtre potentiellement activé induirait alors une dépolarisation plus importante dans la veine que dans l'oreillette. L'implication éventuelle de ce courant sodique de fenêtre reste néanmoins à démontrer, notamment par l'utilisation d'une solution physiologique pauvre en sodium ou de tetrodotoxine (inhibiteur des courants sodiques).

Outre l'activité automatique, la noradrénaline induit un effet biphasique sur le potentiel de membrane de repos sur les trois tissus. Tout d'abord, elle induit une hyperpolarisation due à la stimulation des récepteurs β_1 -adrénergiques. Elle est plus importante dans la veine pulmonaire que dans l'oreillette gauche mais similaire dans les deux veines thoraciques. Cette hyperpolarisation est suivie d'une dépolarisation due à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques. Elle est plus importante dans la veine pulmonaire que dans la veine cave supérieure, elle-même plus importante que dans l'oreillette gauche. Cette dépolarisation n'est donc suivie du déclenchement d'une activité automatique que dans la veine pulmonaire. Bien que le potentiel de membrane de repos atteignent la valeur

surprenante de -37 mV sur la veine pulmonaire, aucune activité automatique n'est induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques seuls. Il est important également de noter que cette forte dépolarisation est complètement réversée par l'ajout d'un antagoniste sélectif des ces récepteurs. Une dépolarisation d'ampleur similaire sur la veine pulmonaire est induite par le baryum. Ce résultat nous laisse penser que l'inhibition du courant I_{K1} est impliquée dans la dépolarisation induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques. Néanmoins, ceci reste encore à prouver. Pour cela, il serait intéressant de caractériser l'effet de la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques sur les courants ioniques de cardiomyocytes isolés et de le comparer à l'effet du baryum. Cette dépolarisation induite sur la veine pulmonaire par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques est moins importante chez les animaux âgés. Cependant, cette différence qui est non significative semble n'être qu'une conséquence du potentiel de membrane de repos plus faible chez ces animaux âgés. Néanmoins, il est nécessaire d'augmenter la taille de l'échantillon chez les animaux âgés ($n = 3$ actuellement) afin de confirmer ce résultat.

Dans nos conditions expérimentales, la forte dépolarisation induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques sur la veine pulmonaire induit une forte diminution de l'amplitude de la contraction conduisant à une inexcitabilité du tissu. Sur l'oreillette gauche en revanche, la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques induit un effet inotrope positif qui augmente avec la fréquence de stimulation. Cette inexcitabilité observée sur la veine pulmonaire est surprenante puisque la seule étude qui traite de la pharmacologie des veines thoraciques chez le Rat montre un faible effet inotrope positif de la phényléphrine (agoniste sélectif des récepteurs α_1 -adrénergiques) (MacLeod et Hunter, 1967). Cependant, dans cette étude, les préparations ont été soumises à une fréquence de stimulation de 1 Hz d'une durée de 10 msec. De plus, les effets des agonistes ont été mesurés après seulement environ 1 min de superfusion. Nous avons vu qu'à une fréquence de stimulation de 1 Hz, la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques sur la veine pulmonaire induit un effet biphasique : un effet inotrope positif dont le maximum est atteint au bout d'environ 5 min suivi d'une forte diminution de l'amplitude de la contraction. De plus, la stimulation électrique que nous appliquons à nos préparations est d'une durée de 2 msec (soit cinq fois plus courte que dans le travail de MacLeod et Hunter), or l'augmentation de la fréquence de stimulation ou de son amplitude permet de masquer cette diminution de l'amplitude de la contraction sur la veine pulmonaire. On peut donc légitimement penser qu'une augmentation de la durée de la stimulation aurait les mêmes conséquences. Cet effet sur la contractilité de la veine pulmonaire en réponse à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques est d'autant plus

surprenant qu'à ma connaissance aucune étude ne montre de résultats similaires (quelle que soit le tissu cardiaque étudié). Parallèlement à la dépolarisation du potentiel de membrane de repos, la diminution de l'amplitude de la contraction induite par la stimulation des récepteurs α_1 -adrénergiques sur la veine pulmonaire est plus faible chez les animaux âgés. Comme l'ont montré d'autres auteurs avant nous (Rokosh et Sulakhe, 1991 ; Gambassi *et al.*, 1991), c'est le sous-type α_{1A} -adrénergique qui est activé dans nos conditions expérimentales. Bien que les protéines kinases C semblent majoritairement impliquées dans les effets médiés par les récepteurs α_1 -adrénergiques, elles ne semblent jouer aucun rôle dans cette diminution de l'amplitude de la contraction sur la veine pulmonaire.

Bibliographie

Ouvrages imprimés

D'ALCHE, E.P.. Comprendre la physiologie cardiovasculaire. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 2003, 217 p.

Chapitre dans un ouvrage imprimé

ASIRVATHAM, S.J.. Anatomy of the vena cava: an electrophysiological perspective. In : Chen, S.A., Haïssaguerre, M. et Zipes, D.P. (Blackwell Futura), *Thoracic Vein Arrhythmias Mechanisms and Treatment*. UK : Blackwell Futura, 2004, p. 55.

CHEN, Y.J., Chen, Y.C., Lin, C.I. et Chen, S.A.. Ionic currents and mechanisms of ectopy from the thoracic veins. In : Chen, S.A., Haïssaguerre, M. et Zipes, D.P. (Blackwell Futura), *Thoracic Vein Arrhythmias Mechanisms and Treatment*. UK : Blackwell Futura, 2004, p. 111.

ENDO, M.. Regulation of myocardial contractility via adrenoceptors: differential mechanisms of α - and β -adrenoceptor-mediated actions. In: Grobecker, H., Philippu, A. et Starke, K. (Springer Verlag), *New Aspects of the Role of Adrenoceptors in the Cardiovascular System*. Berlin, Germany, 1986, p. 78-105.

HO, S.Y., Cabrera, J.A. et Sanchez-Quintana, D.. Anatomy of the pulmonary vein-atrium junction. In : Chen, S.A., Haïssaguerre, M. et Zipes, D.P. (Blackwell Futura), *Thoracic Vein Arrhythmias Mechanisms and Treatment*. UK, 2004, p. 42.

OSNES, J. B., Aass, H. et Skomedal, T., On adrenergic regulation of heart function: role of myocardial α -adrenoceptors. In: Refsum, S. H. et Mjos, O. D. (Churchill Livingstone), *α -Adrenoceptor Blockers in Cardiovascular Disease*. Edinburgh, Scotland, 1985, p. 69-102.

Articles de périodiques imprimés

Ahlquist, R. P., A study of the adrenotropic receptors, *Am J Physiol*, 1948, 153, (3), 586-600.

Allo, S. N., Carl, L. L. et Morgan, H. E., Acceleration of growth of cultured cardiomyocytes and translocation of protein kinase C, *Am J Physiol*, 1992, 263, (2 Pt 1), C319-25.

Andersen, G. O., Qvigstad, E., Schiander, I., Aass, H., Osnes, J. B. et Skomedal, T., Alpha(1)-AR-induced positive inotropic response in heart is dependent on myosin light chain phosphorylation, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283, (4), H1471-80.

Anderson, R. H., Brown, N. A. et Moorman, A. F., Development and structures of the venous pole of the heart, *Dev Dyn*, 2006, 235, (1), 2-9.

Anyukhovsky, E. P., Sosunov, E. A., Plotnikov, A., Gainullin, R. Z., Jhang, J. S., Marboe, C. C. et Rosen, M. R., Cellular electrophysiologic properties of old canine atria provide a substrate for arrhythmogenesis, *Cardiovasc Res*, 2002, 54, (2), 462-9.

Apkon, M. et Nerbonne, J. M., Alpha 1-adrenergic agonists selectively suppress voltage-dependent K⁺ current in rat ventricular myocytes, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85, (22), 8756-60.

Barrett, S., Honbo, N. et Karliner, J. S., Alpha 1-adrenoceptor-mediated inhibition of cellular cAMP accumulation in neonatal rat ventricular myocytes, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1993, 347, (4), 384-93.

Baruscotti, M., Bucchi, A. et DiFrancesco, D., Physiology and pharmacology of the cardiac pacemaker ("funny") current, *Pharmacol Ther*, 2005, 107, (1), 59-79.

Benfey, B. G. et Varma, D. R., Interactions of sympathomimetic drugs, propranolol and phentolamine, on atrial refractory period and contractility, *Br J Pharmacol Chemother*, 1967, 30, (3), 603-11.

Benjamin, E. J., Wolf, P. A., D'Agostino, R. B., Silbershatz, H., Kannel, W. B. et Levy, D., Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study, *Circulation*, 1998, 98, (10), 946-52.

Berthelsen, S. et Pettinger, W. A., A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors, *Life Sci*, 1977, 21, (5), 595-606.

Bishopric, N. H., Simpson, P. C. et Ordahl, C. P., Induction of the skeletal alpha-actin gene in alpha 1-adrenoceptor-mediated hypertrophy of rat cardiac myocytes, *J Clin Invest*, 1987, 80, (4), 1194-9.

Blom, N. A., Gittenberger-de Groot, A. C., Jongeneel, T. H., DeRuiter, M. C., Poelmann, R. E. et Ottenkamp, J., Normal development of the pulmonary veins in human embryos and formulation of a morphogenetic concept for sinus venosus defects, *Am J Cardiol*, 2001, 87, (3), 305-9.

Bois, P., Bescond, J., Renaudon, B. et Lenfant, J., Mode of action of bradycardic agent, S 16257, on ionic currents of rabbit sinoatrial node cells, *Br J Pharmacol*, 1996, 118, (4), 1051-7.

Boixel, C., Fontaine, V., Rucker-Martin, C., Milliez, P., Louedec, L., Michel, J. B., Jacob, M. P. et Hatem, S. N., Fibrosis of the left atria during progression of heart failure is associated with increased matrix metalloproteinases in the rat, *J Am Coll Cardiol*, 2003, 42, (2), 336-44.

Bourinet, E., Fournier, F., Lory, P., Charnet, P. et Nargeot, J., Protein kinase C regulation of cardiac calcium channels expressed in *Xenopus* oocytes, *Pflugers Arch*, 1992, 421, (2-3), 247-55.

Boutjdir, M. et el-Sherif, N., Alpha 1-adrenoceptor regulation of delayed afterdepolarizations and triggered activity in subendocardial Purkinje fibers surviving 1 day of myocardial infarction, *J Mol Cell Cardiol*, 1991, 23, (1), 83-90.

Boyden, P. A., Cranefield, P. F. et Gadsby, D. C., Noradrenaline hyperpolarizes cells of the canine coronary sinus by increasing their permeability to potassium ions, *J Physiol*, 1983, 339, 185-206.

Boyden, P. A., Cranefield, P. F., Gadsby, D. C. et Wit, A. L., The basis for the membrane potential of quiescent cells of the canine coronary sinus, *J Physiol*, 1983, 339, 161-83.

Braun, A. P., Fedida, D. et Giles, W. R., Activation of alpha 1-adrenoceptors modulates the inwardly rectifying potassium currents of mammalian atrial myocytes, *Pflugers Arch*, 1992, 421, (5), 431-9.

Bronquard, C., Maupoil, V., Arbeille, B., Fetissof, F., Findlay, I., Cosnay, P. et Freslon, J. L., Contractile and relaxant properties of rat-isolated pulmonary veins related to localization and histology, *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21, (1), 55-65.

Bruckner, R., Mugge, A. et Scholz, H., Existence and functional role of alpha 1-adrenoceptors in the mammalian heart, *J Mol Cell Cardiol*, 1985, 17, (7), 639-45.

Brunton, T. L. et Fayrer, J., Note on independent pulsation of pulmonary veins and vena cava, *Proceedings of the royal society of London*, 1876, 25, 174-176.

Burashnikov, A. et Antzelevitch, C., Late-phase 3 EAD. A unique mechanism contributing to initiation of atrial fibrillation, *Pacing Clin Electrophysiol*, 2006, 29, (3), 290-5.

Capasso, J. M., Malhotra, A., Remily, R. M., Scheuer, J. et Sonnenblick, E. H., Effects of age on mechanical and electrical performance of rat myocardium, *Am J Physiol*, 1983, 245, (1), H72-81.

Capogrossi, M. C., Kaku, T., Filburn, C. R., Peltó, D. J., Hansford, R. G., Spurgeon, H. A. et Lakatta, E. G., Phorbol ester and dioctanoylglycerol stimulate membrane association of protein kinase C and have a negative inotropic effect mediated by changes in cytosolic Ca^{2+} in adult rat cardiac myocytes, *Circ Res*, 1990, 66, (4), 1143-55.

Cardin, S., Li, D., Thorin-Trescases, N., Leung, T. K., Thorin, E. et Nattel, S., Evolution of the atrial fibrillation substrate in experimental congestive heart failure: angiotensin-dependent and -independent pathways, *Cardiovasc Res*, 2003, 60, (2), 315-25.

Cerbai, E. et Mugelli, A., I(f) in non-pacemaker cells: role and pharmacological implications, *Pharmacol Res*, 2006, 53, (5), 416-23.

Cha, T. J., Ehrlich, J. R., Zhang, L. et Nattel, S., Atrial ionic remodeling induced by atrial tachycardia in the presence of congestive heart failure, *Circulation*, 2004, 110, (12), 1520-6.

Chang, S. H., Chen, Y. C., Chiang, S. J., Higa, S., Cheng, C. C., Chen, Y. J. et Chen, S. A., Increased Ca^{2+} sparks and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} stores potentially determine the spontaneous activity of pulmonary vein cardiomyocytes, *Life Sci*, 2008, 83, (7-8), 284-92.

Chen, W. et Su, M., Role of protein kinase C in mediating α -1-adrenoceptor-induced negative inotropic response in rat ventricles, *J Biomed Sci*, 2000, 7, (5), 380-9.

Chen, Y. C., Chen, S. A., Chen, Y. J., Chang, M. S., Chan, P. et Lin, C. I., Effects of thyroid hormone on the arrhythmogenic activity of pulmonary vein cardiomyocytes, *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39, (2), 366-72.

Chen, Y. C., Chen, S. A., Chen, Y. J., Tai, C. T., Chan, P. et Lin, C. I., Effect of ethanol on the electrophysiological characteristics of pulmonary vein cardiomyocytes, *Eur J Pharmacol*, 2004, 483, (2-3), 215-22.

Chen, Y. C., Chen, S. A., Chen, Y. J., Tai, C. T., Chan, P. et Lin, C. I., T-type calcium current in electrical activity of cardiomyocytes isolated from rabbit pulmonary vein, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2004, 15, (5), 567-71.

Chen, Y. J., Chen, S. A., Chang, M. S. et Lin, C. I., Arrhythmogenic activity of cardiac muscle in pulmonary veins of the dog: implication for the genesis of atrial fibrillation, *Cardiovasc Res*, 2000, 48, (2), 265-73.

Chen, Y. J., Chen, S. A., Chen, Y. C., Yeh, H. I., Chan, P., Chang, M. S. et Lin, C. I., Effects of rapid atrial pacing on the arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from

pulmonary veins: implication in initiation of atrial fibrillation, *Circulation*, 2001, 104, (23), 2849-54.

Chen, Y. J., Chen, Y. C., Yeh, H. I., Lin, C. I. et Chen, S. A., Electrophysiology and arrhythmogenic activity of single cardiomyocytes from canine superior vena cava, *Circulation*, 2002, 105, (22), 2679-85.

Chen, Y. J., Chen, S. A., Chen, Y. C., Yeh, H. I., Chang, M. S. et Lin, C. I., Electrophysiology of single cardiomyocytes isolated from rabbit pulmonary veins: implication in initiation of focal atrial fibrillation, *Basic Res Cardiol*, 2002, 97, (1), 26-34.

Chen, Y. J., Chen, Y. C., Chan, P., Lin, C. I. et Chen, S. A., Temperature regulates the arrhythmogenic activity of pulmonary vein cardiomyocytes, *J Biomed Sci*, 2003, 10, (5), 535-43.

Chen, Y. J., Chen, Y. C., Tai, C. T., Yeh, H. I., Lin, C. I. et Chen, S. A., Angiotensin II and angiotensin II receptor blocker modulate the arrhythmogenic activity of pulmonary veins, *Br J Pharmacol*, 2006, 147, (1), 12-22.

Chen, Y. J., Chen, Y. C., Wongcharoen, W., Lin, C. I. et Chen, S. A., Effect of K201, a novel antiarrhythmic drug on calcium handling and arrhythmogenic activity of pulmonary vein cardiomyocytes, *Br J Pharmacol*, 2008, 153, (5), 915-25.

Cheung, D. W., Electrical activity of the pulmonary vein and its interaction with the right atrium in the guinea-pig, *J Physiol*, 1981, 314, 445-56.

Chien, K. R., Knowlton, K. U., Zhu, H. et Chien, S., Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response, *FASEB J*, 1991, 5, (15), 3037-46.

Civantos Calzada, B. et Aleixandre de Artinano, A., Alpha-adrenoceptor subtypes, *Pharmacol Res*, 2001, 44, (3), 195-208.

Clement, O., Puceat, M., Walsh, M. P. et Vassort, G., Protein kinase C enhances myosin light-chain kinase effects on force development and ATPase activity in rat single skinned cardiac cells, *Biochem J*, 1992, 285 (Pt 1), 311-7.

Collins, E. M., Walsh, M. P. et Morgan, K. G., Contraction of single vascular smooth muscle cells by phenylephrine at constant $[Ca^{2+}]_i$, *Am J Physiol*, 1992, 262, (3 Pt 2), H754-62.

Cox, J. L., Schuessler, R. B., D'Agostino, H. J., Jr., Stone, C. M., Chang, B. C., Cain, M. E., Corr, P. B. et Boineau, J. P., The surgical treatment of atrial fibrillation. III. Development of a definitive surgical procedure, *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1991, 101, (4), 569-83.

Decker, R. S., Cook, M. G., Behnke-Barclay, M. M., Decker, M. L., Lesch, M. et Samarel, A. M., Catecholamines modulate protein turnover in cultured, quiescent rabbit cardiac myocytes, *Am J Physiol*, 1993, 265, (1 Pt 2), H329-39.

del Balzo, U., Rosen, M. R., Malfatto, G., Kaplan, L. M. et Steinberg, S. F., Specific alpha 1-adrenergic receptor subtypes modulate catecholamine-induced increases and decreases in ventricular automaticity, *Circ Res*, 1990, 67, (6), 1535-51.

Deng, X. F., Sculptoreanu, A., Mulay, S., Peri, K. G., Li, J. F., Zheng, W. H., Chemtob, S. et Varma, D. R., Crosstalk between alpha-1A and alpha-1B adrenoceptors in neonatal rat myocardium: implications in cardiac hypertrophy, *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 286, (1), 489-96.

DiFrancesco, D. et Ojeda, C., Properties of the current I_f in the sino-atrial node of the rabbit compared with those of the current I_K , in Purkinje fibres, *J Physiol*, 1980, 308, 353-67.

Dirksen, R. T., Shieh, R.-C., Williford, D. J. et Sheu, S. S., α_1 -adrenoceptor stimulation produces a positive inotropic effect which occurs with a decrease in the Ca-transient and the action potential duration in guinea-pig ventricle, *Biophys J*, 1991, 59, 282a.

Doisne, N., Maupoil, V., Cosnay, P. et Findlay, I., Catecholaminergic automatic activity in the rat pulmonary vein: electrophysiological differences between cardiac muscle in the left atrium and pulmonary vein, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297, (1), H102-8.

Doshi, R. N., Wu, T. J., Yashima, M., Kim, Y. H., Ong, J. J., Cao, J. M., Hwang, C., Yashar, P., Fishbein, M. C., Karagueuzian, H. S. et Chen, P. S., Relation between ligament of Marshall and adrenergic atrial tachyarrhythmia, *Circulation*, 1999, 100, (8), 876-83.

Drew, G. M. et Whiting, S. B., Evidence for two distinct types of postsynaptic alpha-adrenoceptor in vascular smooth muscle in vivo, *Br J Pharmacol*, 1979, 67, (2), 207-15.

Dun, W., Yagi, T., Rosen, M. R. et Boyden, P. A., Calcium and potassium currents in cells from adult and aged canine right atria, *Cardiovasc Res*, 2003, 58, (3), 526-34.

Dunnmon, P. M., Iwaki, K., Henderson, S. A., Sen, A. et Chien, K. R., Phorbol esters induce immediate-early genes and activate cardiac gene transcription in neonatal rat myocardial cells, *J Mol Cell Cardiol*, 1990, 22, (8), 901-10.

- Ehrlich, J. R., Cha, T. J., Zhang, L., Chartier, D., Melnyk, P., Hohnloser, S. H. et Nattel, S., Cellular electrophysiology of canine pulmonary vein cardiomyocytes: action potential and ionic current properties, *J Physiol*, 2003, 551, (Pt 3), 801-13.
- Ehrlich, J. R., Cha, T. J., Zhang, L., Chartier, D., Villeneuve, L., Hebert, T. E. et Nattel, S., Characterization of a hyperpolarization-activated time-dependent potassium current in canine cardiomyocytes from pulmonary vein myocardial sleeves and left atrium, *J Physiol*, 2004, 557, (Pt 2), 583-97.
- Endoh, M. et Blinks, J. R., Actions of sympathomimetic amines on the Ca^{2+} transients and contractions of rabbit myocardium: reciprocal changes in myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} mediated through alpha- and beta-adrenoceptors, *Circ Res*, 1988, 62, (2), 247-65.
- Endoh, M., Physiological and pathophysiological modulation of calcium signaling in myocardial cells, *Jpn Circ J*, 1991, 55, (11), 1108-17.
- Endoh, M., Hiramoto, T., Ishihata, A., Takanashi, M. et Inui, J., Myocardial alpha 1-adrenoceptors mediate positive inotropic effect and changes in phosphatidylinositol metabolism. Species differences in receptor distribution and the intracellular coupling process in mammalian ventricular myocardium, *Circ Res*, 1991, 68, (5), 1179-90.
- Endou, M., Hattori, Y., Tohse, N. et Kanno, M., Protein kinase C is not involved in alpha 1-adrenoceptor-mediated positive inotropic effect, *Am J Physiol*, 1991, 260, (1 Pt 2), H27-36.
- Ertl, R., Jahnel, U., Nawrath, H., Carmeliet, E. et Vereecke, J., Differential electrophysiologic and inotropic effects of phenylephrine in atrial and ventricular heart muscle preparations from rats, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1991, 344, (5), 574-81.
- Escande, D., Loisançe, D., Planche, C. et Coraboeuf, E., Age-related changes of action potential plateau shape in isolated human atrial fibers, *Am J Physiol*, 1985, 249, (4 Pt 2), H843-50.
- Fabiato, A. et Fabiato, F., Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles, *J Physiol*, 1978, 276, 233-55.
- Fedida, D., Shimoni, Y. et Giles, W. R., A novel effect of norepinephrine on cardiac cells is mediated by alpha 1-adrenoceptors, *Am J Physiol*, 1989, 256, (5 Pt 2), H1500-4.
- Fedida, D., Braun, A. P. et Giles, W. R., Alpha 1-adrenoceptors reduce background K^{+} current in rabbit ventricular myocytes, *J Physiol*, 1991, 441, 673-84.

Fedida, D. et Bouchard, R. A., Mechanisms for the positive inotropic effect of alpha 1-adrenoceptor stimulation in rat cardiac myocytes, *Circ Res*, 1992, 71, (3), 673-88.

Fuller, S. J., Gaitanaki, C. J., Hatchett, R. J. t. et Sugden, P. H., Acute alpha 1-adrenergic stimulation of cardiac protein synthesis may involve increased intracellular pH and protein kinase activity, *Biochem J*, 1991, 273(Pt 2), 347-53.

Fuller, S. J. et Sugden, P. H., Protein synthesis in rat cardiac myocytes is stimulated at the level of translation by phorbol esters, *FEBS Lett*, 1989, 247, (2), 209-12.

Gallego, M., Setien, R., Puebla, L., Boyano-Adanez Mdel, C., Arilla, E. et Casis, O., alpha1-Adrenoceptors stimulate a Galphas protein and reduce the transient outward K⁺ current via a cAMP/PKA-mediated pathway in the rat heart, *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 288, (3), C577-85.

Gambassi, G., Lakatta, E. G. et Capogrossi, M. C., [Alpha but not beta-adrenergic stimulation has a positive inotropic effect associated with alkalinization of intracellular pH], *Cardiologia*, 1991, 36, (1), 47-58.

Gambassi, G., Spurgeon, H. A., Lakatta, E. G., Blank, P. S. et Capogrossi, M. C., Different effects of alpha- and beta-adrenergic stimulation on cytosolic pH and myofilament responsiveness to Ca²⁺ in cardiac myocytes, *Circ Res*, 1992, 71, (4), 870-82.

Garcia-Sainz, J. A., Vazquez-Prado, J. et Villalobos-Molina, R., Alpha 1-adrenoceptors: subtypes, signaling, and roles in health and disease, *Arch Med Res*, 1999, 30, (6), 449-58.

Gaspo, R., Bosch, R. F., Bou-Abboud, E. et Nattel, S., Tachycardia-induced changes in Na⁺ current in a chronic dog model of atrial fibrillation, *Circ Res*, 1997, 81, (6), 1045-52.

Gentric, A., Fibrillation atriale, *EMC-Médecine*, 2005, 2, 153-9.

Giles, W. R. et Imaizumi, Y., Comparison of potassium currents in rabbit atrial and ventricular cells, *J Physiol*, 1988, 405, 123-45.

Go, A. S., Hylek, E. M., Phillips, K. A., Chang, Y., Henault, L. E., Selby, J. V. et Singer, D. E., Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study, *JAMA*, 2001, 285, (18), 2370-5.

Govier, W. C., A positive inotropic effect of phenylephrine mediated through alpha adrenergic receptors, *Life Sci*, 1967, 6, (13), 1361-5.

- Govier, W. C., Myocardial alpha adrenergic receptors and their role in the production of a positive inotropic effect by sympathomimetic agents, *J Pharmacol Exp Ther*, 1968, 159, (1), 82-90.
- Grimm, M., Mahnecke, N., Soja, F., El-Armouche, A., Haas, P., Treede, H., Reichenspurner, H. et Eschenhagen, T., The MLCK-mediated alpha1-adrenergic inotropic effect in atrial myocardium is negatively modulated by PKCepsilon signaling, *Br J Pharmacol*, 2006, 148, (7), 991-1000.
- Haissaguerre, M., Gencel, L., Fischer, B., Le Metayer, P., Poquet, F., Marcus, F. I. et Clementy, J., Successful catheter ablation of atrial fibrillation, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1994, 5, (12), 1045-52.
- Haissaguerre, M., Jais, P., Shah, D. C., Takahashi, A., Hocini, M., Quiniou, G., Garrigue, S., Le Mouroux, A., Le Metayer, P. et Clementy, J., Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins, *N Engl J Med*, 1998, 339, (10), 659-66.
- Hanna, N., Cardin, S., Leung, T. K. et Nattel, S., Differences in atrial versus ventricular remodeling in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure, *Cardiovasc Res*, 2004, 63, (2), 236-44.
- Hansen, C. A., Joseph, S. K. et Robishaw, J. D., Ins 1,4,5-P3 and Ca²⁺ signaling in quiescent neonatal cardiac myocytes, *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1224, (3), 517-26.
- Hartmann, H. A., Mazzocca, N. J., Kleiman, R. B. et Houser, S. R., Effects of phenylephrine on calcium current and contractility of feline ventricular myocytes, *Am J Physiol*, 1988, 255, (5 Pt 2), H1173-80.
- Hartmann, M. et Schrader, J., Protein kinase C phosphorylates a 15 kDa protein but not phospholamban in intact rat cardiac myocytes, *Eur J Pharmacol*, 1992, 226, (3), 225-31.
- Hashizume, H., Tango, M. et Ushiki, T., Three-dimensional cytoarchitecture of rat pulmonary venous walls: a light and scanning electron microscopic study, *Anat Embryol (Berl)*, 1998, 198, (6), 473-80.
- Hashizume, H., Ushiki, T. et Abe, K., A histological study of the cardiac muscle of the human superior and inferior venae cavae, *Arch Histol Cytol*, 1995, 58, (4), 457-64.
- Hassink, R. J., Aretz, H. T., Ruskin, J. et Keane, D., Morphology of atrial myocardium in human pulmonary veins: a postmortem analysis in patients with and without atrial fibrillation, *J Am Coll Cardiol*, 2003, 42, (6), 1108-14.

- Hattori, Y. et Kanno, M., Differential influences of several alpha-adrenoceptor antagonists on alpha-adrenoceptor-mediated inotropic responses in the left atria of guinea-pigs, *Jpn J Pharmacol*, 1982, 32, (2), 359-68.
- Hauswirth, O., Wehner, H. D. et Ziskoven, R., alpha-Adrenergic receptors and pacemaker current in cardiac Purkinje fibres, *Nature*, 1976, 263, (5573), 155-6.
- Hewett, K. W. et Rosen, M. R., Developmental changes in the rabbit sinus node action potential and its response to adrenergic agonists, *J Pharmacol Exp Ther*, 1985, 235, (2), 308-12.
- Hinescu, M. E., Gherghiceanu, M., Mandache, E., Ciontea, S. M. et Popescu, L. M., Interstitial Cajal-like cells (ICLC) in atrial myocardium: ultrastructural and immunohistochemical characterization, *J Cell Mol Med*, 2006, 10, (1), 243-57.
- Hirano, S., Kusakari, Y., J, O. U., Morimoto, S., Kawai, M., Hongo, K. et Kurihara, S., Intracellular mechanism of the negative inotropic effect induced by alpha1-adrenoceptor stimulation in mouse myocardium, *J Physiol Sci*, 2006, 56, (4), 297-304.
- Hirano, Y. et Hiraoka, M., Changes in K⁺ currents induced by Ba²⁺ in guinea pig ventricular muscles, *Am J Physiol*, 1986, 251, (1 Pt 2), H24-33.
- Ho, S. Y., Cabrera, J. A., Tran, V. H., Farre, J., Anderson, R. H. et Sanchez-Quintana, D., Architecture of the pulmonary veins: relevance to radiofrequency ablation, *Heart*, 2001, 86, (3), 265-70.
- Hocini, M., Ho, S. Y., Kawara, T., Linnenbank, A. C., Potse, M., Shah, D., Jais, P., Janse, M. J., Haissaguerre, M. et De Bakker, J. M., Electrical conduction in canine pulmonary veins: electrophysiological and anatomic correlation, *Circulation*, 2002, 105, (20), 2442-8.
- Hofmann, J., The potential for isoenzyme-selective modulation of protein kinase C, *FASEB J*, 1997, 11, (8), 649-69.
- Hollmann, M. W., Strumper, D., Herroeder, S. et Durieux, M. E., Receptors, G proteins, and their interactions, *Anesthesiology*, 2005, 103, (5), 1066-78.
- Hong, K., Bjerregaard, P., Gussak, I. et Brugada, R., Short QT syndrome and atrial fibrillation caused by mutation in KCNH2, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2005, 16, (4), 394-6.
- Honjo, H., Boyett, M. R., Niwa, R., Inada, S., Yamamoto, M., Mitsui, K., Horiuchi, T., Shibata, N., Kamiya, K. et Kodama, I., Pacing-induced spontaneous activity in myocardial

sleeves of pulmonary veins after treatment with ryanodine, *Circulation*, 2003, 107, (14), 1937-43.

Horvilleur, J. et Lacotte, J., Troubles du rythme cardiaque, *EMC-Médecine*, 2004, 1, 440-62.

Hu, K. et Nattel, S., Mechanisms of ischemic preconditioning in rat hearts. Involvement of alpha 1B-adrenoceptors, pertussis toxin-sensitive G proteins, and protein kinase C, *Circulation*, 1995, 92, (8), 2259-65.

Ikeda, U., Tsuruya, Y. et Yaginuma, T., Alpha 1-adrenergic stimulation is coupled to cardiac myocyte hypertrophy, *Am J Physiol*, 1991, 260, (3 Pt 2), H953-6.

Imoto, Y., Ehara, T. et Matsuura, H., Voltage- and time-dependent block of iK1 underlying Ba²⁺-induced ventricular automaticity, *Am J Physiol*, 1987, 252, (2 Pt 2), H325-33.

Inoue, M., Kishimoto, A., Takai, Y. et Nishizuka, Y., Studies on a cyclic nucleotide-independent protein kinase and its proenzyme in mammalian tissues. II. Proenzyme and its activation by calcium-dependent protease from rat brain, *J Biol Chem*, 1977, 252, (21), 7610-6.

Iwaki, K., Sukhatme, V. P., Shubeita, H. E. et Chien, K. R., Alpha- and beta-adrenergic stimulation induces distinct patterns of immediate early gene expression in neonatal rat myocardial cells. fos/jun expression is associated with sarcomere assembly; Egr-1 induction is primarily an alpha 1-mediated response, *J Biol Chem*, 1990, 265, (23), 13809-17.

Iwakura, K., Hori, M., Watanabe, Y., Kitabatake, A., Cragoe, E. J., Jr., Yoshida, H. et Kamada, T., Alpha 1-adrenoceptor stimulation increases intracellular pH and Ca²⁺ in cardiomyocytes through Na⁺/H⁺ and Na⁺/Ca²⁺ exchange, *Eur J Pharmacol*, 1990, 186, (1), 29-40.

Iwasa, Y. et Hosey, M. M., Phosphorylation of cardiac sarcolemma proteins by the calcium-activated phospholipid-dependent protein kinase, *J Biol Chem*, 1984, 259, (1), 534-40.

J, O. U., Sasaki, H., Morimoto, S., Kusakari, Y., Shinji, H., Obata, T., Hongo, K., Komukai, K. et Kurihara, S., Interaction of alpha1-adrenoceptor subtypes with different G proteins induces opposite effects on cardiac L-type Ca²⁺ channel, *Circ Res*, 2008, 102, (11), 1378-88.

Jahnel, U., Nawrath, H., Carmeliet, E. et Vereecke, J., Depolarization-induced influx of sodium in response to phenylephrine in rat atrial heart muscle, *J Physiol*, 1991, 432, 621-37.

- Jais, P., Haissaguerre, M., Shah, D. C., Chouairi, S., Gencel, L., Hocini, M. et Clementy, J., A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation, *Circulation*, 1997, 95, (3), 572-6.
- Jalili, T., Takeishi, Y. et Walsh, R. A., Signal transduction during cardiac hypertrophy: the role of G alpha q, PLC beta I, and PKC, *Cardiovasc Res*, 1999, 44, (1), 5-9.
- Jarkovska, D., Histology of the intrapulmonary veins in the albino Wistar rat, with special references to the pulmonary myocardium, *Folia Morphol (Praha)*, 1985, 33, (2), 175-80.
- Jones, S. A., Yamamoto, M., Tellez, J. O., Billeter, R., Boyett, M. R., Honjo, H. et Lancaster, M. K., Distinguishing properties of cells from the myocardial sleeves of the pulmonary veins: a comparison of normal and abnormal pacemakers, *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2008, 1, (1), 39-48.
- Jones, W. K., Sanchez, A. et Robbins, J., Murine pulmonary myocardium: developmental analysis of cardiac gene expression, *Dev Dyn*, 1994, 200, (2), 117-28.
- Kato, R., Lickfett, L., Meininger, G., Dickfeld, T., Wu, R., Juang, G., Angkeow, P., LaCorte, J., Bluemke, D., Berger, R., Halperin, H. R. et Calkins, H., Pulmonary vein anatomy in patients undergoing catheter ablation of atrial fibrillation: lessons learned by use of magnetic resonance imaging, *Circulation*, 2003, 107, (15), 2004-10.
- Katoh, N., Wise, B. C. et Kuo, J. F., Phosphorylation of cardiac troponin inhibitory subunit (troponin I) and tropomyosin-binding subunit (troponin T) by cardiac phospholipid-sensitive Ca²⁺-dependent protein kinase, *Biochem J*, 1983, 209, (1), 189-95.
- Kentish, J. C., Barsotti, R. J., Lea, T. J., Mulligan, I. P., Patel, J. R. et Ferenczi, M. A., Calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum induced by photorelease of calcium or Ins(1,4,5)P₃, *Am J Physiol*, 1990, 258, (2 Pt 2), H610-5.
- Khalil, R. A., Lajoie, C., Resnick, M. S. et Morgan, K. G., Ca(2+)-independent isoforms of protein kinase C differentially translocate in smooth muscle, *Am J Physiol*, 1992, 263, (3 Pt 1), C714-9.
- Khan, R., Identifying and understanding the role of pulmonary vein activity in atrial fibrillation, *Cardiovasc Res*, 2004, 64, (3), 387-94.
- Kim, J. S. et Kang, H. S., Alpha1-adrenoceptor-mediated negative inotropic effect caused by intracellular ionic activities in guinea-pig papillary muscle, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2005, 52, (10), 498-505.

- Kimball, K. A., Cornett, L. E., Seifen, E. et Kennedy, R. H., Aging: changes in cardiac alpha 1-adrenoceptor responsiveness and expression, *Eur J Pharmacol*, 1991, 208, (3), 231-8.
- Kissling, G., Blickle, B., Ross, C., Pascht, U. et Gulbins, E., alpha 1-adrenoceptor-mediated negative inotropy of adrenaline in rat myocardium, *J Physiol*, 1997, 499 (Pt 1), 195-205.
- Kiyosue, T., Arita, M., Muramatsu, H., Spindler, A. J. et Noble, D., Ionic mechanisms of action potential prolongation at low temperature in guinea-pig ventricular myocytes, *J Physiol*, 1993, 468, 85-106.
- Klavins, J. V., Demonstration of striated muscle in the pulmonary veins of the rat, *J Anat*, 1963, 97, 239-41.
- Knowlton, K. U., Baracchini, E., Ross, R. S., Harris, A. N., Henderson, S. A., Evans, S. M., Glembofski, C. C. et Chien, K. R., Co-regulation of the atrial natriuretic factor and cardiac myosin light chain-2 genes during alpha-adrenergic stimulation of neonatal rat ventricular cells. Identification of cis sequences within an embryonic and a constitutive contractile protein gene which mediate inducible expression, *J Biol Chem*, 1991, 266, (12), 7759-68.
- Korzick, D. H., Holiman, D. A., Boluyt, M. O., Laughlin, M. H. et Lakatta, E. G., Diminished alpha1-adrenergic-mediated contraction and translocation of PKC in senescent rat heart, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 281, (2), H581-9.
- Koshimizu, T. A., Tanoue, A., Hirasawa, A., Yamauchi, J. et Tsujimoto, G., Recent advances in alpha1-adrenoceptor pharmacology, *Pharmacol Ther*, 2003, 98, (2), 235-44.
- Kruithof, B. P., Van Den Hoff, M. J., Tesink-Taekema, S. et Moorman, A. F., Recruitment of intra- and extracardiac cells into the myocardial lineage during mouse development, *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2003, 271, (2), 303-14.
- Kushida, H., Hiramoto, T. et Endoh, M., The preferential inhibition of alpha 1- over beta-adrenoceptor-mediated positive inotropic effect by organic calcium antagonists in the rabbit papillary muscle, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1990, 341, (3), 206-14.
- Lacerda, A. E., Rampe, D. et Brown, A. M., Effects of protein kinase C activators on cardiac Ca²⁺ channels, *Nature*, 1988, 335, (6187), 249-51.
- Lakatta, E. G. et DiFrancesco, D., What keeps us ticking: a funny current, a calcium clock, or both?, *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47, (2), 157-70.

Langer, S. Z., Presynaptic regulation of the release of catecholamines, *Pharmacol Rev*, 1980, 32, (4), 337-62.

Lee, H. R., Henderson, S. A., Reynolds, R., Dunnmon, P., Yuan, D. et Chien, K. R., Alpha 1-adrenergic stimulation of cardiac gene transcription in neonatal rat myocardial cells. Effects on myosin light chain-2 gene expression, *J Biol Chem*, 1988, 263, (15), 7352-8.

Lee, S. H., Chen, Y. C., Chen, Y. J., Chang, S. L., Tai, C. T., Wongcharoen, W., Yeh, H. I., Lin, C. I. et Chen, S. A., Tumor necrosis factor-alpha alters calcium handling and increases arrhythmogenesis of pulmonary vein cardiomyocytes, *Life Sci*, 2007, 80, (19), 1806-15.

Levy, S., Breithardt, G., Campbell, R. W., Camm, A. J., Daubert, J. C., Allessie, M., Aliot, E., Capucci, A., Cosio, F., Crijns, H., Jordaens, L., Hauer, R. N., Lombardi, F. et Luderitz, B., Atrial fibrillation: current knowledge and recommendations for management. Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology, *Eur Heart J*, 1998, 19, (9), 1294-320.

Li, D., Fareh, S., Leung, T. K. et Nattel, S., Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort, *Circulation*, 1999, 100, (1), 87-95.

Li, D., Melnyk, P., Feng, J., Wang, Z., Petrecca, K., Shrier, A. et Nattel, S., Effects of experimental heart failure on atrial cellular and ionic electrophysiology, *Circulation*, 2000, 101, (22), 2631-8.

Li, D., Shinagawa, K., Pang, L., Leung, T. K., Cardin, S., Wang, Z. et Nattel, S., Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure, *Circulation*, 2001, 104, (21), 2608-14.

Lim, M. S., Sutherland, C. et Walsh, M. P., Phosphorylation of bovine cardiac C-protein by protein kinase C, *Biochem Biophys Res Commun*, 1985, 132, (3), 1187-95.

Lin, W. S., Prakash, V. S., Tai, C. T., Hsieh, M. H., Tsai, C. F., Yu, W. C., Lin, Y. K., Ding, Y. A., Chang, M. S. et Chen, S. A., Pulmonary vein morphology in patients with paroxysmal atrial fibrillation initiated by ectopic beats originating from the pulmonary veins: implications for catheter ablation, *Circulation*, 2000, 101, (11), 1274-81.

Liu, Q. Y., Karpinski, E. et Pang, P. K., Comparison of the action of two protein kinase C activators on dihydropyridine-sensitive Ca²⁺ channels in neonatal rat ventricular myocytes, *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 191, (3), 796-801.

- Liu, X. K., Jahangir, A., Terzic, A., Gersh, B. J., Hammill, S. C. et Shen, W. K., Age- and sex-related atrial electrophysiologic and structural changes, *Am J Cardiol*, 2004, 94, (3), 373-5.
- Lo, L. W., Chen, Y. C., Chen, Y. J., Wongcharoen, W., Lin, C. I. et Chen, S. A., Calmodulin kinase II inhibition prevents arrhythmic activity induced by alpha and beta adrenergic agonists in rabbit pulmonary veins, *Eur J Pharmacol*, 2007, 571, (2-3), 197-208.
- Long, C. S., Ordahl, C. P. et Simpson, P. C., Alpha 1-adrenergic receptor stimulation of sarcomeric actin isogene transcription in hypertrophy of cultured rat heart muscle cells, *J Clin Invest*, 1989, 83, (3), 1078-82.
- Lopatin, A. N. et Nichols, C. G., Inward rectifiers in the heart: an update on I(K1), *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33, (4), 625-38.
- Ludatscher, R. M., Fine structure of the muscular wall of rat pulmonary veins, *J Anat*, 1968, 103, (Pt 2), 345-57.
- von Ludinghausen, M., Ohmachi, N. et Boot, C., Myocardial coverage of the coronary sinus and related veins, *Clinical Anatomy*, 1992, 5, 1-15.
- Luk, H. N., Lo, C. P., Tien, H. C., Lee, D., Chen, Z. L., Wang, F., Hsin, S. T. et Day, Y. J., Mechanical characterization of rabbit pulmonary vein sleeves in in vitro intact ring preparation, *J Chin Med Assoc*, 2008, 71, (12), 610-8.
- MacLeod, D. P. et Hunter, E. G., The pharmacology of the cardiac muscle of the great veins of the rat, *Can J Physiol Pharmacol*, 1967, 45, (3), 463-73.
- Mansour, M., Ruskin, J. et Keane, D., Initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating from the ostium of the inferior vena cava, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2002, 13, (12), 1292-5.
- Masani, F., Node-like cells in the myocardial layer of the pulmonary vein of rats: an ultrastructural study, *J Anat*, 1986, 145, 133-42.
- Maupoil, V., Bronquard, C., Freslon, J. L., Cosnay, P. et Findlay, I., Ectopic activity in the rat pulmonary vein can arise from simultaneous activation of alpha1- and beta1-adrenoceptors, *Br J Pharmacol*, 2007, 150, (7), 899-905.

- McCloskey, D. T., Rokosh, D. G., O'Connell, T. D., Keung, E. C., Simpson, P. C. et Baker, A. J., Alpha(1)-adrenoceptor subtypes mediate negative inotropy in myocardium from alpha(1A/C)-knockout and wild type mice, *J Mol Cell Cardiol*, 2002, 34, (8), 1007-17.
- Meidell, R. S., Sen, A., Henderson, S. A., Slahetka, M. F. et Chien, K. R., Alpha 1-adrenergic stimulation of rat myocardial cells increases protein synthesis, *Am J Physiol*, 1986, 251, (5 Pt 2), H1076-84.
- Melnyk, P., Ehrlich, J. R., Pourrier, M., Villeneuve, L., Cha, T. J. et Nattel, S., Comparison of ion channel distribution and expression in cardiomyocytes of canine pulmonary veins versus left atrium, *Cardiovasc Res*, 2005, 65, (1), 104-16.
- Miller, J. W., Hu, Z. W., Okazaki, M., Fujinaga, M. et Hoffman, B. B., Expression of alpha 1 adrenergic receptor subtype mRNAs in the rat cardiovascular system with aging, *Mech Ageing Dev*, 1996, 87, (2), 75-89.
- Milligan, G. et Kostenis, E., Heterotrimeric G-proteins: a short history, *Br J Pharmacol*, 2006, 147 Suppl 1, S46-55.
- Millino, C., Sarinella, F., Tiveron, C., Villa, A., Sartore, S. et Ausoni, S., Cardiac and smooth muscle cell contribution to the formation of the murine pulmonary veins, *Dev Dyn*, 2000, 218, (3), 414-25.
- Miyauchi, Y., Hayashi, H., Miyauchi, M., Okuyama, Y., Mandel, W. J., Chen, P. S. et Karagueuzian, H. S., Heterogeneous pulmonary vein myocardial cell repolarization implications for reentry and triggered activity, *Heart Rhythm*, 2005, 2, (12), 1339-45.
- Molderings, G. J. et Schumann, H. J., Influence of cyclooxygenase inhibitors and of lithium on the positive inotropic effect mediated by alpha 1-adrenoceptors in guinea-pig left atrium, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1987, 336, (4), 403-8.
- Molina-Viamonte, V., Anyukhovsky, E. P. et Rosen, M. R., An alpha-1-adrenergic receptor subtype is responsible for delayed afterdepolarizations and triggered activity during simulated ischemia and reperfusion of isolated canine Purkinje fibers, *Circulation*, 1991, 84, (4), 1732-40.
- Mommersteeg, M. T., Brown, N. A., Prall, O. W., de Gier-de Vries, C., Harvey, R. P., Moorman, A. F. et Christoffels, V. M., Pitx2c and Nkx2-5 are required for the formation and identity of the pulmonary myocardium, *Circ Res*, 2007, 101, (9), 902-9.

Montagne, O., Le Corvoisier, P., Guenoun, T., Laplace, M. et Crozatier, B., Impaired alpha1-adrenergic responses in aged rat hearts, *Fundam Clin Pharmacol*, 2005, 19, (3), 331-9.

Moorman, J. R., Palmer, C. J., John, J. E., 3rd, Durieux, M. E. et Jones, L. R., Phospholemman expression induces a hyperpolarization-activated chloride current in *Xenopus* oocytes, *J Biol Chem*, 1992, 267, (21), 14551-4.

Morano, I., Hofmann, F., Zimmer, M. et Ruegg, J. C., The influence of P-light chain phosphorylation by myosin light chain kinase on the calcium sensitivity of chemically skinned heart fibres, *FEBS Lett*, 1985, 189, (2), 221-4.

Morel, E., Meyronet, D., Thivolet-Bejuy, F. et Chevalier, P., Identification and distribution of interstitial Cajal cells in human pulmonary veins, *Heart Rhythm*, 2008, 5, (7), 1063-7.

Movsesian, M. A., Nishikawa, M. et Adelstein, R. S., Phosphorylation of phospholamban by calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase. Stimulation of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium uptake, *J Biol Chem*, 1984, 259, (13), 8029-32.

Mukherjee, A., Haghani, Z., Brady, J., Bush, L., McBride, W., Buja, L. M. et Willerson, J. T., Differences in myocardial alpha- and beta-adrenergic receptor numbers in different species, *Am J Physiol*, 1983, 245, (6), H957-61.

Myslivecek, J., Novakova, M., Palkovits, M., Krizanova, O. et Kvetnansky, R., Distribution of mRNA and binding sites of adrenoceptors and muscarinic receptors in the rat heart, *Life Sci*, 2006, 79, (2), 112-20.

Nathan, H. et Eliakim, M., The junction between the left atrium and the pulmonary veins. An anatomic study of human hearts, *Circulation*, 1966, 34, (3), 412-22.

Nathan, H. et Gloobe, H., Myocardial atrio-venous junctions and extensions (sleeves) over the pulmonary and caval veins. Anatomical observations in various mammals, *Thorax*, 1970, 25, (3), 317-24.

Nattel, S., New ideas about atrial fibrillation 50 years on, *Nature*, 2002, 415, (6868), 219-26.

Nattel, S., Maguy, A., Le Bouter, S. et Yeh, Y. H., Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation, *Physiol Rev*, 2007, 87, (2), 425-56.

Nattel, S. et Opie, L. H., Controversies in atrial fibrillation, *Lancet*, 2006, 367, (9506), 262-72.

- Nawrath, H., Adrenoceptor-mediated changes of excitation and contraction in isolated heart muscle preparations, *J Cardiovasc Pharmacol*, 1989, 14 Suppl 3, S1-10.
- Nishimaru, K., Kobayashi, M., Matsuda, T., Tanaka, Y., Tanaka, H. et Shigenobu, K., alpha-Adrenoceptor stimulation-mediated negative inotropism and enhanced Na(+)/Ca(2+) exchange in mouse ventricle, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280, (1), H132-41.
- Nishizuka, Y., Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C, *Science*, 1992, 258, (5082), 607-14.
- Nishizuka, Y., Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses, *FASEB J*, 1995, 9, (7), 484-96.
- Noland, T. A., Jr. et Kuo, J. F., Protein kinase C phosphorylation of cardiac troponin I or troponin T inhibits Ca2(+)-stimulated actomyosin MgATPase activity, *J Biol Chem*, 1991, 266, (8), 4974-8.
- Ono, N., Hayashi, H., Kawase, A., Lin, S. F., Li, H., Weiss, J. N., Chen, P. S. et Karagueuzian, H. S., Spontaneous atrial fibrillation initiated by triggered activity near the pulmonary veins in aged rats subjected to glycolytic inhibition, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292, (1), H639-48.
- Osnes, J. B., Aass, H. et Skomedal, T., Adrenoceptors in myocardial regulation: concomitant contribution from both alpha- and beta-adrenoceptor stimulation to the inotropic response, *Basic Res Cardiol*, 1989, 84 Suppl 1, 9-17.
- Otani, H. et Das, D. K., Alpha 1-adrenoceptor-mediated phosphoinositide breakdown and inotropic response in rat left ventricular papillary muscles, *Circ Res*, 1988, 62, (1), 8-17.
- Otani, H., Oshiro, A., Yagi, M. et Inagaki, C., Pertussis toxin-sensitive and -insensitive mechanisms of alpha1-adrenoceptor-mediated inotropic responses in rat heart, *Eur J Pharmacol*, 2001, 419, (2-3), 249-52.
- Ott, A., Breteler, M. M., de Bruyne, M. C., van Harskamp, F., Grobbee, D. E. et Hofman, A., Atrial fibrillation and dementia in a population-based study. The Rotterdam Study, *Stroke*, 1997, 28, (2), 316-21.
- Pabbathi, V. K., Zhang, Y. H., Mitcheson, J. S., Hinde, A. K., Perchenet, L., Arberry, L. A., Levi, A. J. et Hancox, J. C., Comparison of Na(+)/Ca(2+) exchanger current and of its response to isoproterenol between acutely isolated and short-term cultured adult ventricular myocytes, *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 297, (2), 302-8.

- Paes de Almeida, O., Bohm, C. M., de Paula Carvalho, M. et Paes de Carvalho, A., The cardiac muscle in the pulmonary vein of the rat: a morphological and electrophysiological study, *J Morphol*, 1975, 145, (4), 409-33.
- Patterson, E., Po, S. S., Scherlag, B. J. et Lazzara, R., Triggered firing in pulmonary veins initiated by in vitro autonomic nerve stimulation, *Heart Rhythm*, 2005, 2, (6), 624-31.
- Perez-Lugones, A., McMahon, J. T., Ratliff, N. B., Saliba, W. I., Schweikert, R. A., Marrouche, N. F., Saad, E. B., Navia, J. L., McCarthy, P. M., Tchou, P., Gillinov, A. M. et Natale, A., Evidence of specialized conduction cells in human pulmonary veins of patients with atrial fibrillation, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2003, 14, (8), 803-9.
- Po, S. S., Li, Y., Tang, D., Liu, H., Geng, N., Jackman, W. M., Scherlag, B., Lazzara, R. et Patterson, E., Rapid and stable re-entry within the pulmonary vein as a mechanism initiating paroxysmal atrial fibrillation, *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45, (11), 1871-7.
- Popescu, L. M., Gherghiceanu, M., Hinescu, M. E., Cretoiu, D., Ceafalan, L., Regalia, T., Popescu, A. C., Ardeleanu, C. et Mandache, E., Insights into the interstitium of ventricular myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLC), *J Cell Mol Med*, 2006, 10, (2), 429-58.
- Presti, C. F., Scott, B. T. et Jones, L. R., Identification of an endogenous protein kinase C activity and its intrinsic 15-kilodalton substrate in purified canine cardiac sarcolemmal vesicles, *J Biol Chem*, 1985, 260, (25), 13879-89.
- Priori, S. G. et Corr, P. B., Mechanisms underlying early and delayed afterdepolarizations induced by catecholamines, *Am J Physiol*, 1990, 258, (6 Pt 2), H1796-805.
- Puceat, M., Clement, O., Lechene, P., Pelosin, J. M., Ventura-Clapier, R. et Vassort, G., Neurohormonal control of calcium sensitivity of myofilaments in rat single heart cells, *Circ Res*, 1990, 67, (2), 517-24.
- Puceat, M., Terzic, A., Clement, O., Scamps, F., Vogel, S. M. et Vassort, G., Cardiac alpha 1-adrenoceptors mediate positive inotropy via myofibrillar sensitization, *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13, (7), 263-5.
- Puceat, M., Clement-Chomienne, O., Terzic, A. et Vassort, G., Alpha 1-adrenoceptor and purinoceptor agonists modulate Na-H antiport in single cardiac cells, *Am J Physiol*, 1993, 264, (2 Pt 2), H310-9.
- Puceat, M. et Vassort, G., Signalling by protein kinase C isoforms in the heart, *Mol Cell Biochem*, 1996, 157, (1-2), 65-72.

- Qu, Y., Rogers, J., Tanada, T., Scheuer, T. et Catterall, W. A., Modulation of cardiac Na⁺ channels expressed in a mammalian cell line and in ventricular myocytes by protein kinase C, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91, (8), 3289-93.
- Ramirez, R. J., Nattel, S. et Courtemanche, M., Mathematical analysis of canine atrial action potentials: rate, regional factors, and electrical remodeling, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 279, (4), H1767-85.
- Reinhardt, D., Wagner, J. et Schumann, H. J., Influence of temperature on the sensitivity of the α -receptors and the contractility of guinea-pig atrium, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1972, 275, (1), 95-104.
- Rokoshe, D. G. et Sulakhe, P. V., Characteristics of α_1 -adrenoceptors coupled to inotropic response and phosphoinositide metabolism in rat myocardium, *Circulation*, 1991, 84, II-389.
- Roman, B. B., Goldspink, P. H., Spaite, E., Urboniene, D., McKinney, R., Geenen, D. L., Solaro, R. J. et Buttrick, P. M., Inhibition of PKC phosphorylation of cTnI improves cardiac performance in vivo, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 286, (6), H2089-95.
- Rosen, M. R., Steinberg, S. F., Chow, Y. K., Bilezikian, J. P. et Danilo, P., Jr., Role of a pertussis toxin-sensitive protein in the modulation of canine Purkinje fiber automaticity, *Circ Res*, 1988, 62, (2), 315-23.
- Rudner, X. L., Berkowitz, D. E., Booth, J. V., Funk, B. L., Cozart, K. L., D'Amico, E. B., El-Moalem, H., Page, S. O., Richardson, C. D., Winters, B., Marucci, L. et Schwinn, D. A., Subtype specific regulation of human vascular $\alpha(1)$ -adrenergic receptors by vessel bed and age, *Circulation*, 1999, 100, (23), 2336-43.
- Saito, T., Waki, K. et Becker, A. E., Left atrial myocardial extension onto pulmonary veins in humans: anatomic observations relevant for atrial arrhythmias, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2000, 11, (8), 888-94.
- Sato, R. et Koumi, S., Modulation of the inwardly rectifying K⁺ channel in isolated human atrial myocytes by α 1-adrenergic stimulation, *J Membr Biol*, 1995, 148, (2), 185-91.
- Scavee, C., Jais, P., Hsu, L. F., Sanders, P., Hocini, M., Weerasooriya, R., Macle, L., Raybaud, F., Clementy, J. et Haissaguerre, M., Prospective randomised comparison of irrigated-tip and large-tip catheter ablation of cavotricuspid isthmus-dependent atrial flutter, *Eur Heart J*, 2004, 25, (11), 963-9.

Scherlag, B. J., Yeh, B. K. et Robinson, M. J., Inferior interatrial pathway in the dog, *Circ Res*, 1972, 31, (1), 18-35.

Schimmel, R. J., Roles of alpha and beta adrenergic receptors in control of glucose oxidation in hamster epididymal adipocytes, *Biochim Biophys Acta*, 1976, 428, (2), 379-87.

Schmitz, W., Scholz, H., Scholz, J., Steinfath, M., Lohse, M., Puurunen, J. et Schwabe, U., Pertussis toxin does not inhibit the alpha 1-adrenoceptor-mediated effect on inositol phosphate production in the heart, *Eur J Pharmacol*, 1987, 134, (3), 377-8.

Scholz, H., Bruckner, R., Mugge, A. et Reupcke, C., Myocardial alpha-adrenoceptors and positive inotropy, *J Mol Cell Cardiol*, 1986, 18 Suppl 5, 79-87.

Scholz, J., Schaefer, B., Schmitz, W., Scholz, H., Steinfath, M., Lohse, M., Schwabe, U. et Puurunen, J., Alpha-1 adrenoceptor-mediated positive inotropic effect and inositol trisphosphate increase in mammalian heart, *J Pharmacol Exp Ther*, 1988, 245, (1), 327-35.

Scholz, J., Troll, U., Sandig, P., Schmitz, W., Scholz, H. et Schulte Am Esch, J., Existence and alpha 1-adrenergic stimulation of inositol polyphosphates in mammalian heart, *Mol Pharmacol*, 1992, 42, (1), 134-40.

Seol, C. A., Kim, W. T., Ha, J. M., Choe, H., Jang, Y. J., Youm, J. B., Earm, Y. E. et Leem, C. H., Stretch-activated currents in cardiomyocytes isolated from rabbit pulmonary veins, *Prog Biophys Mol Biol*, 2008, 97, (2-3), 217-31.

Shah, A., Cohen, I. S. et Rosen, M. R., Stimulation of cardiac alpha receptors increases Na/K pump current and decreases gK via a pertussis toxin-sensitive pathway, *Biophys J*, 1988, 54, (2), 219-25.

Shiroshita-Takeshita, A., Brundel, B. J. et Nattel, S., Atrial fibrillation: basic mechanisms, remodeling and triggers, *J Interv Card Electrophysiol*, 2005, 13, (3), 181-93.

Simpson, P., Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha 1 adrenergic response, *J Clin Invest*, 1983, 72, (2), 732-8.

Simpson, P., Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an alpha 1-adrenergic receptor and induction of beating through an alpha 1- and beta 1-adrenergic receptor interaction. Evidence for independent regulation of growth and beating, *Circ Res*, 1985, 56, (6), 884-94.

Simpson, P. C., Role of proto-oncogenes in myocardial hypertrophy, *Am J Cardiol*, 1988, 62, (11), 13G-19G.

Simpson, P. C., Kariya, K., Karns, L. R., Long, C. S. et Karliner, J. S., Adrenergic hormones and control of cardiac myocyte growth, *Mol Cell Biochem*, 1991, 104, (1-2), 35-43.

Skomedal, T. et Osnes, J. B., Qualitative differences between the inotropic responses in rat papillary muscles to alpha-adrenoceptor and beta-adrenoceptor stimulation by both noradrenaline and adrenaline, *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 1983, 52, (1), 57-67.

Skomedal, T., Schiander, I. G., Husoy, E. A., Tveiten, A. et Osnes, J. B., Lithium increases the alpha 1-adrenoceptor mediated inotropic effect in rat heart, *Pharmacol Toxicol*, 1991, 68, (2), 88-92.

Sola, C., Thibault, G., Haile-Meskel, H., Anand-Srivastava, M. B., Garcia, R. et Cantin, M., Atrial natriuretic factor in the vena cava and sinus node, *J Histochem Cytochem*, 1990, 38, (8), 1123-35.

Sosunov, E. A., Obreztkhikova, M. N., Anyukhovsky, E. P., Moise, N. S., Danilo, P., Jr., Robinson, R. B. et Rosen, M. R., Mechanisms of alpha-adrenergic potentiation of ventricular arrhythmias in dogs with inherited arrhythmic sudden death, *Cardiovasc Res*, 2004, 61, (4), 715-23.

Starksen, N. F., Simpson, P. C., Bishopric, N., Coughlin, S. R., Lee, W. M., Escobedo, J. A. et Williams, L. T., Cardiac myocyte hypertrophy is associated with c-myc protooncogene expression, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986, 83, (21), 8348-50.

Sweeney, C. M., Jones, J. F. et Bund, S. J., Adrenoceptor and cholinceptor modulation of rat pulmonary vein cardiac muscle contractility, *Vascul Pharmacol*, 2007, 46, (3), 166-70.

Takanashi, M., Norota, I. et Endoh, M., Potent inhibitory action of chlorethylclonidine on the positive inotropic effect and phosphoinositide hydrolysis mediated via myocardial alpha 1-adrenoceptors in the rabbit ventricular myocardium, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1991, 343, (6), 669-73.

Takeda, N., Nakamura, I., Ohkubo, T., Iwai, T., Tanamura, A. et Nagano, M., Effects of long term treatment with an alpha 1 adrenoceptor blocker on cardiac hypertrophy, contractility, and myosin isoenzymes in spontaneously hypertensive rats, *Cardiovasc Res*, 1991, 25, (7), 565-7.

- Talosi, L. et Kranias, E. G., Effect of alpha-adrenergic stimulation on activation of protein kinase C and phosphorylation of proteins in intact rabbit hearts, *Circ Res*, 1992, 70, (4), 670-8.
- Tanaka, H., Manita, S., Matsuda, T., Adachi, M. et Shigenobu, K., Sustained negative inotropism mediated by alpha-adrenoceptors in adult mouse myocardia: developmental conversion from positive response in the neonate, *Br J Pharmacol*, 1995, 114, (3), 673-7.
- Tasaka, H., Krug, E. L. et Markwald, R. R., Origin of the pulmonary venous orifice in the mouse and its relation to the morphogenesis of the sinus venosus, extracardiac mesenchyme (spina vestibuli), and atrium, *Anat Rec*, 1996, 246, (1), 107-13.
- Terzic, A. et Vogel, S. M., Amiloride-sensitive actions of an alpha-adrenoceptor agonist and ouabain in rat atria, *J Mol Cell Cardiol*, 1990, 22, (4), 391-402.
- Terzic, A., Puceat, M., Clement, O., Scamps, F. et Vassort, G., Alpha 1-adrenergic effects on intracellular pH and calcium and on myofilaments in single rat cardiac cells, *J Physiol*, 1992, 447, 275-92.
- Terzic, A., Puceat, M., Vassort, G. et Vogel, S. M., Cardiac alpha 1-adrenoceptors: an overview, *Pharmacol Rev*, 1993, 45, (2), 147-75.
- Thollon, C., Cambarrat, C., Vian, J., Prost, J. F., Peglion, J. L. et Vilaine, J. P., Electrophysiological effects of S 16257, a novel sino-atrial node modulator, on rabbit and guinea-pig cardiac preparations: comparison with UL-FS 49, *Br J Pharmacol*, 1994, 112, (1), 37-42.
- Thollon, C., Bedut, S., Villeneuve, N., Cogé, F., Piffard, L., Guillaumin, J. P., Brunel-Jacquemin, C., Chomar, P., Boutin, J. A., Peglion, J. L. et Vilaine, J. P., Use-dependent inhibition of hHCN4 by ivabradine and relationship with reduction in pacemaker activity, *Br J Pharmacol*, 2007, 150, (1), 37-46.
- Tohse, N., [Analysis of membrane current system involved in the inotropic effects mediated by alpha-adrenoceptors in the heart], *Hokkaido Igaku Zasshi*, 1988, 63, (5), 754-71.
- Tohse, N., Hattori, Y., Nakaya, H. et Kanno, M., Effects of alpha-adrenoceptor stimulation on electrophysiological properties and mechanics in rat papillary muscle, *Gen Pharmacol*, 1987, 18, (5), 539-46.
- Tohse, N., Kameyama, M. et Irisawa, H., Intracellular Ca²⁺ and protein kinase C modulate K⁺ current in guinea pig heart cells, *Am J Physiol*, 1987, 253, (5 Pt 2), H1321-4.

- Tohse, N., Nakaya, H., Hattori, Y., Endou, M. et Kanno, M., Inhibitory effect mediated by alpha 1-adrenoceptors on transient outward current in isolated rat ventricular cells, *Pflugers Arch*, 1990, 415, (5), 575-81.
- Tsai, C. F., Tai, C. T., Hsieh, M. H., Lin, W. S., Yu, W. C., Ueng, K. C., Ding, Y. A., Chang, M. S. et Chen, S. A., Initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating from the superior vena cava: electrophysiological characteristics and results of radiofrequency ablation, *Circulation*, 2000, 102, (1), 67-74.
- Tseng, G. N. et Boyden, P. A., Different effects of intracellular Ca and protein kinase C on cardiac T and L Ca currents, *Am J Physiol*, 1991, 261, (2 Pt 2), H364-79.
- van den Hoff, M. J., Kruithof, B. P. et Moorman, A. F., Making more heart muscle, *Bioessays*, 2004, 26, (3), 248-61.
- Varma, D. R. et Deng, X. F., Cardiovascular alpha1-adrenoceptor subtypes: functions and signaling, *Can J Physiol Pharmacol*, 2000, 78, (4), 267-92.
- Varma, D. R., Rindt, H., Chemtob, S. et Mulay, S., Mechanism of the negative inotropic effects of alpha 1-adrenoceptor agonists on mouse myocardium, *Can J Physiol Pharmacol*, 2003, 81, (8), 783-9.
- Vaughan-Jones, R. D., Eisner, D. A. et Lederer, W. J., Effects of changes of intracellular pH on contraction in sheep cardiac Purkinje fibers, *J Gen Physiol*, 1987, 89, (6), 1015-32.
- Venema, R. C. et Kuo, J. F., Protein kinase C-mediated phosphorylation of troponin I and C-protein in isolated myocardial cells is associated with inhibition of myofibrillar actomyosin MgATPase, *J Biol Chem*, 1993, 268, (4), 2705-11.
- Venema, R. C., Raynor, R. L., Noland, T. A., Jr. et Kuo, J. F., Role of protein kinase C in the phosphorylation of cardiac myosin light chain 2, *Biochem J*, 1993, 294 (Pt 2), 401-6.
- Verheule, S., Wilson, E. E., Arora, R., Engle, S. K., Scott, L. R. et Olgin, J. E., Tissue structure and connexin expression of canine pulmonary veins, *Cardiovasc Res*, 2002, 55, (4), 727-38.
- Verheule, S., Sato, T., Everett, T. t., Engle, S. K., Otten, D., Rubart-von der Lohe, M., Nakajima, H. O., Nakajima, H., Field, L. J. et Olgin, J. E., Increased vulnerability to atrial fibrillation in transgenic mice with selective atrial fibrosis caused by overexpression of TGF-beta1, *Circ Res*, 2004, 94, (11), 1458-65.

Volders, P. G., Vos, M. A., Szabo, B., Sipido, K. R., de Groot, S. H., Gorgels, A. P., Wellens, H. J. et Lazzara, R., Progress in the understanding of cardiac early afterdepolarizations and torsades de pointes: time to revise current concepts, *Cardiovasc Res*, 2000, 46, (3), 376-92.

Volkmer, M., Antz, M., Hebe, J. et Kuck, K. H., Focal atrial tachycardia originating from the musculature of the coronary sinus, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2002, 13, (1), 68-71.

Wagner, J. et Brodde, O. E., On the presence and distribution of alpha-adrenoceptors in the heart of various mammalian species, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1978, 302, (3), 239-54.

Wald, M., Borda, E. S. et Sterin-Borda, L., Alpha-adrenergic supersensitivity and decreased number of alpha-adrenoceptors in heart from acute diabetic rats, *Can J Physiol Pharmacol*, 1988, 66, (9), 1154-60.

Wallert, M. A. et Frohlich, O., Alpha 1-adrenergic stimulation of Na-H exchange in cardiac myocytes, *Am J Physiol*, 1992, 263, (5 Pt 1), C1096-102.

Walsh, K. B. et Kass, R. S., Regulation of a heart potassium channel by protein kinase A and C, *Science*, 1988, 242, (4875), 67-9.

Wang, G. Y., McCloskey, D. T., Turcato, S., Swigart, P. M., Simpson, P. C. et Baker, A. J., Contrasting inotropic responses to alpha1-adrenergic receptor stimulation in left versus right ventricular myocardium, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291, (4), H2013-7.

Wang, H., Yang, B., Zhang, Y., Han, H., Wang, J., Shi, H. et Wang, Z., Different subtypes of alpha1-adrenoceptor modulate different K⁺ currents via different signaling pathways in canine ventricular myocytes, *J Biol Chem*, 2001, 276, (44), 40811-6.

Wang, S. N., Fontenot, H. J. et Kennedy, R. H., Alpha 1D-adrenoceptors play little role in the positive inotropic action of phenylephrine, *Eur J Pharmacol*, 1997, 321, (1), 39-43.

Wang, T. M., Chiang, C. E., Sheu, J. R., Tsou, C. H., Chang, H. M. et Luk, H. N., Homogenous distribution of fast response action potentials in canine pulmonary vein sleeves: a contradictory report, *Int J Cardiol*, 2003, 89, (2-3), 187-95.

Waspe, L. E., Ordahl, C. P. et Simpson, P. C., The cardiac beta-myosin heavy chain isogene is induced selectively in alpha 1-adrenergic receptor-stimulated hypertrophy of cultured rat heart myocytes, *J Clin Invest*, 1990, 85, (4), 1206-14.

Webb, S., Brown, N. A., Wessels, A. et Anderson, R. H., Development of the murine pulmonary vein and its relationship to the embryonic venous sinus, *Anat Rec*, 1998, 250, (3), 325-34.

Wenzel, D. G. et Su, J. L., Interactions between sympathomimetic amines and blocking agents on the rat ventricle strip, *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1966, 160, (2), 379-89.

Wettschureck, N. et Offermanns, S., Mammalian G proteins and their cell type specific functions, *Physiol Rev*, 2005, 85, (4), 1159-204.

Wijffels, M. C., Kirchhof, C. J., Dorland, R. et Allessie, M. A., Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats, *Circulation*, 1995, 92, (7), 1954-68.

Williamson, A. P., Kennedy, R. H., Seifen, E., Lindemann, J. P. et Stimers, J. R., Alpha 1b-adrenoceptor-mediated stimulation of Na-K pump current in adult rat ventricular myocytes, *Am J Physiol*, 1993, 264, (4 Pt 2), H1315-8.

Wit, A. L. et Cranefield, P. F., Triggered and automatic activity in the canine coronary sinus, *Circ Res*, 1977, 41, (4), 434-45.

Wolf, P. A., Abbott, R. D. et Kannel, W. B., Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study, *Stroke*, 1991, 22, (8), 983-8.

Wongcharoen, W., Chen, Y. C., Chen, Y. J., Chang, C. M., Yeh, H. I., Lin, C. I. et Chen, S. A., Effects of a Na⁺/Ca²⁺ exchanger inhibitor on pulmonary vein electrical activity and ouabain-induced arrhythmogenicity, *Cardiovasc Res*, 2006, 70, (3), 497-508.

Wongcharoen, W., Chen, Y. C., Chen, Y. J., Chen, S. Y., Yeh, H. I., Lin, C. I. et Chen, S. A., Aging increases pulmonary veins arrhythmogenesis and susceptibility to calcium regulation agents, *Heart Rhythm*, 2007, 4, (10), 1338-49.

Wongcharoen, W., Chen, Y. C., Chen, Y. J., Lin, C. I. et Chen, S. A., Effects of aging and ouabain on left atrial arrhythmogenicity, *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2007, 18, (5), 526-31.

Xia, M., Jin, Q., Bendahhou, S., He, Y., Larroque, M. M., Chen, Y., Zhou, Q., Yang, Y., Liu, Y., Liu, B., Zhu, Q., Zhou, Y., Lin, J., Liang, B., Li, L., Dong, X., Pan, Z., Wang, R., Wan, H., Qiu, W., Xu, W., Eurlings, P. et Barhanin, J., A Kir2.1 gain-of-function mutation underlies familial atrial fibrillation, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332, (4), 1012-9.

Xu, K. M., Tang, F. et Han, C., Alterations of mRNA levels of alpha 1-adrenoceptor subtypes with maturation and ageing in different rat blood vessels, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1997, 24, (6), 415-7.

Yamamoto, M., Dobrzynski, H., Tellez, J., Niwa, R., Billeter, R., Honjo, H., Kodama, I. et Boyett, M. R., Extended atrial conduction system characterised by the expression of the HCN4 channel and connexin45, *Cardiovasc Res*, 2006, 72, (2), 271-81.

Yang, Y., Xia, M., Jin, Q., Bendahhou, S., Shi, J., Chen, Y., Liang, B., Lin, J., Liu, Y., Liu, B., Zhou, Q., Zhang, D., Wang, R., Ma, N., Su, X., Niu, K., Pei, Y., Xu, W., Chen, Z., Wan, H., Cui, J. et Barhanin, J., Identification of a KCNE2 gain-of-function mutation in patients with familial atrial fibrillation, *Am J Hum Genet*, 2004, 75, (5), 899-905.

Yokota, R. et Yamauchi, A., Occurrence of cardiac muscle in the hepatic portal vein wall of the mouse and rat, *Anat Rec*, 1985, 212, (1), 23-32.

Yue, L., Feng, J., Gaspo, R., Li, G. R., Wang, Z. et Nattel, S., Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation, *Circ Res*, 1997, 81, (4), 512-25.

Yue, L., Melnyk, P., Gaspo, R., Wang, Z. et Nattel, S., Molecular mechanisms underlying ionic remodeling in a dog model of atrial fibrillation, *Circ Res*, 1999, 84, (7), 776-84.

Zaza, A., Kline, R. P. et Rosen, M. R., Effects of alpha-adrenergic stimulation on intracellular sodium activity and automaticity in canine Purkinje fibers, *Circ Res*, 1990, 66, (2), 416-26.

Zhang, Y. Y., Xu, K. M. et Han, C., Alpha(1)-adrenoceptor subtypes mediating inotropic responses in rat heart, *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 291, (2), 829-36.

Zitron, E., Gunth, M., Scherer, D., Kiesecker, C., Kulzer, M., Bloehs, R., Scholz, E. P., Thomas, D., Weidenhammer, C., Kathofer, S., Bauer, A., Katus, H. A. et Karle, C. A., Kir2.x inward rectifier potassium channels are differentially regulated by adrenergic alpha1A receptors, *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44, (1), 84-94.

Sites web consultés

Site de Sorin Group. [14 octobre 2009] http://www.sorin-crm.com/img/Coronary_sinus_sm.jpg

Site de l'Université de Nantes. [14 octobre 2009] <http://www.sante.univ-nantes.fr/med/physio/2008chapitre04.pdf>



Nicolas DOISNE

Caractérisation de l'Activité Automatique au niveau de la Veine Pulmonaire du Rat



Rôle des Récepteurs α_1 -Adrénrgiques

Résumé

Les mécanismes impliqués dans l'activation de foyers ectopiques dans les veines thoraciques, source de fibrillation auriculaire (FA) chez l'Homme, sont encore méconnus. Nous avons montré que la noradrénaline peut induire une activité automatique sur la veine pulmonaire (VP) mais pas sur l'oreillette gauche (OG) chez le Rat.

Au cours de cette étude, nous avons montré : 1) un potentiel de membrane de repos dépolarisé dans la VP et la veine cave supérieure (VCS) par rapport à l'OG ainsi que la présence d'une activité automatique en salves sur la VP ; 2) une dépolarisation due à la stimulation des récepteurs α_1 -adrénrgiques (α_1 -AR) plus importante sur la VP que sur les deux autres tissus qui induit une inexcitabilité de la VP et la VCS ; 3) la présence d'une activité déclenchée favorisée par la stimulation des β_1 -AR sur la VCS ; 4) une diminution liée à l'âge de l'incidence de l'activité automatique catécholaminergique et des réponses à la stimulation des α_1 -AR sur la VP ainsi que la présence d'une activité déclenchée sous stimulation des α_1 -AR sur la VP chez les animaux âgés.

Nous avons donc pu mettre en évidence des différences fonctionnelles entre le myocarde des veines thoraciques et le tissu atrial. Cependant, la relation entre l'activité automatique observée sur la VP du Rat et la FA reste encore à établir.

Mots-clés : fibrillation auriculaire, veines thoraciques, activité automatique catécholaminergique, récepteurs α_1 -adrénrgiques, vieillissement.

Abstract

The mechanisms involved in the activation of ectopic foci within the thoracic veins, cause of atrial fibrillation (AF) in man, are still unknown. We shown that norepinephrine (NE) can induce an automatic activity in pulmonary vein (PV) but not in left atrium (LA) of the Rat.

In this study, we shown: 1) a depolarised resting membrane potential in PV and superior vena cava (SVC) compared with LA and the occurence of an automatic activity in repetitive bursts in PV; 2) a depolarisation due to α_1 -adrenergic receptors (α_1 -AR) stimulation more pronounced in PV than the other two tissues, which induce an inexcitability of the PV and the SVC; 3) the occurence of a triggered activity facilitated by the simulation of β_1 -AR in SVC; 4) a decrease with age of the incidence of the catecholaminergic automatic activity and responses to the stimulation of α_1 -AR in PV and the occurence of a triggered activity under stimulation of α_1 -adrenergic in PV of old animals.

Therefore, we have shown some fonctionnal differences between the myocardium of thoracic veins and atrial tissu. Nevertheless, the relationship between automatic activity observed in Rat PV and AF remains to establish.

Keywords: atrial fibrillation, thoracic veins, catecholaminergic automatic activity, α_1 -adrenergic receptors, aging.