

Stimulation purinergique et cœur : inotropisme et arythmie

Guy Vassort
Michel Pucéat

L'ATP est la source d'énergie cellulaire la plus importante. Présent en forte concentration à l'intérieur des cellules (mM), il agit aussi sur la face extracellulaire de la membrane (ATP_e), en concentration micromolaire (μM). Libéré avec les autres neurotransmetteurs par les terminaisons nerveuses, mais aussi par les cellules endothéliales et les plaquettes, son action est alors relayée par des récepteurs purinergiques spécifiques P2X et P2Y. L'ATP_e μM déclenche un courant transitoire non sélectif pour les cations et augmente le courant calcique soutenu I_{CaL}. La transmission intracellulaire du signal ATP comporte une élévation de la concentration cellulaire de Ca²⁺ et une forte acidose transitoire (1 minute) suivie d'une alcalose. Dans les conditions physiologiques, l'ATP a une action inotrope positive et chronotrope négative sur les cellules ventriculaires. En revanche, en concentration élevée, après lésion des cellules ou ischémie, l'ATP_e facilitant l'ouverture des courants potassiques hyperpolarise les cellules de la zone ischémisée et les rend non excitables, à l'inverse des cellules saines avoisinantes qu'il dépolarise, pouvant déclencher un automatisme anormal.

ADRESSE

G. Vassort: directeur de recherche à l'Inserm.
M. Pucéat: chargé de recherche à l'Inserm.
Inserm U. 390, Unité de recherches de physiopathologie cardiovasculaire, CHU Arnaud-de-Villeneuve, 371, avenue du Doyen-Gaston-Giraud, 34295 Montpellier Cedex 05, France.

Dans les cellules, l'ATP est très abondant (10 mM). Il est à la fois une source d'énergie directement utilisable par les transporteurs ioniques, un substrat pour les kinases qui phosphorylent diverses protéines, ou pour l'adénylyl cyclase, conduisant à la production d'un second messager intracellulaire, l'AMP cyclique; c'est aussi l'activateur allostérique de certains canaux. Paradoxalement, l'ATP est aussi un neurotransmetteur agissant à concentration micromolaire dans le milieu extracellulaire. Ce nucléotide triphosphate provient de nombreuses sources cellulaires et il peut être co-libéré avec d'autres neuromédiateurs par les terminaisons nerveuses [1]. Après les travaux prémonitoires de Drury et Szent-Gyorgyi [2], des études approfondies au cours des dix dernières années ont démontré que l'ATP exerce des modulations multiples, spécifiques,

Tableau I					
LES RÉCEPTEURS PURINERGIQUES					
	Récepteurs P1 (adénosine)			Récepteurs P2 (ATP)	
Sous-type	A ₁	A _{2a-b}	A ₃	P2X ₁₋₇	P2Y ₁₋₆
Voies de transduction	Protéines Gi/o (βγ)	G _s AMP cyclique	G _{i/o}	Canal cationique Na ⁺ /K ⁺ /Ca ²⁺	G _{q/11} /PLC/IP3 TK/PLCγ/IP3 ⁽²⁾
Tissu myocardique	+	- (1)	-	P2X ₃ , P2X ₅	?
Agonistes	CPA, CCPA	CGS21680, HE-NECA, ZM241385, SCH58261	2CI-IB-MECA		
Antagonistes	DPCPX		L268605		

+, - indiquent la présence ou l'absence de récepteurs du type considéré.

Il n'y a pas d'agoniste ni d'antagoniste spécifiques communs aux sous-types de récepteurs P2.

⁽¹⁾ Peu d'auteurs suggèrent l'existence de récepteurs A₂ sur les cellules myocardiques ; leur localisation est plus généralement présynaptique.

⁽²⁾ Il n'est pas clairement démontré que cette voie implique un récepteur P2Y.

CPA : cyclopentyladénosine ; CCPA : 2-chloro-N6-cyclopentyladénosine.

DPCPX : 1,3-dipropyl-8-cyclopentyladénosine.

CGS21680 : 2-(4-[2-carboxyéthyl]-phénéthylamino)adénosine-5'-N-éthylunoramide.

ZM241385 : 4-(2-[7-amino-2(furyl)](1,2,4)triazolo[2,3-a](1,3,5)triazin-5-yl-amino)éthylphénol.

SCH58261 : 5-amino-2-(2-furyl)-7-[phényléthylpyzarolo4-3-e]-1,2,4-triazolo[1,5c]pyrimidine.

2CI-IB-MECA : 2-chloro-N6-(3-iodobenzyl)adénosine-5'-N-méthylunoramide.

parfois contradictoires sur les cellules myocardiques par l'activation de très nombreux récepteurs purinergiques. A côté des récepteurs purinergiques P1 sensibles à l'adénosine, existent sans doute de nombreux récepteurs purinergiques P2 cardiaques. En l'absence d'agonistes et d'antagonistes spécifiques communs aux récepteurs P2, ceux-ci ont d'abord été classés selon leur sensibilité à divers analogues de l'ATP (Tableau I). Actuellement, il est possible de séparer les récepteurs purinergiques P2X, membres d'une superfamille de canaux ioniques activés par un ligand, des récepteurs P2Y qui impliquent une protéine G pour activer la voie de transmission intracellulaire. A ce jour les gènes codant pour sept récepteurs purinergiques P2X ont été clonés ; deux d'entre eux, P2X₃ et P2X₅, donnent un fort signal en *Northern Blot* de tissu cardiaque. Ces récepteurs sont des candidats potentiels à la génération de la conductance cationique non spécifique. Parmi les six récepteurs purinergiques P2Y dont les gènes ont été clonés, aucun n'est spécifique des cardiomyocytes, mais la synthèse d'un récepteur P2Y est observée en *Northern blot* dans le cœur de rat et

de souris [3]. Étant donné la diversité des effets et des voies de transmission impliqués lors d'une stimulation par l'ATP, l'expansion des familles de récepteurs purinergiques P2X et P2Y [4] pourrait se poursuivre. L'ATP est libéré par les terminaisons nerveuses du système autonome en même temps que les transmetteurs usuels, l'acétylcholine et la noradrénaline, mais il est aussi libéré par les cellules endothéliales et les plaquettes où il est stocké dans les granules denses. Les érythrocytes soumis à l'hypoxie constituent une autre source d'ATP. La concentration circulante en ATP est faible dans les conditions normales, mais elle peut augmenter notablement (20 μM) dans diverses conditions pathologiques. Après libération, l'ATP est rapidement dégradé (1 minute) en ADP, AMP et adénosine par des ectoenzymes présentes à la surface cellulaire [4] ou par des nucléotidases colibérées avec l'ATP [6]. Ainsi, les effets de l'ATP lui-même seront limités dans le temps et dans l'espace ; certains effets seront prolongés, d'autres contrecarrés par l'adénosine. Le présent article est dédié essentiellement à l'analyse des effets de l'ATP extracellulaire.

Modulation des courants ioniques

Jusqu'à récemment, les effets de l'adénosine ont été plus étudiés que ceux de l'ATP. Comme l'acétylcholine, l'adénosine raccourcit le potentiel d'action des cellules nodales et auriculaires (mais pas celui des cellules ventriculaires) par activation de la conductance potassique dans les cellules auriculaires, principalement relayée par les sous-unités βγ des protéines G_{i/o}. L'adénosine augmente aussi la conductance du courant potassique I_{K(ATP)}, courant sortant dépendant de la concentration intracellulaire d'ATP, à la suite de l'activation de ces mêmes protéines G. En outre, par la même voie de couplage, l'adénosine contrecarre la stimulation β-adrénergique dans toutes les cellules auriculaires et ventriculaires en réduisant la production d'AMP cyclique. Ainsi, l'adénosine réduit le courant calcique préalablement stimulé par l'isoprotérénol mais n'affecte pas le courant calcique basal [7].

Effets sur les courants ioniques sortants

Comme l'adénosine, l'ATP, appliqué à une concentration micromolaire

sur des cellules auriculaires, active un courant potassique « *inward rectifier* »* [8]. De plus, dans les cellules auriculaires et ventriculaires, l'ATP déclenche un courant transitoire non sélectif pour les cations (I_{CNS} ; potentiel d'inversion vers 0 mV) qui a été attribué à l'activation directe d'un canal par le ligand (figure 1). Divers analogues de l'ATP activent ce courant dépolarisant, l'ADP très faiblement tandis que le dérivé $\alpha\beta$ met-ATP empêche les effets de l'ATP [9]. Outre ce courant cationique, l'ATP active un courant d'anions chlorure [10].

Dans les cellules de l'oreillette, l'ATP, agissant sur un récepteur non P1-purinergique, active aussi bien le courant potassique rectificateur retardé (I_{Kdel}), un courant à activation lente dans le sens sortant, que le courant muscarinique (I_{KAch}) [11, 12]. Dans les conditions normales, la stimulation purinergique ne déclenche pas le courant potassique sensible à l'ATP intracellulaire, $I_{K(ATP)}$, mais il peut l'augmenter fortement après activation de ce courant par des conditions métaboliques déficientes, comme une dialyse intracellulaire par une solution appauvrie en ATP (100 μ M) [13].

Effets sur les courants ioniques entrants

Les deux courants calciques cardiaques: I_{CaT} , courant transitoire de bas seuil enregistré dans les cellules de l'oreillette et I_{CaL} , courant calcique soutenu s'activant vers -40 mV sur tous les types cellulaires cardiaques, sont significativement accrus par l'ATP [14-16]. L'augmentation de I_{CaL} résulte notamment d'une augmentation de la probabilité d'ouverture du canal et semble relayée directement par couplage avec une protéine Gs sans impliquer la phosphorylation du canal [17]. L'ATP et ses dérivés 2-MeS-ATP et ATP γ S augmentent de la même manière I_{CaL} , la moitié de l'activation maximale étant observée pour une concentration d'environ 1 μ M; les autres dérivés de l'ATP et de l'ADP sont inactifs [9]. L'ATP inhibe aussi I_{CaL} sur le cœur de grenouille, lorsqu'il est en concentration supérieure à 10 μ M.

* Voir glossaire ci-contre.

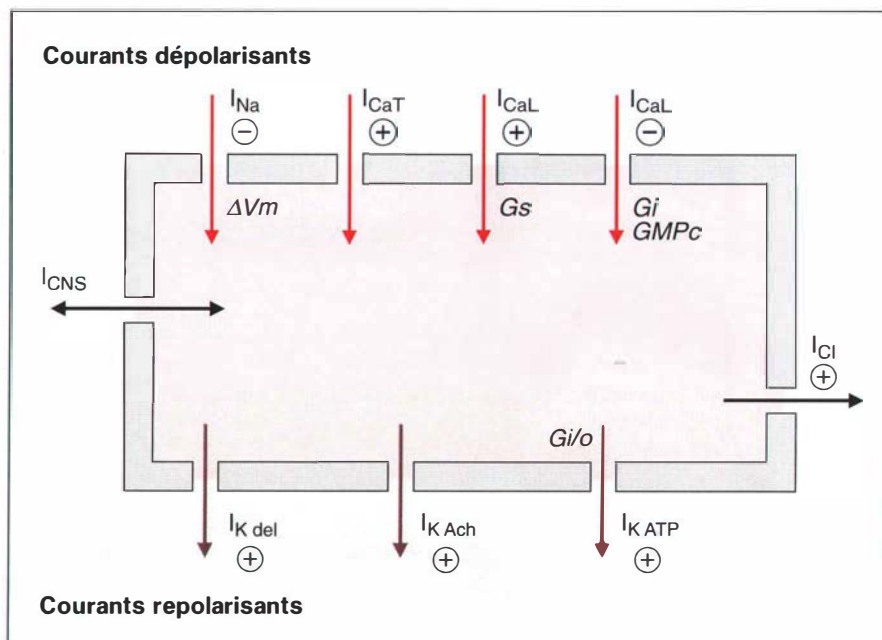


Figure 1. **Récapitulatif des modifications de courants ioniques lors de l'application extracellulaire d'ATP à la concentration micromolaire.** Les facteurs modifiant les canaux ont été indiqués: V_m , variation du potentiel de surface membranaire; G_s et $G_{i/o}$, protéine G stimulatrice ou inhibitrice. L'encart montre l'activité électrique déclenchée par l'application de 100 μ M ATP sur une cellule ventriculaire isolée de cœur de rat. I_{CNS} : courant transitoire non sélectif pour les cations; I_{Na} : courant sodium; I_{CaT} : courant calcium transitoire; I_{CaL} : courant calcium soutenu; I_{Kdel} : courant potassique rectificateur retardé; I_{KAch} : courant muscarinique; $I_{K(ATP)}$: courant potassique sensible à l'ATP intracellulaire; I_{Cl} : courant chlorure. Seule une dépolarisation peut être attribuée, en tout ou en partie, à l'activation des récepteurs P2X; les autres mécanismes impliquent des récepteurs P2Y. (+), (-): indiquent une facilitation ou une inhibition des courants.

Outre ces effets sur l'amplitude des courants, la première application d'ATP (10 μ M) sur les cellules cardiaques les hyperpolarise: la dépendance envers le potentiel de membrane de l'activation et de l'inactivation de la conductance calcique augmente de 8 mV. Ce même effet est observé sur la conductance sodique. En conséquence, l'application d'ATP entraîne une réduction nette de la disponibilité de la conductance sodique au potentiel de repos; moins de canaux sodiques pourront être activés et le courant sodique sera donc réduit [18]. Les voies de transmission du signal purinergique qui entraînent ces modulations d'activité des canaux ioniques n'ont pas encore fait l'objet

d'études systématiques. En revanche, les voies intracellulaires de transmission du signal qui aboutissent à régler les concentrations intracellulaires des ions Ca^{2+} et H^+ ont été plus étudiées.

* GLOSSAIRE *

- Courant potassique inward rectifier :** courant rectificateur laissant passer plus facilement le courant dans le sens entrant.
Symport : transport couplé de deux ions aux charges opposées.
Inotropisme : ce qui concerne la contractilité de la fibre musculaire.
Chronotropisme : ce qui concerne la fréquence du rythme cardiaque.

Voies intracellulaires de signalisation

L'application extracellulaire d'ATP entraîne une augmentation de la concentration calcique intracellulaire $[Ca^{2+}]_i$ dans les cellules ventriculaires quiescentes ou stimulées électriquement. Cette augmentation résulte à la fois de la stimulation du courant entrant I_{CaL} et d'une plus grande libération de Ca^{2+} par le réticulum sarcoplasmique, la caféine et la ryanodine réduisant cet effet [19, 20]. Il faut noter aussi que le courant cationique non spécifique peut contribuer au flux entrant calcique supplémentaire [8, 21].

Outre les effets sur l'homéostasie calcique, l'ATP règle le pH intracellulaire. Une alcalose faible est observée après application d'ATP, liée à l'activation de l'échangeur Na^+H^+ sensible à l'amiloride [22, 23] et du symport $Na^+HCO_3^-$ dont l'activation est mise en évidence lors des surcharges acides. On ne connaît pas les voies de transmission entre la fixation du ligand sur les récepteurs purinergiques et ces transporteurs ioniques. Un rôle de la protéine kinase C a été souvent proposé, mais son action ne peut être directe puisqu'il n'existe pas de séquence consensus de phosphorylation pour cette kinase sur l'échangeur (figure 2).

Cependant, l'effet le plus remarquable lors de l'application soudaine de l'ATP est l'apparition d'une acidose transitoire (1 minute) de grande amplitude (0,4 unité pH) nécessitant la présence d'ions chlorure dans le milieu extracellulaire et qui fut attribuée à l'activation d'un échangeur Cl^-/HCO_3^- [24]. L'activation de cet échangeur, une isoforme de la protéine bande-3 des érythrocytes, est corrélée à sa phosphorylation sur un site tyrosine. Au moins deux isoformes de cette protéine, codées par deux gènes différents (AE_1 et AE_3 pour *anion exchanger 1* et *3*), existent dans le sarcolemme cardiaque [25]. La phosphorylation a lieu seulement sur l'isoforme AE_1 (manuscrit en préparation). Ainsi, la stimulation purinergique active les trois transporteurs réglant le pH, à savoir l'échangeur Na^+/H^+ , le symport Na^+/HCO_3^- et l'échangeur Cl^-/HCO_3^- ; outre leurs effets spécifiques, l'activation simultanée de ces

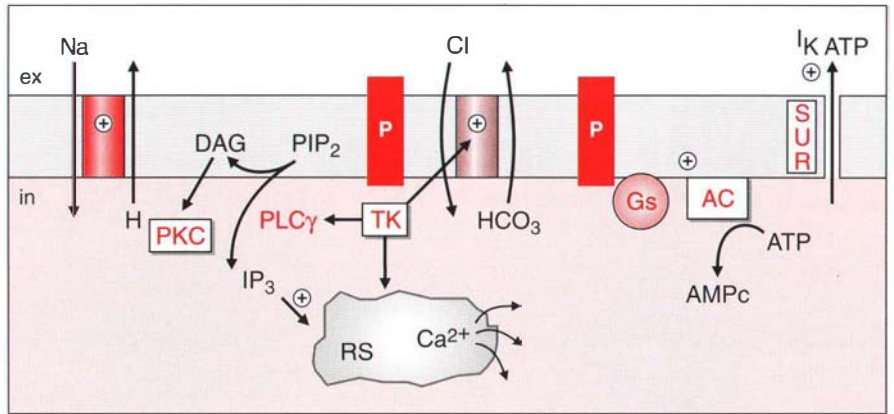


Figure 2. Voies de transmission intracellulaire du signal impliquées par la stimulation purinergique des cellules myocardiques et mécanismes transmembranaires ou intracellulaires directement affectés par celles-ci. P, récepteur purinergique; TK, tyrosine kinase; PLC, phospholipase C γ ; PIP $_2$ phosphatidyl-phosphoinositol 4,5 bisphosphate, DAG, diacylglycérol; IP $_3$, inositol trisphosphate; MAPK: protéine kinase associée au microtubule et activée lors de la mitogenèse; PKC, protéine kinase C; SR: réticulum sarcoplasmique. Sont aussi schématisés les échangeurs Na^+/H^+ et Cl^-/HCO_3^- . Les flèches épaisses indiquent les mouvements d'ions de part et d'autre de la membrane; les flèches en pointillé suggèrent des interactions non définitivement établies à ce jour.

trois systèmes conduit à un accroissement du pouvoir tampon intracellulaire fonctionnel.

Les effets de l'ATP sur les seconds messagers intracellulaires (AMPc, GMPc et inositol (1,4,5) trisphosphate ou $InsP_3$) ont été analysés sur le cœur entier et plus récemment sur les cellules cardiaques isolées. L'augmentation de la concentration d'AMPc par la stimulation purinergique est controversée. L'ATP ne modifie pas le niveau basal d'AMPc des cellules ventriculaires du cœur de rat mais renforce l'augmentation induite par l'isoprotérénol [21]; à l'inverse, sur le cœur fœtal de souris, seul un effet antagoniste de celui de l'isoprénaline est observé [26]. Récemment, une analyse détaillée des effets de l'ATP sur les cellules ventriculaires de cœur de rat a confirmé les effets additifs de l'ATP et de l'isoprotérénol et montré, dans les conditions basales, une nette augmentation de l'AMPc intracellulaire (résultats non publiés). Une augmentation de la concentration intracellulaire basale de GMPc a elle aussi été montrée après stimulation purinergique en présence d'isobutylmétylxanthine, IBMX, un inhibiteur de phosphodiesterase [17]. Cet accroissement pourrait résulter de l'activation de la guanylyl cyclase soluble par l'acide arachidonique

[27] dont le métabolisme est stimulé en présence d'ATP, aussi bien dans le cœur entier que sur les cellules isolées [28, 29].

L'ATP extracellulaire accroît aussi la production d' $InsP_3$ dans les ventricules de rat [30] et les cardiomyocytes fœtaux de souris [25]. Cette production d' $InsP_3$ à partir des polyphosphoinositides résulte de l'activation de la phospholipase C γ par un processus qui implique l'activation de deux tyrosine kinases, pp60^{c-Src} et Fyn [31]. L' $InsP_3$ produit facilite le relargage de calcium par le réticulum sarcoplasmique (CICR, *calcium-induced calcium release*), et les inhibiteurs de tyrosine-kinases inhibant la formation d' $InsP_3$ abolissent l'élévation soutenue de $[Ca^{2+}]_i$ induite par l'ATP extracellulaire (M. Pucéat, observations non publiées). Simultanément, l'hydrolyse des phosphoinositides produit du diacylglycérol, qui va activer la protéine kinase C dont les isoformes ϵ et δ se redistribuent du cytosol à la membrane. L'activation de la protéine kinase C est, de plus, associée à la phosphorylation d'un substrat myristoylé riche en alanine (MARCKS) (*m/s n° 2, vol. 9, p. 221*) et à l'expression de l'oncogène *c-Fos* dans les cellules cardiaques de rats nouveau-nés [32].

Effets physiologiques et pathologiques

Inotropisme

Sur le cœur de mammifères, les composés adényliques diminuent les résistances coronaires ainsi que la force de contraction des oreillettes. Cet effet inotrope négatif est attribué à un raccourcissement du potentiel d'action cardiaque dû à l'augmentation des conductances Cl et K et à une inactivation plus rapide de l'entrée d'ions Ca^{2+} (Tableau II). Dans le ventricule, en revanche, sans modifier le décours du potentiel d'action, l'ATP a un effet inotrope positif [30] associé à une augmentation transitoire de $[Ca^{2+}]_i$ [19]. Cet effet positif est aussi observé dans les préparations auriculaires après blocage, par un prétraitement par la toxine pertussique, des protéines G-inhibitrices couplées aux conductances potassiques [15] empêchant ainsi le net raccourcissement du potentiel d'action et l'effet inotrope négatif. Les effets inotropes positifs de l'ATP, tout comme ceux d'une stimulation α_1 -adrénergique, ne modifient pas le décours de la contraction et sont aussi associés à une augmentation de la production d'InsP₃. Toutefois, les mécanismes sous-jacents sont tout à fait différents. L'effet inotrope positif des agonistes α_1 -adrénergiques est, en majeure partie, consécutif à une sensibilisation des protéines contractiles aux ions Ca^{2+} ; lors d'un potentiel d'action, une contraction de plus grande amplitude est développée pour la même variation de la $[Ca^{2+}]_i$ [33]; en revanche, la stimulation purinergique ne modifie pas la sensibilisation des protéines contractiles aux ions Ca^{2+} [34]. En effet, cette sensibilisation qui dépend de la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine (MLC₂) est contrecarrée par la phosphorylation simultanée de la troponine inhibitrice (TNI); les effets de désensibilisation vis-à-vis des ions Ca^{2+} produits par cette dernière réaction sont aussi observés lors d'une stimulation β -adrénergique (M. Pucéat et G. Vassort, non publié). Par ailleurs, la stimulation purinergique, tout comme la stimulation β -adrénergique, augmente le courant calcique I_{CaL} et la $[Ca^{2+}]_i$. Enfin, il faut noter qu'une partie de

Tableau II
COMPARAISON DES EFFETS DE L'ADÉNOSINE ET DE L'ATP

	Oreillette		Ventricule	
	Inotropisme	Mécanisme effecteur	Inotropisme	Mécanisme effecteur
Adénosine	-	$\uparrow I_{Ks}$	-	\downarrow AMP cyclique
Ad. après β -adr.	-	\downarrow AMP cyclique	-	\downarrow AMP cyclique
ATP	-	$\uparrow I_{Kdel}$; ($\uparrow I_{CaL}$)	+	$\uparrow I_{CaL}$
ATP après PTX	+	$\uparrow I_{CaL}$	+	$\uparrow I_{CaL}$
	Arythmie	Mécanisme effecteur	Arythmie	Mécanisme effecteur
Adénosine	-	$\uparrow I_{Ks}$	0/+	dépolarisation
ATP	-	$\uparrow I_{Ks}$ ($\uparrow I_{CaT}$)	I_{Na}	$\uparrow I_{CaL}$ $\uparrow pH_i$

β -adr.: après stimulation β -adrénergique; PTX: toxine pertussique.
Fondé sur les données des références [8-19, 29].

l'effet inotrope peut être dû à l'alcalose prolongée qu'induisent à la fois l'ATP et la stimulation α_1 -adrénergique.

Chronotropisme-arythmogène

Les dérivés purines ont des effets électrophysiologiques marqués. L'adénosine exerce des effets chronotropes négatifs similaires à ceux de la stimulation vagale. On a montré que l'adénosine endogène, relarguée au cours d'une ischémie myocardique, peut conduire à un bloc de conduction du nœud auriculo-ventriculaire; plusieurs cas résistants à l'atropine ont été traités avec succès par l'aminophylline, un antagoniste P₁-purinergique. Ces effets sont dus à l'élévation des conductances potassiques qui augmentent le potentiel de membrane et empêchent ainsi l'activation et la propagation des potentiels d'action (Tableau II). L'ATP partage ces effets, ce qui justifierait l'usage de l'ATP lors d'arythmies cardiaques telles que les tachycardies paroxystiques supraventriculaires. Généralement, l'adénosine et l'ATP ralentissent l'activité *pacemaker* sinusale; toutefois, à forte concentration, l'ATP accélère le rythme sinusal. Cette tachycardie sinusale est relayée par les prostaglandines, à la suite de l'activation de la phospholipase C [28]. De même, l'ATP appliqué sur des cellules ventriculaires isolées,

notamment lorsque sa concentration varie rapidement, déclenche leur automatisme après l'activation de la conductance non sélective aux cations et de la conductance aux ions chlorure. Outre cette action sur l'automatisme cellulaire, plusieurs mécanismes indiquent que l'ATP est un agent déclenchant des troubles du rythme. En effet, l'acidose transitoire (1-2 minutes) et l'augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ réduisent le couplage intercellulaire tandis que la propagation de l'onde de dépolarisation initiale est ralentie du fait de la réduction du courant sodique. Ainsi, l'ATP libéré lors des stimulations nerveuses, du choc circulatoire, des surcharges cardiaques ou de l'ischémie régionale peut déclencher des arythmies ventriculaires. Ces effets, obtenus pour des concentrations élevées en ATP, doivent être différenciés de ses effets modulateurs bénéfiques, observés dans des conditions physiologiques, tels l'inotropisme positif et la bradycardie. Enfin, comme avec les agents pharmacologiques ouvrant les canaux potassiques, la facilitation du courant $I_{K(ATP)}$ par la stimulation purinergique raccourcit le potentiel d'action et, en abrégant la contraction, diminue la consommation d'énergie. Un tel effet protecteur de la cellule doit être différencié des effets de l'ATP qui, libéré des cellules lésées, diffuse vers les cellules intactes et déclenche leur automa-

tisme. En outre, un tel raccourcissement du potentiel d'action de certaines cellules contribue à accroître l'inhomogénéité tissulaire et participe ainsi aux arythmies.

Hypertrophie

Certaines hormones et facteurs de croissance ainsi que l'étirement mécanique des cellules peuvent induire une hypertrophie cardiaque. Cette croissance cellulaire, qui peut être mimée expérimentalement dans les cellules néonatales de rat en culture, est caractérisée par l'induction de gènes spécifiques: expression transitoire de gènes d'expression précoce (*c-Fos*, *c-Jun*, *Jun-B*, *Egr1*) en 30 minutes, réexpression des gènes embryonnaires (facteur natriurétique auriculaire, α actine, isoforme β de la chaîne lourde de la myosine) après 12-24 heures, surexpression des gènes codant pour les protéines constitutives telles que la chaîne légère de la myosine 2 après 24-48 heures. L'application extracellulaire d'ATP est un stimulus suffisant pour déclencher l'expression des gènes d'expression précoce tels *c-Fos* et *Jun-B*. Cependant, l'ATP ne déclenche pas l'hypertrophie cellulaire alors que la noradrénaline, qui active, elle aussi, l'expression des gènes *c-Fos* et *Jun-B*, entraîne une hypertrophie [35]. La MAPK, la protéine kinase activée lors des mitoses, et la PKC jouent un rôle primordial dans la régulation de l'hypertrophie. L'ATP, comme la phényléphrine et l'endothéline, active les isoformes ϵ et δ de la PKC ainsi que $p42^{MAPK}$ et $p44^{MAPK}$; toutefois, l'ATP (1) ne transactive pas les gènes rapporteurs luciférase sous la dépendance de promoteurs spécifiques cardiaques; (2) n'augmente pas l'expression du facteur natriurétique auriculaire; et (3) ne déclenche pas l'organisation des myofilaments, trois index de la croissance cellulaire [36]. Ainsi, l'ATP ne provoque pas l'hypertrophie cardiaque bien qu'il active deux voies

impliquées dans ce phénomène; de plus, il inhibe l'action hypertrophique de la phényléphrine [37], mais le mécanisme de cette inhibition n'est pas connu.

Conclusion

Les effets de l'ATP extracellulaire sur la fonction du myocarde sont multiples et résultent de la modulation des différentes étapes du couplage excitation-contraction (courants ioniques, Ca_i , pH_i , protéines contractiles...). De plus, le tissu cardiaque est le siège de nombreuses interactions fonctionnelles entre cardiomyocytes, cellules endothéliales et cellules musculaires lisses, chacun de ces types cellulaires possédant plusieurs types de récepteurs purinergiques spécifiques. Les effets de l'ATP dépendent de l'état physiologique de la cellule ou de la situation physiopathologique, états qui sont modifiés par les autres neuromodulateurs; ainsi, seul l'un ou quelques-uns de ces effets seront déclenchés ou prédominants. Dans les conditions physiologiques, une faible libération d'ATP ($1 \mu M$) dans le milieu extracellulaire accroît la force contractile ventriculaire par l'intermédiaire de l'augmentation du courant calcique et de l'alcalose et ralentit le rythme cardiaque en augmentant les conductances potassiques dont les effets se manifestent surtout sur les cellules nodales et auriculaires. A plus forte concentration ($10 \mu M$), telle lors d'une situation ischémique, l'ATP, en facilitant l'ouverture des courants $K_{(ATP)}$, hyperpolarise les cellules de la zone ischémisée et les rend non excitables; en revanche, après diffusion, l'ATP dépolarise les zones voisines, saines et peut déclencher un automatisme anormal. Ces mécanismes pourraient rendre compte des troubles du rythme observés dans la phase initiale de l'infarctus du myocarde, parmi d'autres situations pathophysiologiques ■

RÉFÉRENCES

1. Burnstock G. Purinergic mechanisms. *Ann NY Acad Sci* 1990; 603: 1-17.
2. Drury AM, Szent-Györgyi A. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. *J Physiol* 1929; 68: 213-37.
3. Gordon JL. Extracellular ATP: effects, sources and fate. *Biochem J* 1986; 233: 309-19.
3. Tokuyama Y, Hara M, Jones EMC, Fan Z, Bell GI. Cloning of rat and mouse P_{2Y} purinoceptors. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211: 211-8.
4. Communi D, Parmentier M. Les récepteurs P_2 : une famille en pleine expansion. *Med Sci* 1996; 12: 614-9.
6. Todorov LD, Mihaylova-Todorova S, Westfall TD, Sneddon P, Kennedy C, Bjur RA, Westfall DP. Neuronal release of soluble nucleotidases and their role in neurotransmitter inactivation. *Nature* 1997; 387: 76-9.
7. Belardinelli L, Shryock JC, Song Y, Wang D, Srinivas M. Ionic basis of the electrophysiological actions of adenosine on cardiomyocytes. *FASEB J* 1995; 9: 359-65.
8. Friel DD, Bean BP. Two ATP-activated conductances in bullfrog atrial cells. *J Gen Physiol* 1988; 91: 1-27.
9. Scamps F, Vassort G. Pharmacological profile of ATP mediated increase of L-type Ca current amplitude and activation of a non specific cationic current in rat ventricular cells. *Br J Pharmacol* 1994; 113: 982-6.
10. Kaneda M, Fukui K, Doi K. Activation of chloride current by P_2 -purinoceptors in rat ventricular myocytes. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 1355-60.
11. Matsuura H, Sakaguchi M, Tsuruhara Y, Ehara T. Enhancement of delayed rectifier K^+ current by P_2 -purinoceptor stimulation in guinea pig atrial cells. *J Physiol* 1996; 490: 647-58.
12. Matsuura H, Sakaguchi M, Tsuruhara Y, Ehara T. Activation of the muscarinic K^+ channel by P_2 -purinoceptors via pertussis toxin-sensitive G proteins in guinea pig atrial cells. *J Physiol* 1996; 490: 659-71.
13. Babenko A, Vassort G. Enhancement of the ATP-sensitive K^+ current by extracellular ATP in rat ventricular myocytes. Involvement of adenylyl cyclase-induced subsarcolemmal ATP depletion. *Circ Res* 1997; 80: 589-600.
14. Alvarez JL, Mongo K, Scamps F, Vassort G. Effects of purinergic stimulation on the Ca current in single frog cardiac cells. *Pflügers Arch* 1990; 416: 189-95.
15. Scamps F, Legssyer A, Mayoux E, Vassort G. The mechanism of positive inotropy induced by adenosine triphosphate in rat heart. *Circ Res* 1990; 67: 1007-16.
16. Alvarez JL, Vassort G. Properties of the low threshold Ca current in single frog atrial cardiomyocytes. *J Gen Physiol* 1992; 100: 519-45.

SOINS ET SANTÉ DEMAIN: VERS UNE SANTÉ HORS MURS, LYON, FRANCE
8-10 décembre 1997

Cette réunion s'inscrit dans le cadre des 10^{es} Entretiens Jacques Cartier

Contact: Betty Dodet, Fondation Marcel-Mérieux, 17, rue Bourgelat, BP 2021, 69227 Lyon Cedex 02, France.

Fax: (33) 72 73 79 93

E-mail: 100765.1401@Compuserve.Com

RÉFÉRENCES

17. Scamps F, Rybin V, Pucéat M, Tkachuk V, Vassort G. A Gs protein couples P₂-purinergic stimulation to cardiac Ca channels without cyclic AMP production. *J Gen Physiol* 1992; 100: 675-701.
18. Scamps F, Vassort G. Effect of extracellular ATP on the Na⁺ current in rat ventricular myocytes. *Circ Res* 1994; 74: 710-7.
19. Danziger RS, Raffaelli S, Moreno-Sanchez R, Sakai M, Capogrossi MC, Spurgeon HA, Hansford RG, Lakatta EG. Extracellular ATP has a potent effect to enhance cytosolic calcium and contractility in single ventricular myocytes. *Cell Calcium* 1988; 9: 193-9.
20. Pucéat M, Clément O, Scamps F, Vassort G. Extracellular ATP-induced acidification leads to cytosolic calcium transient rise in single rat cardiac myocytes. *Biochem J* 1991; 274: 55-62.
21. Zheng JS, Christie A, De Young MB, Levy MN, Scarpa A. Synergism between cAMP and ATP in signal transduction in cardiac myocytes. *Am J Physiol* 1992; 262: C128-35.
22. Pucéat M, Clément-Chomienne O, Terzic A, Vassort G. α_1 -adrenoceptor and purinoceptor agonists modulate Na-H antiport in single cardiac cells. *Am J Physiol* 1993; 264: H310-9.
23. L'Allemain G, Pouysségur J. L'échangeur Na⁺/H⁺: caractérisation et rôle physiologique. *Med Sci* 1987; 3: 582-8.
24. Pucéat M, Clément O, Vassort G. Extracellular MgATP activates the Cl/HCO₃ exchanger in single rat cardiac cells. *J Physiol* 1991; 444: 241-56.
25. Pucéat M, Vassort G. Les échangeurs anioniques cardiaques: gènes multiples, protéines multiples, fonctions multiples? *Med Sci* 1996; 12: 1024-8.
26. Yamada M, Hamamori Y, Akita H, Yokoyama M. P₂-purinoceptor activation stimulates phosphoinositide hydrolysis and inhibits accumulation of cAMP in cultured ventricular myocytes. *Circ Res* 1992; 70: 477-85.
27. Gerzer R, Brash HAR, Hardman JG. Activation of soluble guanylate cyclase by arachidonic and 15-lipoxygenase products. *Biochim Biophys Acta* 1986; 886: 383-9.
28. Takikawa R, Kurachi Y, Mashima S, Sugimoto T. Adenosine-5'-triphosphate-induced sinus tachycardia mediated by prostaglandin synthesis via phospholipase C in the rabbit heart. *Pflügers Arch* 1990; 417: 13-20.
29. Damron DS, Bond M. Modulation of Ca²⁺ cycling in cardiac myocytes by arachidonic acid. *Circ Res* 1993; 72: 376-86.
30. Leggsver A, Poggioli J, Renard D, Vassort G. ATP and other adenine compounds increase mechanical activity and inositol trisphosphate production in rat heart. *J Physiol* 1988; 401: 185-99.
31. Pucéat M, Vassort G. Purinergic stimulation of rat cardiomyocytes induces tyrosine phosphorylation and membrane association of phospholipase C γ : a major mechanism for InsP₃ generation. *Biochem J* 1996; 313: 713-28.
32. Pucéat M, Hilal-Dandan, Strulovici B, Brunton LL, Brown JH. Differential regulation of protein kinase C isoforms in isolated neonatal and adult rat cardiac cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 16938-44.
33. Terzic A, Pucéat M, Vassort G, Vogel SM. Cardiac α_1 -adrenoceptors: an overview. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 147-75.
34. Pucéat M, Lechêne P, Clément O, Pelosin JM, Ventura-Clapier R, Vassort G. Neurohormonal control of Ca sensitivity of myofilaments in single rat heart cells. *Circ Res* 1990; 67: 517-24.
35. Zheng JS, Boluyt MO, O'Neill L, Crow MT, Lakatta EG. Extracellular ATP induces immediate early gene expression but not cellular hypertrophy in neonatal cardiac myocytes. *Circ Res* 1994; 74: 1034-41.
36. Post GR, Goldstein D, Thuerauf DJ, Glembocki CC, Brown JH. Dissociation of p44 and p42 mitogen-activated protein kinase activation from receptor-induced hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. *J Biol Chem* 1996; 271: 8452-7.
37. Zheng JS, Boluyt MO, Long X, O'Neill L, Lakatta EG, Crow MT. Extracellular ATP inhibits adrenergic agonist-induced hypertrophy of neonatal cardiac myocytes. *Circ Res* 1996; 78: 525-35.

TIRÉS À PART

G. Vassort.

Summary

Purinergic stimulation of the heart: inotropism and arrhythmia

Intracellular ATP (ATP_i) in the 10 mM range is the major source of energy and a substrate for many biochemical processes. In the μ M range extracellular ATP (ATP_e), whatever co-released by nerve terminals or various cell types: platelets, endothelial or cardiac cells, modifies many cellular activities. It binds to P₂-purinergic receptors whose P₂X-subtypes activate directly non specific cationic channels and P₂Y subtypes involve G proteins. Like adenosine, its degradation product which had been up to now the matter of most studies, ATP_e increases various K currents. A Gi/o protein seems to be the direct link enhancing the K inward rectifier and K_(ACh) current. However, the increase in K_(ATP) current which is activated by a decrease in ATP, results from a further submembrane ATP_i-depletion as a consequence of the activation of the adenylyl cyclase. ATP_e also increases both T and L types Ca currents. In the latter case, this induces an increase in contractile force associated with the enhancement of Ca release by the sarcoplasmic reticulum. ATP application induces a large transient acidosis followed by a sustained alkalosis, the latter could as well contribute to the positive inotropism. Acidosis is mediated by activation of the Cl/HCO₃ exchanger, a band 3-like protein which is rapidly and reversibly phosphorylated on a tyrosine. Similarly the P₂-purinergic stimulation by activating tyrosine kinases increases the PLC γ activity that leads to the production of inositol trisphosphate (InsP₃). The physiological and pathological effects of ATP_e are multiple. Besides the positive inotropism described above, ATP_e modulates the rhythmic activity and may even trigger anomalous automatism in ventricular tissues as a consequence of acidosis and increase in non specific cationic conductance. However, the major effect of ATP_e in auricular tissues is to increase K conductances and thus to slow down basal rhythmic activity. ATP_e triggers the expression of early genes *c-Fos* and *Jun-B*; it also activates several isoforms of the protein kinase C, PKC ϵ and PKC δ as well as p42^{MAPK} and p44^{MAPK}. However ATP_e, in contrast to α_1 -adrenergic agonists which activate the same early genes and kinases, does not induce cell hypertrophy. On cardiac isolated cells, the effects of ATP_e are thus multiple and have been shown to depend on the cell state. One has to anticipate much more complex responses *in situ*. In the cardiac tissues, ATP is liberated and rapidly degraded by ectonucleotidases leading to adenosine and other nucleoside derivatives. Furthermore ATP is generally co-released by nerve terminals together with other neuromediators that will potentiate or antagonise the beneficial or deleterious physiological effects.