m/s MINI-SYNTHÈSE

médecine/sciences 1997; 13: 1043-8

Physiopathologie, thérapeutique

Connexines et pathologie cardiaque : quelles connexions ?

Les mutations affectant les protéines constitutives des canaux ioniques sont la cause de diverses maladies [1] auxquelles peuvent également se rattacher les formes de la maladie de Charcot-Marie-Tooth liées au chromosme X (CMTX) *(m/s n°2, vol. 10, p. 222)*. Cette maladie neurodégénérative est due en effet aux mutations d'un gène codant pour une protéine : la connexine 32 (Cx32) [2] qui forme des canaux intercellulaires, appelés « canaux jonctionnels ». Ces canaux peuvent certes paraître un peu exotiques, comparés aux canaux membranaires plus « orthodoxes » (canaux sodiques, calciques, potassiques...), mais il n'en reste pas moins vrai qu'ils sont, fondamentalement, des canaux ioniques. La difficulté de leur étude réside probablement dans la sophistication des techniques utilisées (comme par exemple le double-*patch clamp*), leur faible sélectivité, ou le fait qu'ils ne sont la cible d'aucun ligand ou molécule connus. Néanmoins, et témoignant de l'importance physiologique qu'il leur est maintenant accordée, pas moins d'une vingtaine d'articles de synthèse furent publiés ces derniers mois, faisant le point des connaissances sur l'assemblage des connexines (Cx) en canaux jonctionnels, la régulation de ces canaux, et divers aspects de leurs fonctions dans l'organisme [3-5]. Le myocarde est probablement l'un des organes dans lequel les Cx, et le rôle des canaux jonctionnels, sont les plus étudiés [6, 7]. Le but de cette mini-synthèse est de faire le point sur l'implication reconnue ou potentielle des connexines dans les maladies cardiaques.

Que sont ces connexines que notre cœur font battre ?

Les connexines sont des protéines, appartenant à une famille multigénique, qui s'associent en hexamères pour former des canaux transmembranaires appelés connexons. Deux connexons de deux cellules adjacentes s'associent dans l'espace intercellulaire pour constituer un canal hydrophile assurant une communication directe entre les cytoplasmes des cellules adjacentes. Les canaux jonctionnels s'agrègent pour former des jonctions dites jonctions *gap* ou jonctions communicantes. Les canaux jonctionnels sont perméables aux ions (perméabilité qui rend compte de la fonction de couplage électrique intercellulaire) et aux molécules ayant une taille inférieure ou égale à 900-1 000 daltons (perméabilité qui rend compte de la fonction de couplage métabolique) [4]. La conductance jonctionnelle g_j (exprimée en Siemens, S), qui indique la capacité des ions de transiter entre deux cellules par l'intermédiaire des canaux jonctionnels, et qui mesure donc la valeur du couplage électrique, est réglée par le potentiel transjonctionnel et les concentrations intracellulaires des ions H^+ et Ca^{2+}. Quinze connexines de mammifères, dont treize de souris, ont vu à ce jour leur gènes clonés et séquencés. L'inactivation, par recombinaison homologue, du gène de certaines connexines permet depuis peu une analyse précise de leurs fonctions dans l'organisme [8, 9, 11, 19]. Certaines de ces connexines assurent, par les canaux jonctionnels qu'elles constituent, la conduction de l'activité électrique dans le myocarde, mais elles jouent également un rôle important dans la morphogenèse de cet organe.

La force de contraction, et l'efficacité d'éjection, du myocarde auriculaire et ventriculaire dépendent de la contraction synchronisée des myocytes dont il est composé. La contraction de ces cellules est déclenchée par une dépolarisation membranaire associée aux potentiels d'action. Ces derniers prennent spontanément naissance dans une petite région de l'oreillette droite : le nœud sino-auriculaire. A partir de ce tisssu nodal, l'activité électrique se propage au travers des oreillettes, atteint le nœud auriculo-ventriculaire, puis chemine rapidement jusqu'aux parois ventriculaires par l'intermédiaire du faisceau de His et des fibres de Purkinje *(figure 1)*. La propagation de l'activité électrique entre les myocytes, et leurs contractions synchronisées, dépendent de l'intégrité et du caractère fonctionnel des canaux jonctionnels [6]. Dans le myocarde de mammifère, trois connexines constitutives de ces canaux sont associées aux myocytes : ce sont les Cx43, – 40 et – 45. Elles y sont très inégalement représentées, la Cx43 étant la protéine jonctionnelle la plus abondante dans le myocarde adulte (Cx43 >> Cx40 >>> Cx45). La Cx43 est synthétisée dans les myocytes contractiles (auriculaires et ventriculaires), et dans les myocytes conducteurs : la Cx40 n'est synthétisée que dans les myocytes auriculaires et conducteurs (mais cette connexine est également associée aux cellules endothéliales vasculaires, dont, entre autres, celles des vaisseaux coronaires) *(Tableau 1)*. La distribution de la Cx45 n'est établie que pour le cœur de chien et le myocarde humain dans lesquels cette

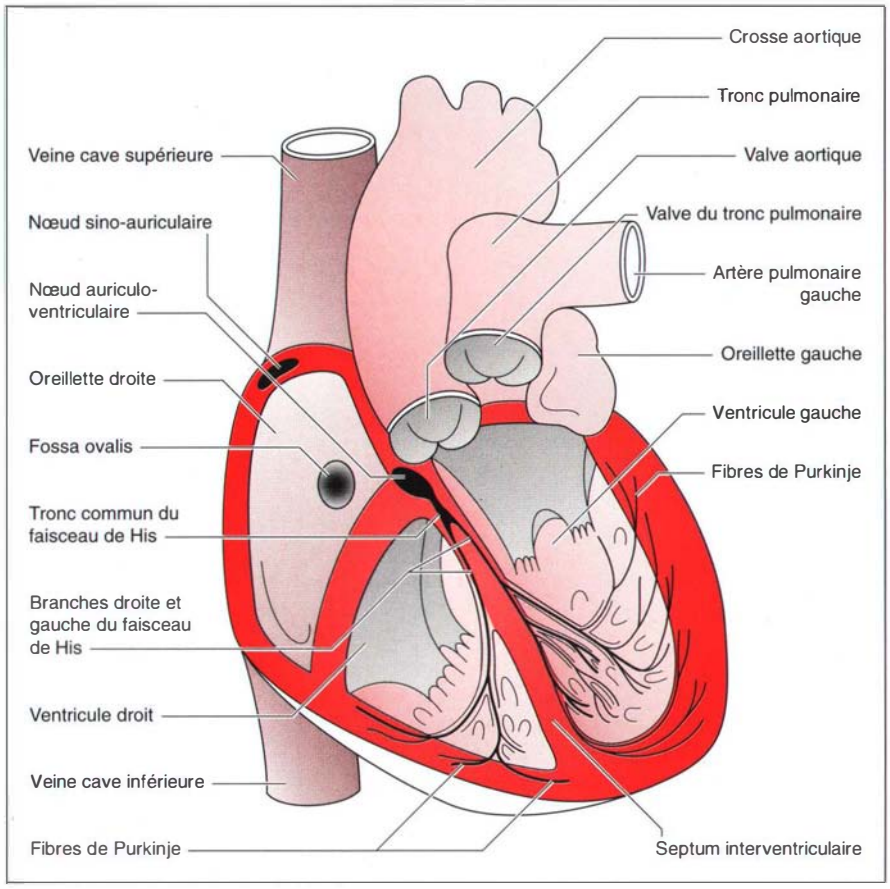

Figure 1. ***Réprésentation schématique d'un myocarde de mammifère.*** *L'intérieur de la chambre auriculaire droite, et des chambres ventriculaires droite et gauche, est visible. Le système de conduction (représenté en noir), voie privilégiée de conduction de l'activité électrique, inclut: le nœud sino-auriculaire (où prennent naissance les potentiels d'action), le nœud auriculo-ventriculaire (voie obligée entre les oreillettes et les ventricules) en continuité avec le tronc commun du faisceau de His qui se subdivise en deux branches, droite et gauche. Ces branches se prolongent dans les parois ventriculaires par les fibres de Purkinje.*

connexine serait associée à tous les myocytes [7] *(Tableau I)*.

Une quatrième connexine cardiaque, dont la distribution est connue, est la Cx37 qui ne participe cependant pas à la propagation de l'activité électrique entre les myocytes. Cette connexine est en effet synthétisée dans les cellules endothéliales vasculaires (incluant celles des vaisseaux coronaires) et endocardiques [7, 12, 13]. Par ailleurs, aucune anomalie du système circulatoire n'a été signalée chez les souris homozygotes pour la mutation nulle de la Cx37 [11]. La synthèse de la Cx40 dans les cellules endothéliales vasculaires des souris *Cx37*$^{-}$/$^{-}$ est peut être suffisante pour suppléer à l'absence de Cx37 et maintenir une communication jonctionnelle physiologiquement active. En revanche, jusqu'à présent, la Cx37 est la seule connexine détectée dans les cellules endothéliales endocardiques *(Tableau I)*, et, en conséquence, les fonctions de l'endocarde chez les souris *knock-out* pour la Cx37 mériteraient peut-être une certaine attention.

Tableau I

EXPRESSION DES CONNEXINES DANS LE MYOCARDE DE MAMMIFÈRE ADULTE

	CX43	CX40	CX45	CX37
Myocytes				
contractiles, auriculaires	++++	++	+	–
contractiles, ventriculaires	++++	–	+	–
conducteurs (faisceau de His et fibres de Purkinje)	++++	+++	+	–
Cellules endothéliales				
vasculaires	–	++	–	+
endocardiques	–	–	–	+

Les variations mineures affectant la distribution des Cx43 et – 40 dans le myocarde de différentes espèces de mammifères n'apparaissent pas dans ce tableau. Pour plus de détails, voir [7].

La Cx43 joue un double jeu...

Les embryons de souris *Cx43*$^{-}$/$^{-}$, homozygotes pour la mutation nulle de la Cx43, meurent par asphyxie, quelques heures après la naissance. Les hétérozygotes *Cx43*$^{+}$/$^{-}$ survivent sans anormalité apparente [8]. La mort des nouveau-nés est la conséquence d'une prolifération des myocytes du ventricule droit qui obstruent la chambre ventriculaire droite et l'entrée de l'artère pulmonaire, empêchant ainsi le sang d'atteindre les poumons pour y être oxygéné. A la naissance, le cœur des nouveau-nés *Cx43*$^{-}$/$^{-}$ bat plutôt régulièrement, bien que la valeur de la conductance jonctionnelle entre les myocytes (4,6 ± 0,9 nS) soit réduite de moitié par rapport à celle enregistrée entre les myocytes des souriceaux normaux *Cx43*$^{+}$/$^{+}$ (10,7 ± 1,6 nS) [14]. La vitesse de conduction, mesurée à la surface des ventricules des souriceaux hétérozygotes *Cx43*$^{+}$/$^{-}$, est 30 % plus lente que celle des souriceaux de type sauvage *Cx43*$^{+}$/$^{+}$ (0,14 ± 0,04 m/s contre 0,20 ± 0,7 m/s).

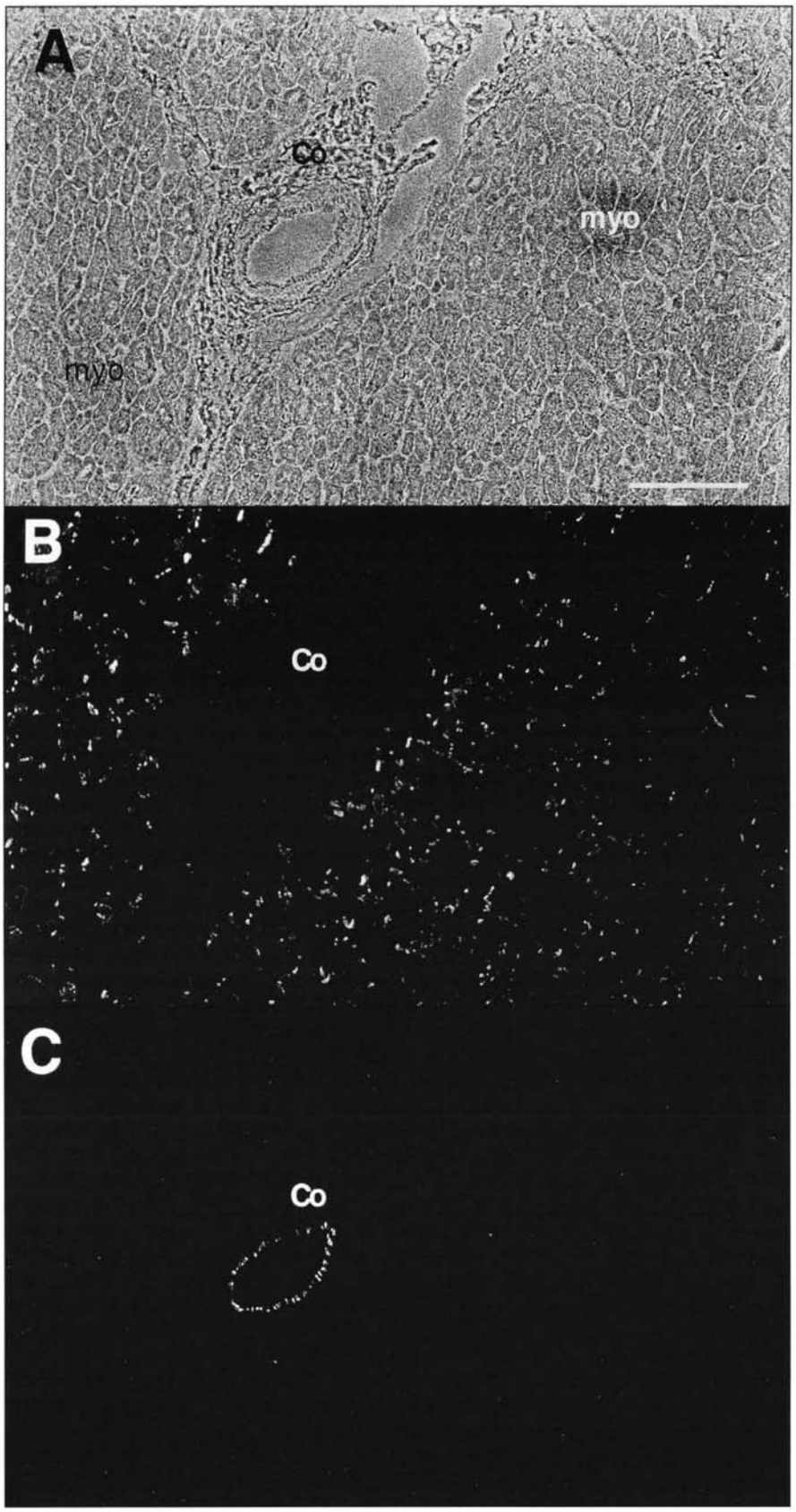

Figure 2. ***Expression des Cx43 et Cx40 dans le myocarde ventriculaire humain.*** *Observation en double immunofluorescence.* ***A.*** *Contraste de phase.* ***B.*** *Distribution de la Cx43.* ***C.*** *Distribution de la Cx40. Les myocytes (myo) synthétisent abondamment la Cx43. En revanche, la présence de la Cx40 n'est observée que dans les cellules endothéliales du vaisseau coronaire (Co) qui apparaît au centre de la photographie, en C. Barre = 100 µm.*

Chez les souris adultes, la différence entre les vitesses de conduction est encore plus accentuée : 0,18 ± 0,03 m/s chez les individus *Cx43*$^{+}$/$^{-}$ contre 0,32 ± 0,07 m/s chez les individus *Cx43*$^{+}$/$^{+}$ (soit une différence de 44 %), et les électrocardiogrammes révèlent un allongement trés significatif du complexe QRS chez les souris *Cx43*$^{+}$/$^{-}$ [15]. La surexpression de la Cx43 conduit également, chez la souris, à des malformations cardiaques assez semblables à celles décrites ci-dessus pour la mutation nulle [16]. Ce résultat est conceptuellement tout aussi important que ceux obtenus avec les souris *knock-out* pour la Cx43. Ces expériences permettent de tirer deux conclusions concernant le rôle de la Cx43 dans le myocarde.

1. La Cx43 intervient, comme on pouvait s'y attendre, dans le phénomène de conduction, mais le couplage électrique entre les myocytes est assuré, même en l'absence de Cx43, démontrant ainsi, par contrecoup, l'importance des autres connexines synthétisées par les myocytes (Cx40 et Cx45) *(m/s n° 4, vol. 12, p. 538).* Dans ce contexte, une attention toute particulière doit être accordée à la Cx40 qui est abondamment synthétisée dans le cœur des embryons [12,13].

2. La surprise vient du rôle inattendu que joue la Cx43 dans la morphogenèse du myocarde. Une synthèse qualitativement adéquate de la Cx43 est nécessaire au développement harmonieux de cet organe sans que l'on sache cependant quelle est, de la fonction de couplage électrique ou

de la fonction de couplage métabolique, celle qui est mise en jeu.
De toute évidence, chez les embryons *Cx43*$^{-}/^{-}$, une ou plusieurs connexines se substituent à la Cx43 et assurent sa fonction morphogénétique dans le ventricule gauche et les oreillettes dont le développement est normal. L'asymétrie de la synthèse de Cx40 dans les futurs ventricules droit et gauche jusqu'au stade embryonnaire de 11,5 jours (E 11,5 jours) pourrait fournir une piste sur l'identité d'une connexine de remplacement. Le gène de la Cx40 n'est en effet activé dans le futur ventricule droit qu'à partir de ce stade (E 11,5 jours) ; sa synthèse est en revanche beaucoup plus précoce dans le tissu auriculaire et le futur ventricule gauche [13]. Il existe donc, chez les embryons *Cx43*$^{-}/^{-}$, une étroite fenêtre temporelle au cours de laquelle le futur ventricule droit est dépouvu des Cx43 et Cx40. Il reste à vérifier expérimentalement si l'absence de ces connexines est la cause de la prolifération des myocytes dans le ventricule droit. Par ailleurs, le gène de la Cx45 est exprimé, quoique en faible abondance, dans le cœur des embryons de souris [12]. Le profil d'expression de cette connexine au cours du développement du myocarde n'est pas connu mais, dans le contexte ci-dessus, l'intérêt de son étude apparaît clairement.

... mais échappe au piège des malformations cardiaques humaines

L'implication de la Cx43 dans la morphogenèse du myocarde humain a été rapportée par Britz-Cunningham *et al. (m/s n° 5, vol. 11, p. 766).* [17]. Les syndromes polymalformatifs congénitaux (*visceroatrial heterotaxia syndrome* des auteurs anglo-saxons) sont des anomalies du *situs* (asplénie ou polysplénie, *situs inversus* abdominal, défauts de symétrie thoraco-abdominale, etc.) presque toujours associées à des malformations cardiaques complexes. Ces malformations se traduisent le plus souvent par l'existence simultanée d'un ventricule unique de type droit à double issue, d'oreillettes et de valves auriculo-ventriculaires anormales, d'une sténose, fréquente, de l'artère pulmonaire. Une mutation ponctuelle, transformant dans un site potentiel de phosphorylation, la sérine 364 en proline (mutation Ser364Pro), fut identifiée par ces auteurs dans le domaine carboxy-terminal de la Cx43 chez cinq enfants sur six présentant tous des anomalies du *situs* associées à des malformations cardiaques. Deux mutations indépendantes furent identifiées chez le sixième patient (Thr326Ala, Glu352Gly). Trois autres mutations (Glu352Gly, Ser365Asn, Ser373Gly) furent également retrouvées chez trois des cinq enfants portant la mutation Ser364Pro. Britz-Cunningham *et al.* [17] ont démontré par ailleurs, dans des expériences *in vitro*, que la régulation, par des protéine kinases, de la perméabilité des canaux jonctionnels constitués de Cx43 mutée sur la sérine 364 (Ser364Pro), était anormale. Les auteurs se gardèrent bien de conclure formellement que le mécanisme pathogénique de ces anomalies résidait dans les mutations de la Cx43, mais ils suggérèrent cependant que la communication intercellulaire par les canaux jonctionnels était en cause. L'importance de ces résultats ne manqua pas d'attirer l'attention de la communauté scientifique, et ce d'autant plus que la liste des mutations de la Cx32 associées à la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMTX) continuait de s'allonger [2]. Trois groupes européens analysèrent le gène de la Cx43 de plus de 70patients appartenant à différents groupes ethniques et présentant des anomalies du *situs* associées à des malformations cardiaques bien identifiées [18-20]. Aucune des mutations précédemment décrites ne furent retrouvées. Plusieurs explications peuvent être évoquées pour rendre compte de la discordance des résultats : l'hétérogénéité génétique des syndromes polyformatifs congénitaux, un biais dans l'échantillonnage, des artefacts de laboratoire, etc. Si le déterminisme génétique de ces malformations n'est pas lié à des mutations de la Cx43, il n'en reste pas moins vrai que cette connexine est impliquée dans le développement harmonieux du myocarde comme en témoigne le phénotype des souris portant une mutation nulle pour la Cx43 ou la surexprimant [8, 16].

Le rythme trouble les connexines

Le désaccord des résultats précédents n'élimine pas définitivement la Cx43 du champ des maladies cardiaques. Dans le myocarde humain, des modifications très significatives de la synthèse et de la distribution de cette connexine sont associées à au moins deux situations pathologiques : l'ischémie et l'hypertrophie, qui se traduisent toutes deux, du point de vue électrophysiologique, par des troubles de la propagation de l'activité électrique et conduisent au phénomène d'arythmies. Dans le tissu ventriculaire normal, les jonctions *gap*, et la Cx43, sont principalement localisées aux extrémités des myocytes, dans les disques intercalaires, réalisant un arrangement optimal pour la propagation rapide de l'activité électrique et une bonne coordination de la contraction.
Les zones infarcies, fibrotiques, résultant d'une ischémie prolongée, sont dépourvues de Cx43 et sont le lieu de blocs de conduction. A la périphérie de ces zones, sur plusieurs centaines de microns, les jonctions sont distribuées de manière désordonnée entre les myocytes, imposant une conduction lente. Dans le myocarde environnant, apparemment sain, la distribution et la taille des jonctions restent inchangées mais la synthèse de la Cx43 y est fortement réduite [21, 22]. Une forte réduction de la synthèse de la Cx43, par unité de volume cellulaire, fut également observée dans le myocarde humain hypertrophié par un rétrécissement valvulaire aortique [22].
La cardiomyopathie hypertrophique familiale est caractérisée par une hypertrophie du ventricule gauche qui ne résulte ni d'une anomalie valvulaire, ni d'une hypertension, ni d'une autre affection induisant une surcharge hémodynamique. Elle est associée à des mutations des gènes codant pour des protéines sarcomériques [23]. Sur le plan clinique, elle peut être asymptomatique ou provoquer une mort subite, même à un âge précoce. Du point de vue histologique, outre l'hypertrophie des myo-

cytes, on observe dans le septum interventriculaire et le ventricule gauche, mais aussi parfois dans le ventricule droit, des régions relativement étendues dans lesquelles les faisceaux musculaires sont désorganisés. Dans ces régions, la Cx43 n'est plus confinée aux seuls disques intercalaires mais elle est dispersée sur toute la surface des myocytes [24]. Cette situation est similaire à celle décrite précédemment, à la périphérie des zones infarcies, et constitue un terrain pro-arythmique.

L'hypertension artérielle chronique provoque chez l'homme et les modèles animaux une hypertrophie cardiaque et vasculaire. Chez les rats hypertendus par sténose d'une artère rénale ou par un traitement aux minéralocorticoïdes, le niveau de synthèse de la Cx43 dans les muscles lisses aortiques est deux à trois fois plus élevé que dans les aortes des animaux témoins [25, 26]. Cette synthèse accrue de la Cx43 s'accompagne d'une hyperréactivité et d'une augmentation de la fréquence des contractions spontanées des muscles lisses vasculaires dont la cause est probablement liée à une augmentation du couplage intercellulaire [25]. Le mécanisme conduisant à l'activation du gène de la Cx43 dans les parois aortiques reste inconnu mais une intervention de c-Fos est suspectée [26]. De manière surprenante, aucune variation significative de l'abondance globale de la Cx43 ne fut détectée dans le muscle cardiaque de ces rats expérimentalement hypertendus [26]. Ces résultats ne confirment pas ceux précédemment rapportés chez l'homme [22]. Ces contradictions pourraient n'être qu'apparentes, liées aux méthodes de quantification utilisées par les deux groupes; elles pourraient aussi traduire de réelles différences entre les espèces étudiées.

La fibrillation auriculaire est une forme d'arythmie caractérisée par une totale désorganisation de l'activité électrique. Au paroxysme de la fibrillation, les oreillettes « frémissent » sans jamais présenter de réelles contractions efficaces du point de vue hémodynamique. Dans le tissu auriculaire des chèvres maintenues en fibrillation chronique, les myocytes deviennent hypertrophiques. La synthèse et la distribution de la Cx43 restent identiques à celles observées dans les oreillettes témoins mais la distribution de la Cx40 est en revanche profondément modifiée: le tissu auriculaire est parsemé de petites zones, atteignant 600 microns de diamètre, qui sont dépourvues de Cx40 [27]. Le remodelage architectural du tissu auriculaire, et la distribution anormale de la Cx40 dans ce même tissu, constitueraient des facteurs favorisant la persistance de la fibrillation.

Les thérapeutiques anti-arythmiques: ne pas faire l'impasse sur le jeu des canaux jonctionnels

En réponse à l'infarctus, à certaines hypertrophies et à la fibrillation auriculaire, la réponse adaptative du myocarde se traduit, entre autres, par des modifications de la synthèse et de la distribution des Cx, et donc des canaux jonctionnels, altérant ainsi ses propriétés de conduction. Par ailleurs, les altérations du métabolisme des myocytes, dans les phases précoces de l'ischémie, sont propices à une fermeture des canaux jonctionnels [6, 28]. L'ensemble de ces modifications, en favorisant la génération de circuits de ré-entrée, peut conduire à des arythmies potentiellement fatales. Les thérapeutiques antiarythmiques actuelles sont toutes fondées, avec un succès parfois mitigé, sur l'utilisation de molécules qui modifient les propriétés des canaux ioniques « orthodoxes ». La récente démonstration que le syndrome du QT long, caractérisé par des torsades de pointes et des fibrillations ventriculaires, est associé à des mutations du gène *HERG*, codant pour les sous-unités du canal potassique retardé I_{Kr}, ou à des mutations du gène *SCN5A*, codant pour la sous-unité α du canal sodique [29], va pousser un peu plus les stratégies antiarythmiques vers la voie des thérapeutiques modifiant les propriétés des canaux ioniques conventionnels. Si ces stratégies semblent pertinentes pour certains cas bien précis d'arythmies, le moment semble aussi venu d'y intégrer, plus généralement, le rôle que jouent les canaux jonctionnels dans le phénomène de conduction [30] ■

Remerciements

Nous remercions très vivement le Docteur Bernard Kreitmann pour la relecture critique du manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Keating MT, Sanguinetti MC. Pathophysiology of ion channel mutations. *Curr Op Gen Dev* 1996; 6: 326-33.

2. Deschênes SM, Bone LJ, Fischbeck KH, Scherer SS. Connexin32 and X-linked-Charcot-Marie-Tooth disease. In: Spray DC, Dermietzel R, eds. *Gap junctions in the nervous system.* New York: Springer, 1996: 213-27.

3. Brink PR, Cronin K, Ramanan SV. Gap junctions in excitable cells. *J Bioenerg Biomembr* 1996; 28: 351-8.

4. Meda P. Connexines, canaux jonctionnels et communication cellulaires. *Med Sci* 1996; 12: 909-20.

5. Mesnil M, Yamasaki H. La possibilité d'une thérapie génique antitumorale amplifiée par induction de la comminication jonctionnelle intercellulaire. *Med Sci* 1996; 12: 1435-8.

6. Jongsma HJ and Rook MB. Morphology and electrophysiology of cardiac gap junction channels. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology. From cell to bedside.* Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 1996: 115-26.

7. Gros D, Jongsma HJ. Connexins in mammalian heart function. *BioEssays* 1996; 18: 719-30.

8. Réaume AG, de Sousa PA, Kulkarni S, Langille BL, Zhu D, Davies TC, Juneja SC, Kidder GM and Rossant J. Cardiac malformation in mice lacking connexin 43. *Science* 1995; 267 1831-4.

9. Nelles E, Bützler C, Jung D, Temme A, Gabriel H-D, Dahl U, Traub O, Stümpel F, Jungermann K, Zielasek J, Toyka KV, Dermietzel R, Willecke K. Defective propagation of signals generated by sympathetic nerve stimulation in the liver of connexin 32-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9565-70.

10. Gong XH, Li E, Klier G, Kumar N, Gilula NB. Disruption of the α3 connexin gene leads to age-related cataract formation in mice. *Mol Biol Cell* 1996; 7 (suppl); 509a.

11. Simon AM, Goodenough DA, Li E, Paul DL. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* 1997; 385: 525-9.

12. Delorme B, Dahl E, Jarry-Guichard T, Marics I, Briand JP, Willecke K, Gros D, Théveniau-Ruissy M. Developmental regulation of connexin 40 gene expression in mouse heart correlates with the differentiation of the conduction system. *Dev Dynamics* 1995; 20: 358-71.

13. Delorme B, Dalh E, Jarry-Guichard T, Marics I, Briand JP, Willecke K, Gros D, Théveniau-Ruissy M. Expression pattern of connexin gene products at the early developmental stages of the mouse cardiovascular system. *Circ Res* 1997 (sous presse).

14. Vink MJ, Fishman G, Viebra D, Spray DC. Properties of gap junction channels in neonatal cardiac myocytes from wild type and connexin 43 (Cx43) knockout (KO) mice. *Circulation* 1995; 92 (suppl): I.41.

15. Guerrero PA, Schuessler RB, Beyer EC, Saffitz JE. Slow ventricular conduction in mice heterozygous for a connexin 43 null mutation. *J Clin Invest* 1997; 99: 1991-8.

16. Ewart JL, Cohen MF, Meyer RA, Huang GY, Wessels A, Gourdie RG, Chin AJ, Park SMJ, Lazatin BO, Villabon S, Lo CW. Heart and neural tubes defects in transgenic mice overexpressing the Cx43 gap junction gene. *Development* 1997; 124: 1281-92.

17. Britz-Cunningham SH, Maithil MS, Zuppan CW, Fletcher WH. Mutations of the connexin 43 gap junction gene in patients with heart malformations and defects of laterality. *N Engl J Med* 1995; 332: 1323-9.

18. Splitt MP, Burn J, Goodship J. Connexin 43 mutations in sporadic and familial defects of laterality. *N Engl J Med* 1995; 333: 941-2.

19. Gebbia M, Towbin JA, Casey B. Failure to detect connexin 43 mutations in 38 cases of sporadic and familial heterotaxy. *Circulation* 1996; 94: 1909-12.

20. Debrus S, Tuffery S, Matsuoka R, Galal O, Sarda P, Sauer U, Bozio A, Tanman B, Toutain A, Claustres M, Le Paslier D, Bouvagnet P. Lack of evidence for Cx43 gene mutations in human autosomal recessive lateralization defects. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29 (sous presse).

21. Smith JH, Green CR, Peters NS, Rothery S, Severs NJ. Altered patterns of gap junction distribution in ischaemic heart disease. An immunohistochemical study of human myocardium using laser scanning confocal microscopy. *Am J Pathol* 1991; 139: 801-21.

22. Peters NS, Green CR, Poole-Wilson PA, Severs NJ. Reduced content of connexin 43 gap junctions in ventricular myocardium from hypertrophied and ischaemic human hearts. *Circulation* 1993; 88: 864-875.

23. Carrier L, Guicheney P, Schwartz K. La cardiomyopathie hypertrophique familiale. *Med Sci* 1995; 11: 1685-93.

24. Sepp R, Severs NJ, Gourdie RG. Altered patterns of cardiac intercellular junction distribution in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 1996; 76: 412-7.

25. Watts SW, Webb RC. Vascular gap junctional communication is increased in mineralocorticoid-salt hypertension. *Hypertension* 1996; 28: 888-93.

26. Haefliger JA, Castillo E, Waeber G, Bergonzelli GE, Aubert JF, Sutter E, Nicod P, Waeber B, Meda P. Hypertension increases connexin 43 in a specific manner. *Circulation* 1997; 95: 1007-14.

27. Van der Velden HMW, Van Zijverden M, Van Kempen MJA, Wijffels MCEF, Groenewegen WA, Allessie MA, Jongsma HJ. Abnormal expression of the gap junction protein connexin 40 during chronic atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 1996; 94 (suppl): p. I-593.

28. Kléber AG, FleischhauerJ, Cascio WE. Ischemia-induced propagation failure in the heart. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology from cell to bedside.* Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 1996: 174-82.

29. Mercadier JJ, Hatem S, Coraboeuf E. Le syndrome du QT long congénital: c'est bien une affaire de canaux ioniques! *Med Sci* 1995; 11: 1453-9.

30. Spach MS, Starmer CF. Altering the topology of gap junctions: a major therapeutic target for atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 336-44.

Daniel Gros
Bruno Delorme
Irène Marics
Magali Théveniau-Ruissy

Laboratoire de génétique et physiologie du développement, UMR 6645, Institut de biologie du développement de Marseille, Université de la Méditerranée, Faculté des sciences de Luminy, Case 907, 13288 Marseille Cedex 09, France.

TIRÉS À PART

D. Gros.

SÉQUENÇAGE ET ANALYSE INFORMATIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES

Stage diplômant de l'Université Pierre-et-Marie-Curie composé de deux modules indépendants
Responsable : Jean DEUTSCH, professeur à l'Université Pierre-et-Marie-Curie

Cette formation s'adresse aux biologistes, chercheurs, ingénieurs ou techniciens disposant d'un minimum de connaissances de bases en biologie moléculaire. Nombre de participants : minimum 8, maximum 12.

1er module : 9 au 20 mars 1998
Atelier de séquençage d'acides nucléiques

Objectif : *permettre d'acquérir la maîtrise du séquençage manuel et automatique afin de l'utiliser dans un but diagnostique ou de recherche et de s'initier à l'analyse des séquences d'ADN par des méthodes informatiques.*
Organisation : *2 jours de rappels théoriques suivis de travaux pratiques : séquençage manuel puis automatique sur plasmides et produits de PCR, analyse des résultats.*

2e module : 8 au 12 juin 1998
Ressources informatiques pour l'analyse des séquences d'acides nucléiques

Objectif : *présenter les outils informatiques et familiariser les stagiaires à leur utilisation.*
Organisation : *conférences le matin, travaux pratiques l'après-midi*

Renseignements pédagogiques et inscription :
J. DEUTSCH
Tél. : 01 44 27 27 18
E-mail : jdeutsch@env.jussieu.fr

Renseignements administratifs :
Mme LEFEUVRE-HIOLLÉ
Université Pierre-et-Marie-Curie - 4, place Jussieu
75252 Paris Cedex 05, France
Tél. : 01 44 27 58 49 ou 01 44 27 38 19