

UEM 907

Master 1 «Sciences des médicaments et des produits de santé »

Couplage excitation- contraction cardiaque

Romain Perrier

MCU physiologie

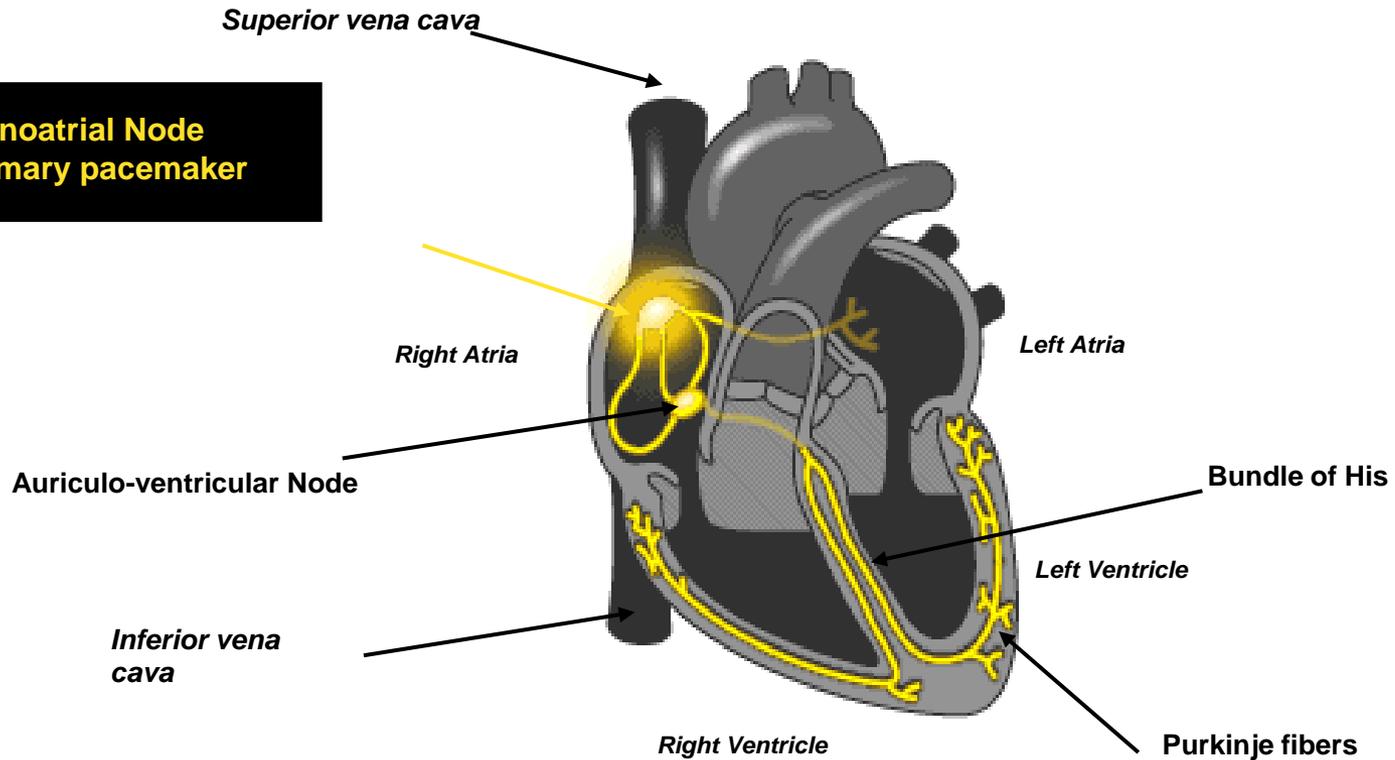
INSERM UMR-S1180 Signalisation et physiopathologie cardiovasculaire

HM1 – 3^{ème} étage

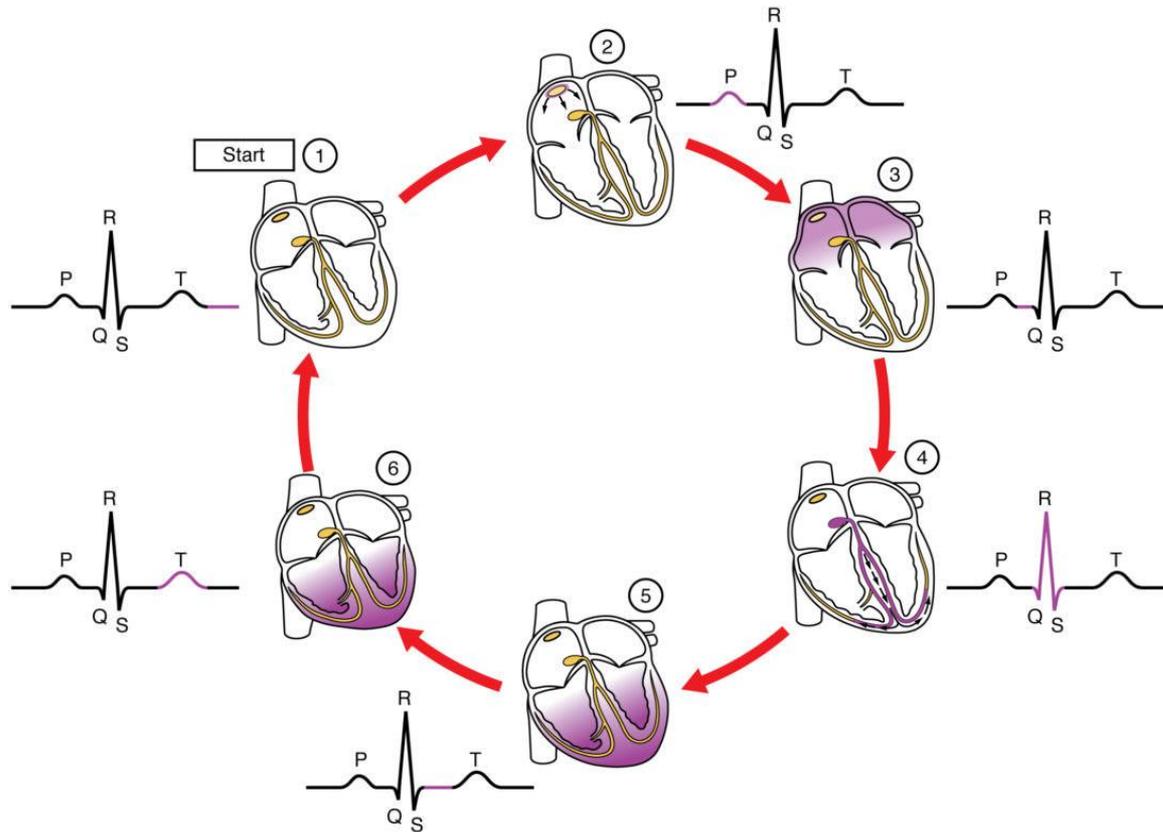
romain.perrier@universite-paris-saclay.fr

Conduction Cardiaque

**Sinoatrial Node
= primary pacemaker**



Electrocardiogram (ECG)



P = Atrial depolarisation

PQ = propagation from SA node to AV node

QRS = ventricular depolarisation

Q = interventricular septum depolarisation

R = main mass ventricular depolarisation

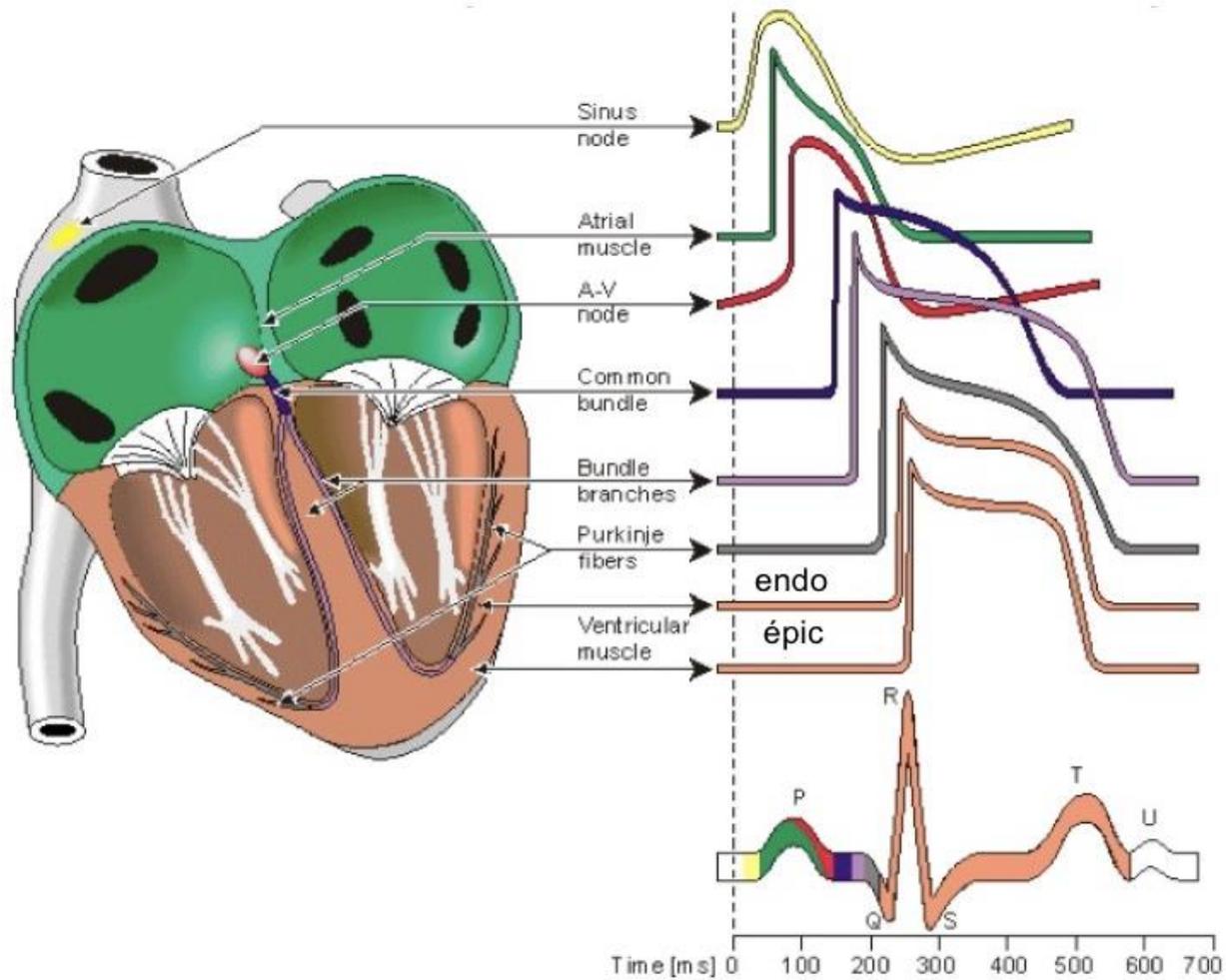
S = last phase of V depolarisation (base)

Atrial repolarisation

ST = plateau of the AP – contraction of the V

T = ventricular repolarisation

Activité électrique cardiaque



Couplage

Excitation

contraction

Signal électrique
Potentiel d'action



Contraction
mécanique

Historique



Ca²⁺ extracellulaire nécessaire aux battements cardiaques

Ringer *J. Physiol.* 1883

Ca²⁺ intracellulaire active contraction

Heilbunn and Wiercinski *J. Cell Comp Physiol* 1947

Réticulum Sarcoplasmique et pompe Ca²⁺ (SERCA) : facteurs relaxants

Katz et Repke *Circ. Res.* 1967

Courant calcique impliqué dans la contraction

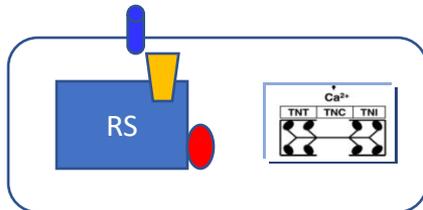
Reuter et Beeler, *Science* 1969; Rougier et al. *Pflugers Arch*, 1969

Libération de Ca²⁺ induite par le Ca²⁺ (CICR)

Fabiato and Fabiato *J. Physiol.* 1975

Récepteur de Ryanodine: canal de libération du Ca²⁺

Pessah et al. *BBRC.* 1985



Contrôle local

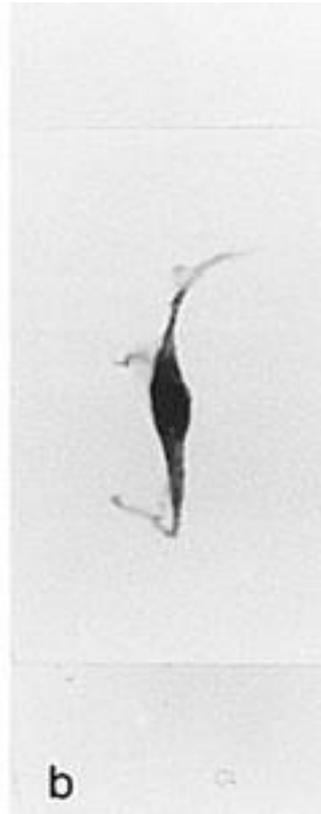
Théorie: Stern *Biophys. J.* 1992

Preuve: Cheng et al. *Science* 1993

Cell types in the rabbit sinus node



**Elongated
spindle cell**



Spindle cell



Spider cell

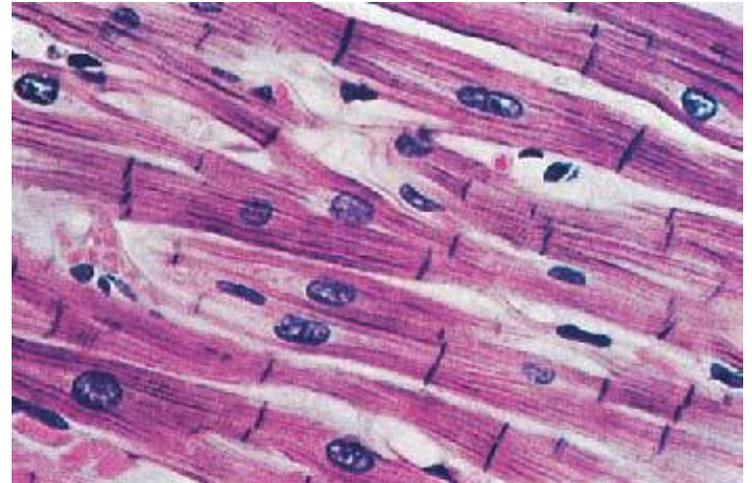


Atrial cell

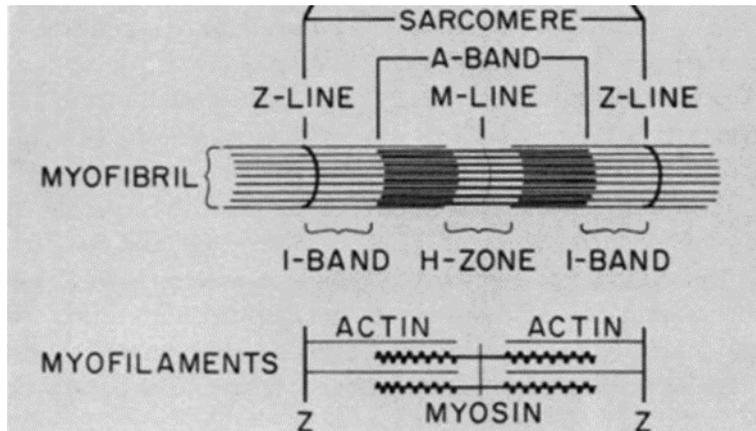
30 μ m

Propriétés des cellules du myocarde

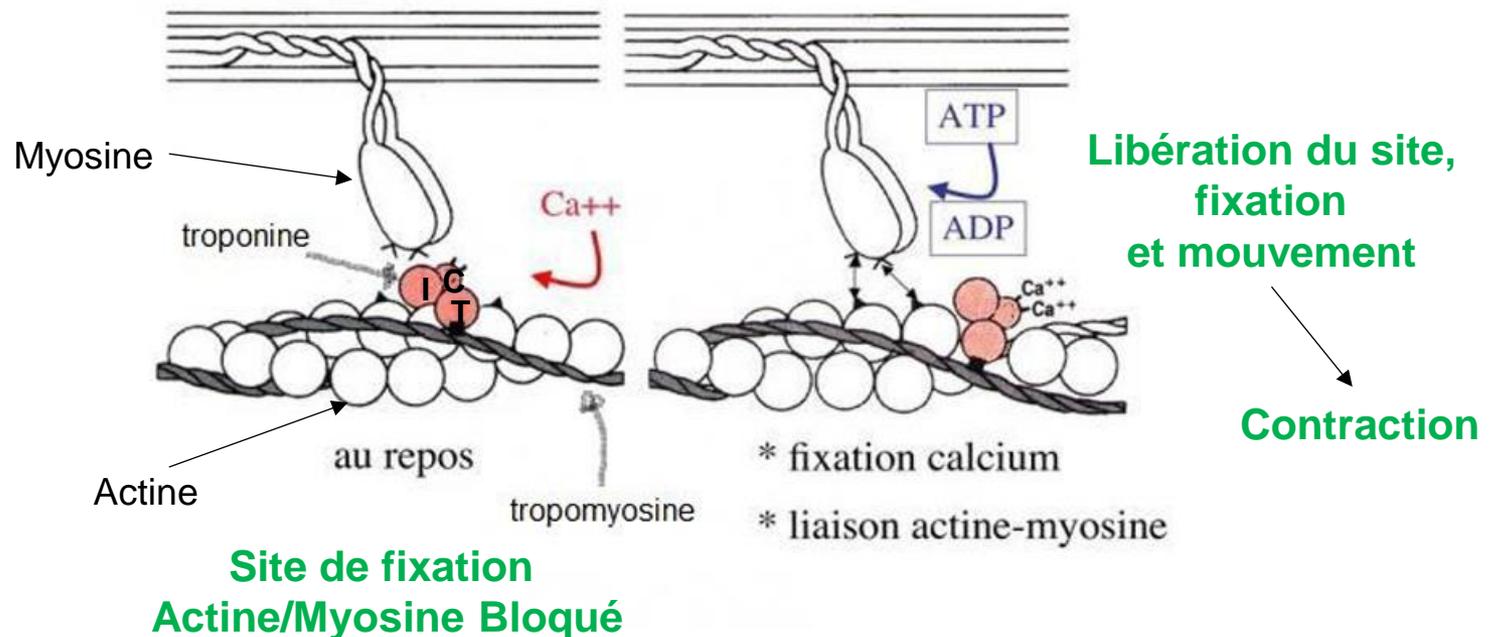
- En bâtonnets avec ramifications
- L~25 μm , l~100 μm , épaisseur <20 μm
- Striées
- Mononucléaires (parfois 2 noyaux), centrale
- **Excitables**
- **Contractiles**
- **Conductrices**



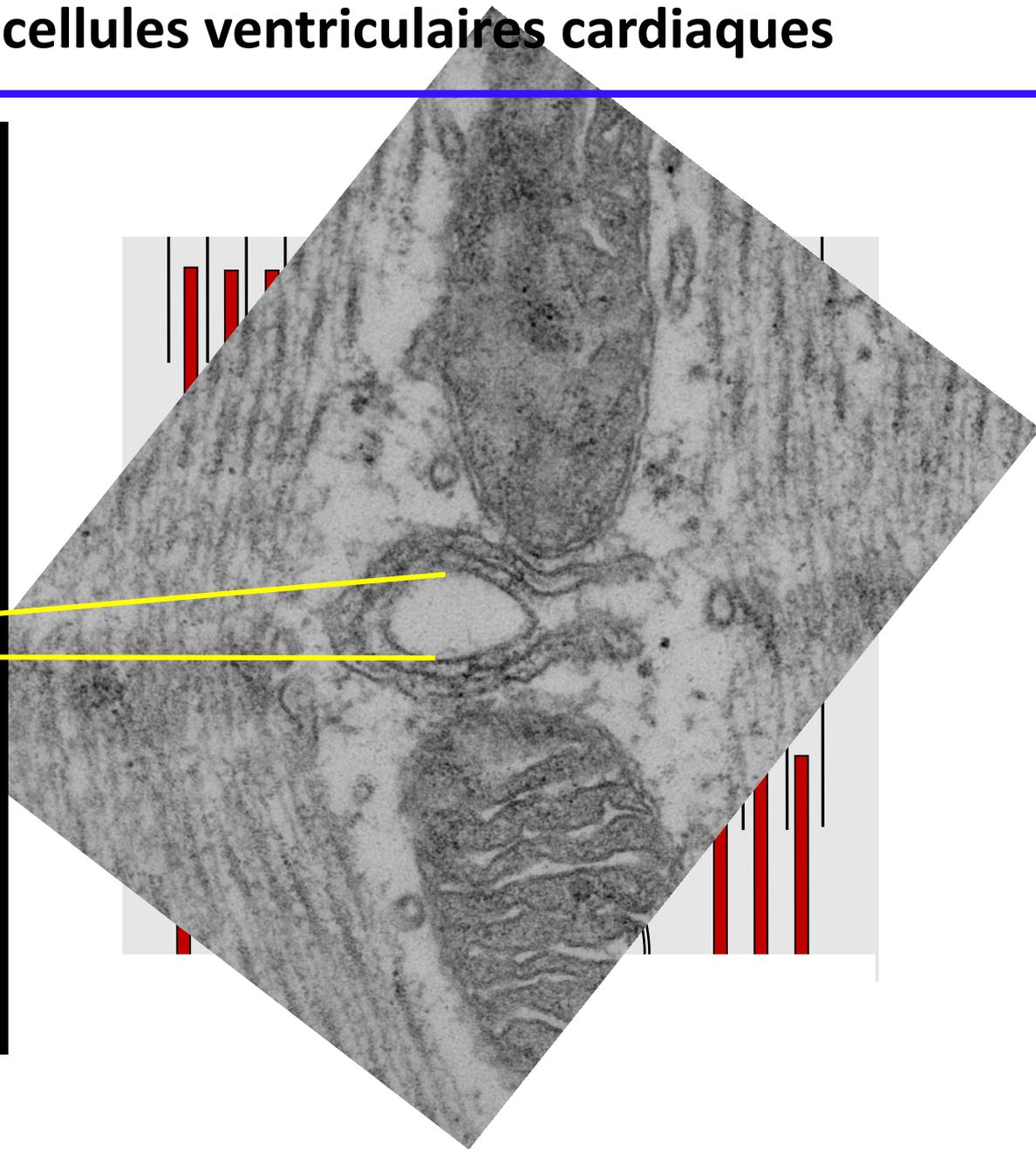
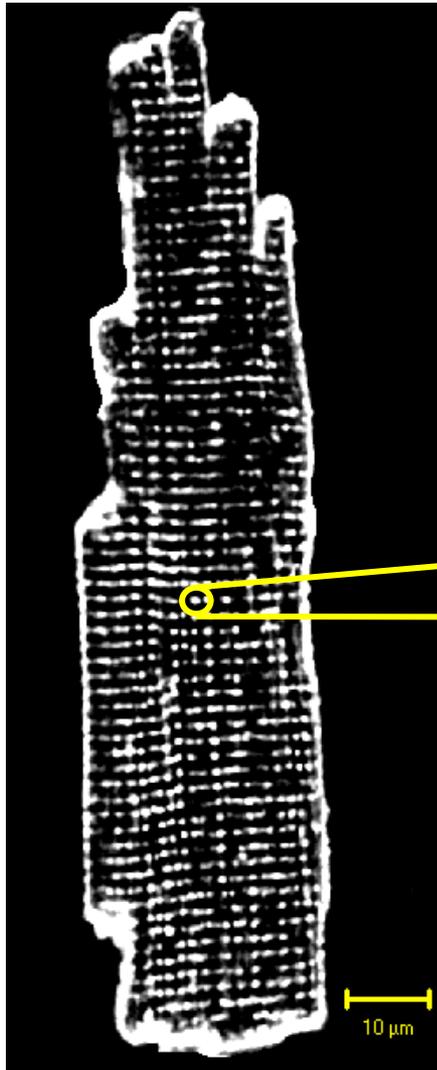
Les myofilaments



Bande I : Actine non superposée à la myosine
 Bande A : Filament de myosine complet
 Zone H : Myosine non superposée à l'actine
 Ligne M : Connexion des éléments du cytosquelette



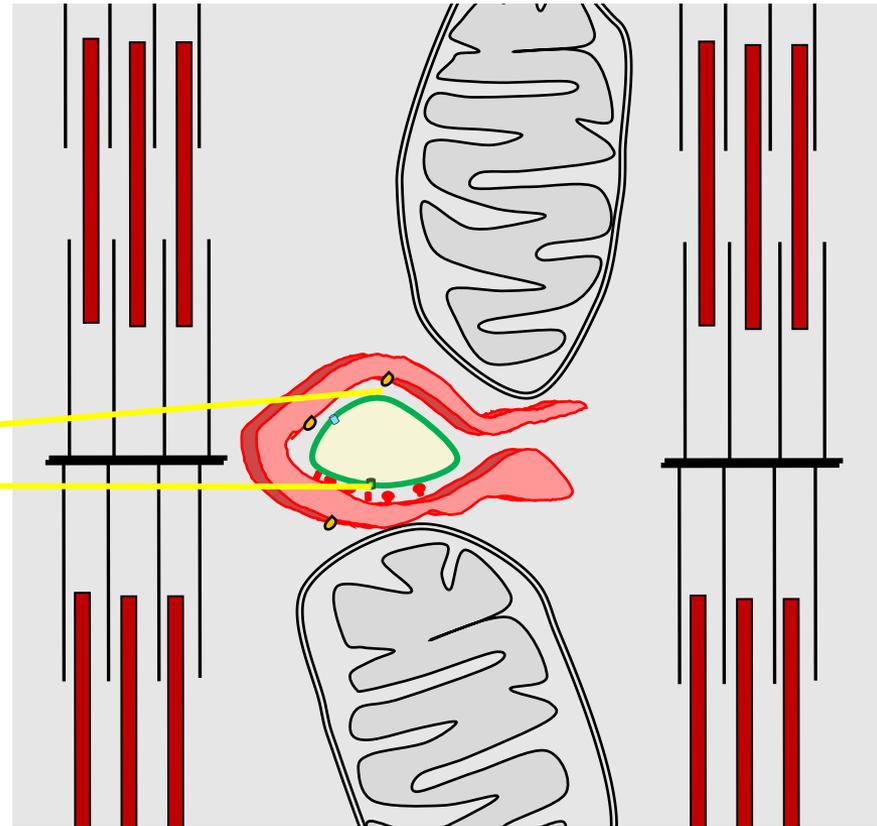
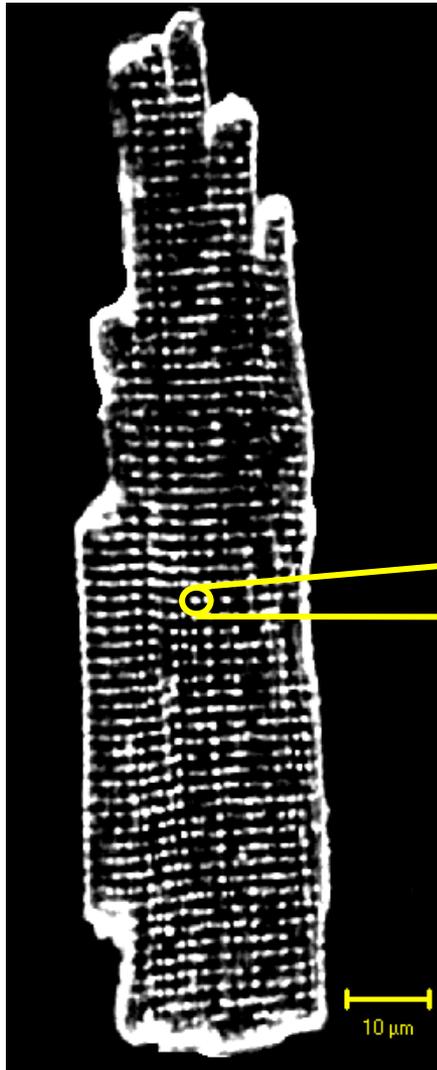
Structures des cellules ventriculaires cardiaques



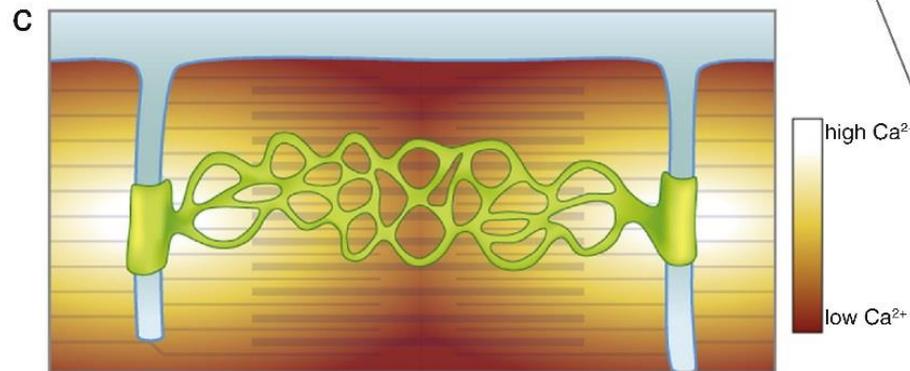
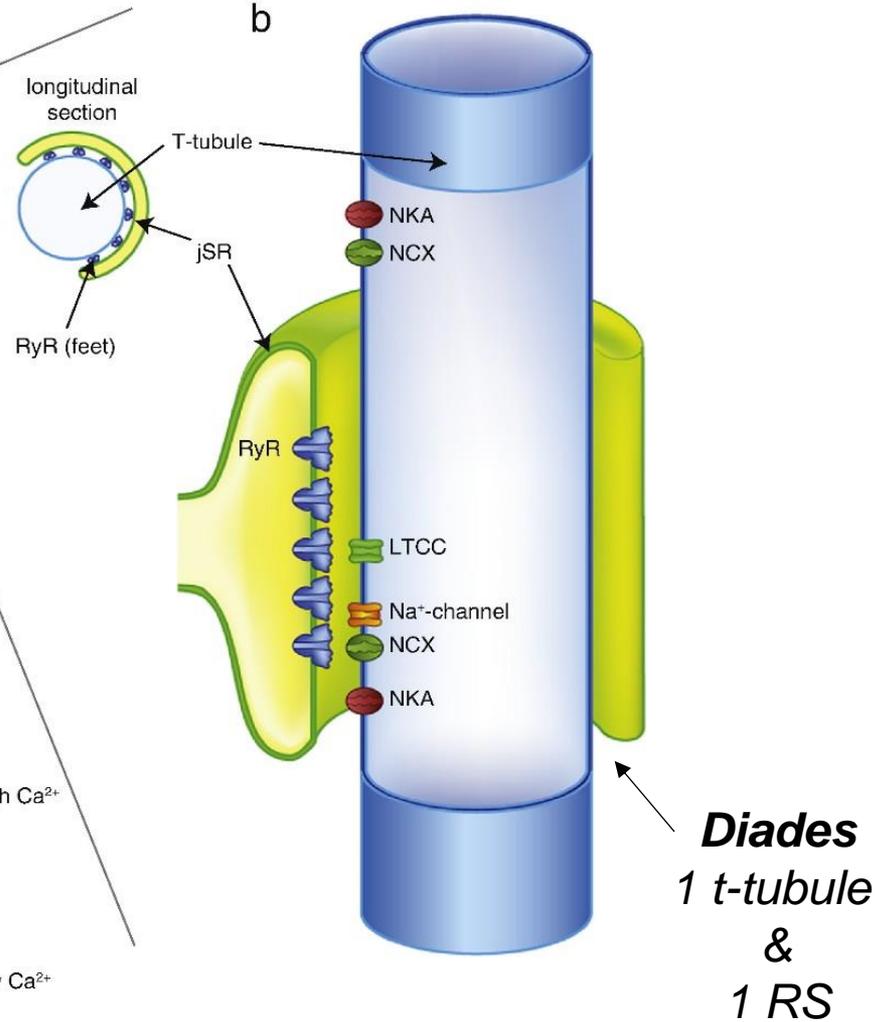
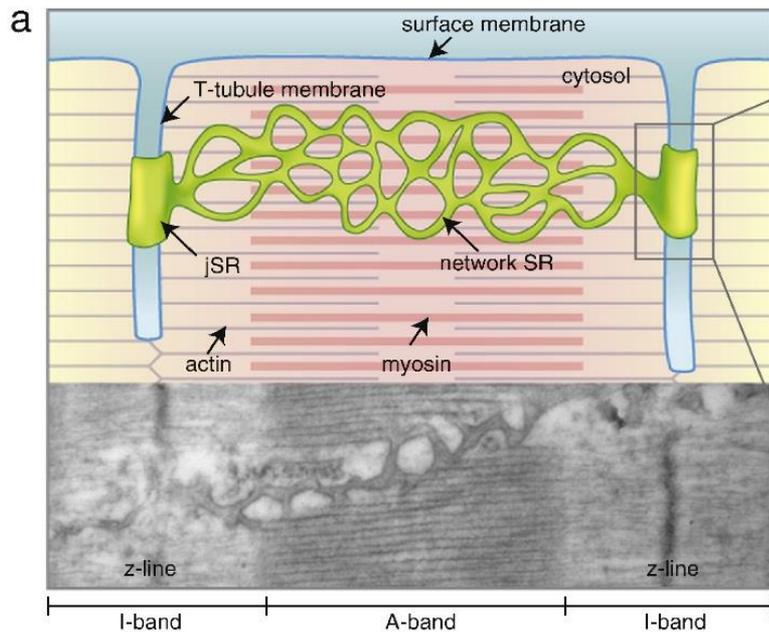
2 photons image taken by Ana Gómez

E.M. image from WT mice heart taken by F. Protasi and S. Boncompani

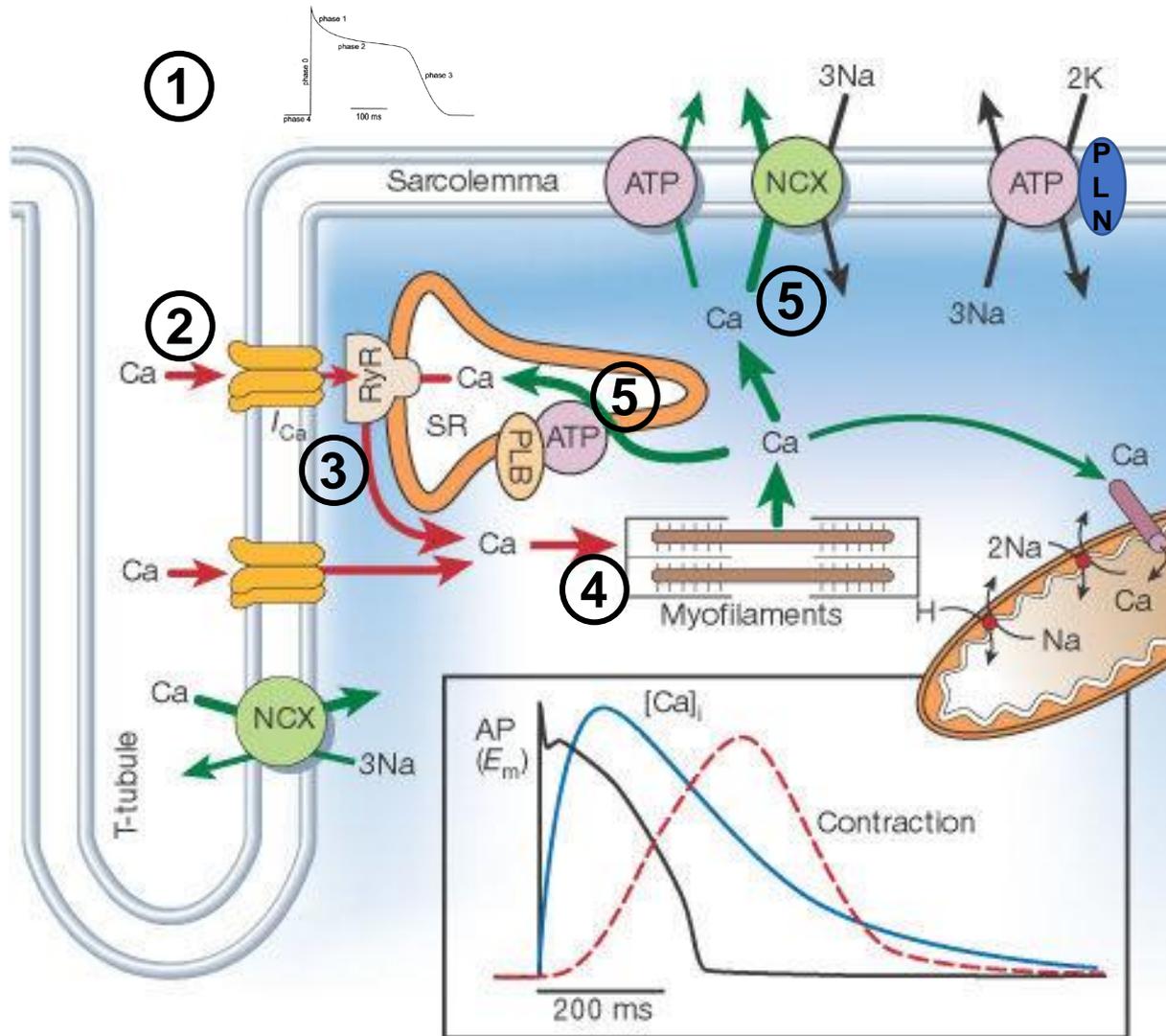
Structures des cellules ventriculaires cardiaques



Les diades



Couplage excitation-contraction



① **Dépolarisation (PA)**
Sarcolemme

② **Entrée de Ca^{2+} :**
Tubules T
 $I_{\text{Ca,L}}$

③ **Libération de Ca^{2+} induite par le Ca^{2+} (CICR)**
RS
R_{Ry}

④ **Contraction:**
Myofilaments

⑤ **Relaxation:**
SERCA
NCX

Méthodes d'analyse du CEC : Patch-Clamp

La technique de Patch-Clamp permet d'isoler électriquement un fragment de membrane ou une cellule entière afin de lui appliquer un courant (courant-imposé) ou un potentiel (potentiel-imposé) et d'enregistrer la réponse.

Developpée par Neher et Sakmann en 1978, et amélioré en 1981.

La résistance entre la pipette et la membrane doit être très élevée (GigaOhm)



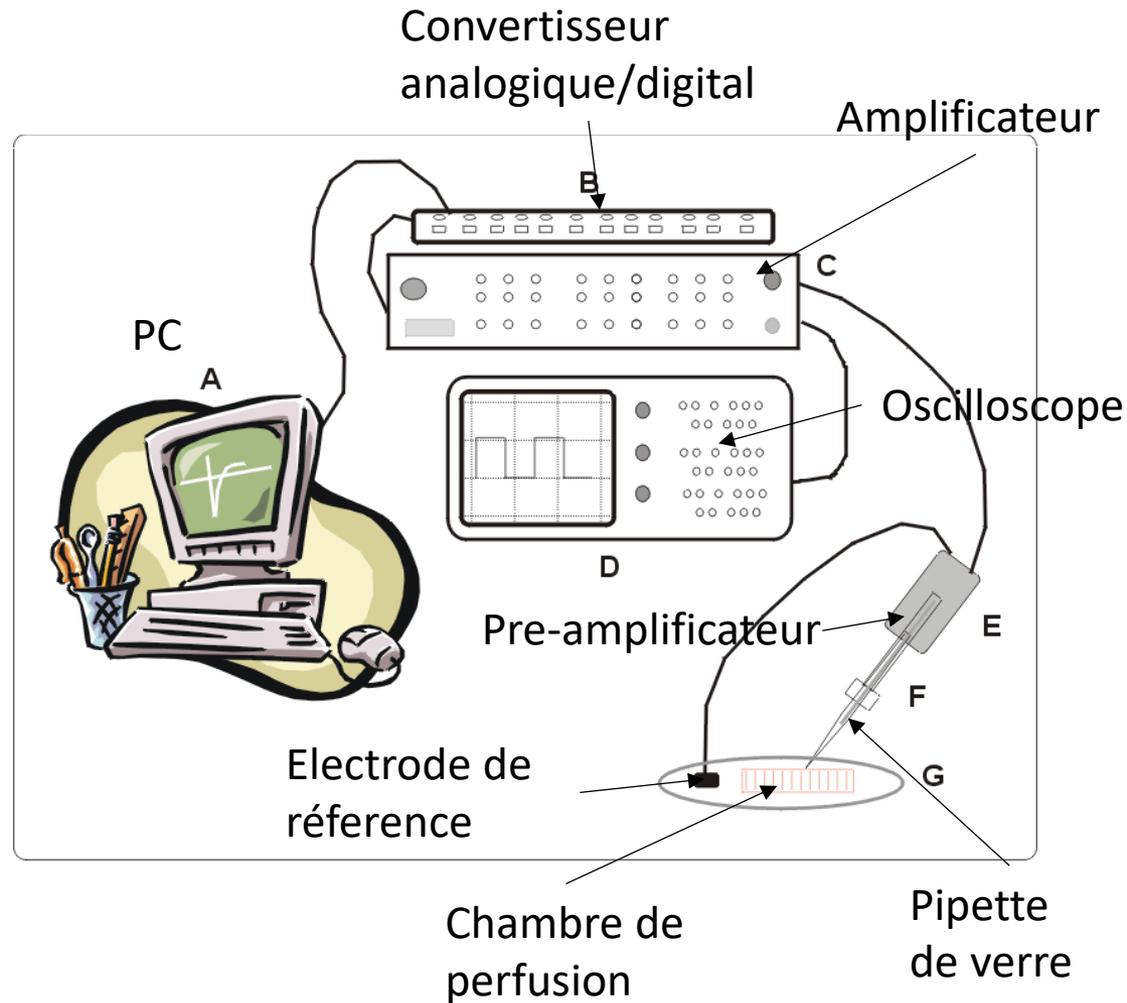
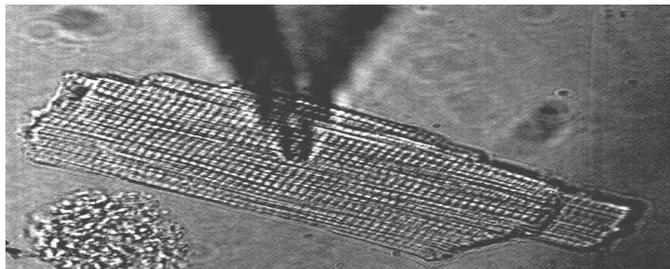
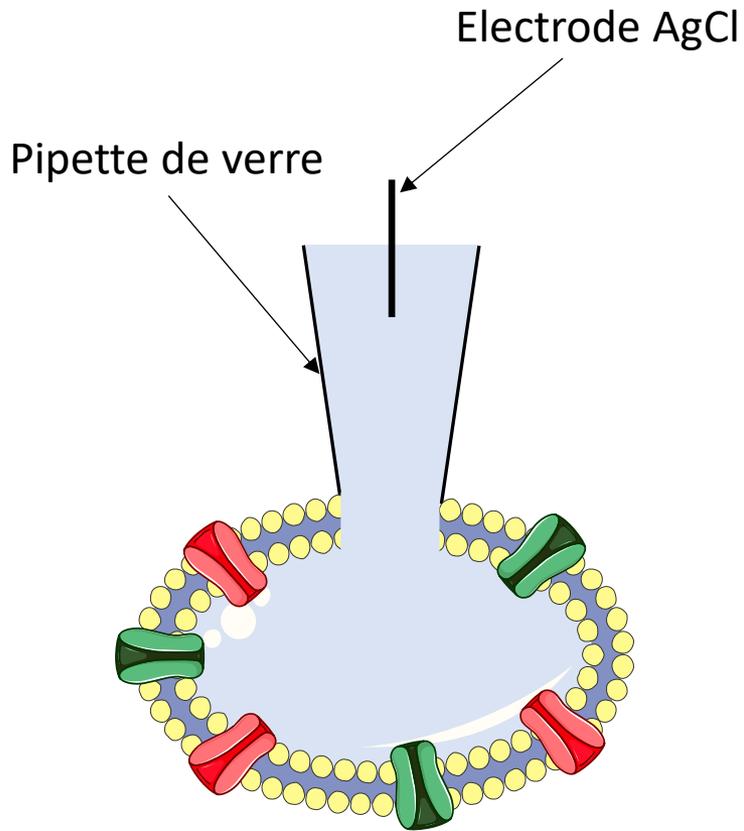
Erwin Neher



Bert Sakmann

Prix Nobel de Médecine et Physiologie 1991

Méthodes d'analyse du CEC : Patch-Clamp

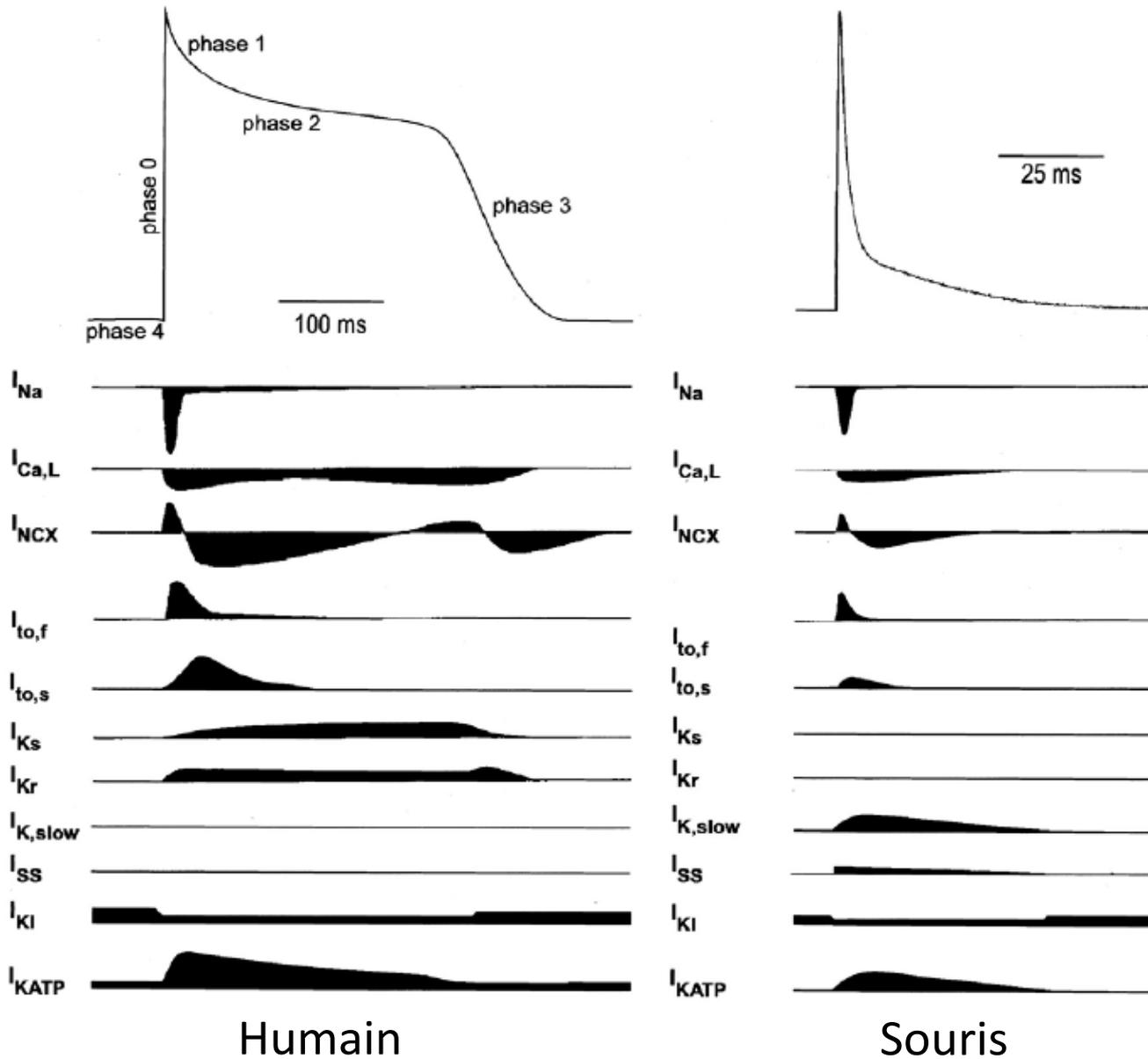


$$U=R.I \text{ ou } I=U/R$$

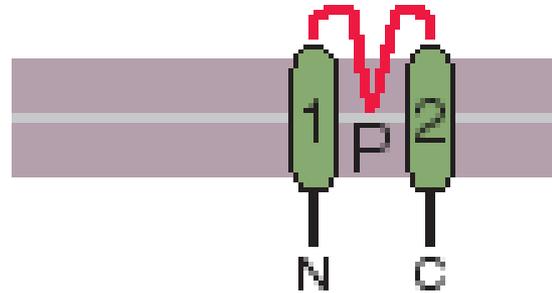
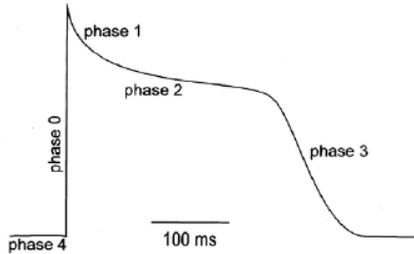
Mesure du potentiel de membrane : potentiel d'action
Mesure de l'activité des canaux ioniques

Le potentiel d'action cardiaque

Potentiel d'action des cardiomyocytes ventriculaires



Potentiel de membrane au repos : I_{K1}



Les canaux potassiques rectifiants entrants sont responsables du potentiel de membrane au repos

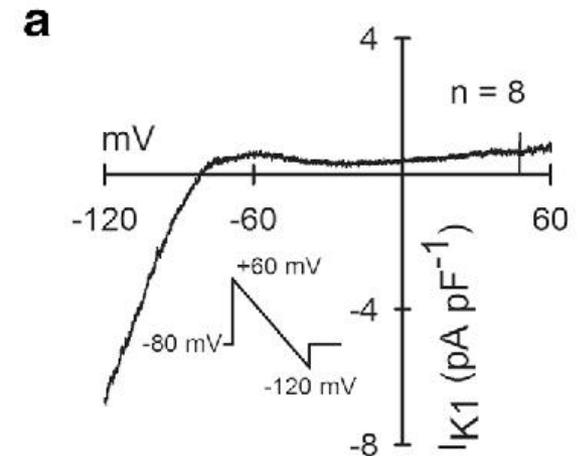
Heterotétramère : Kir2.1, Kir2.2

Toujours ouvert

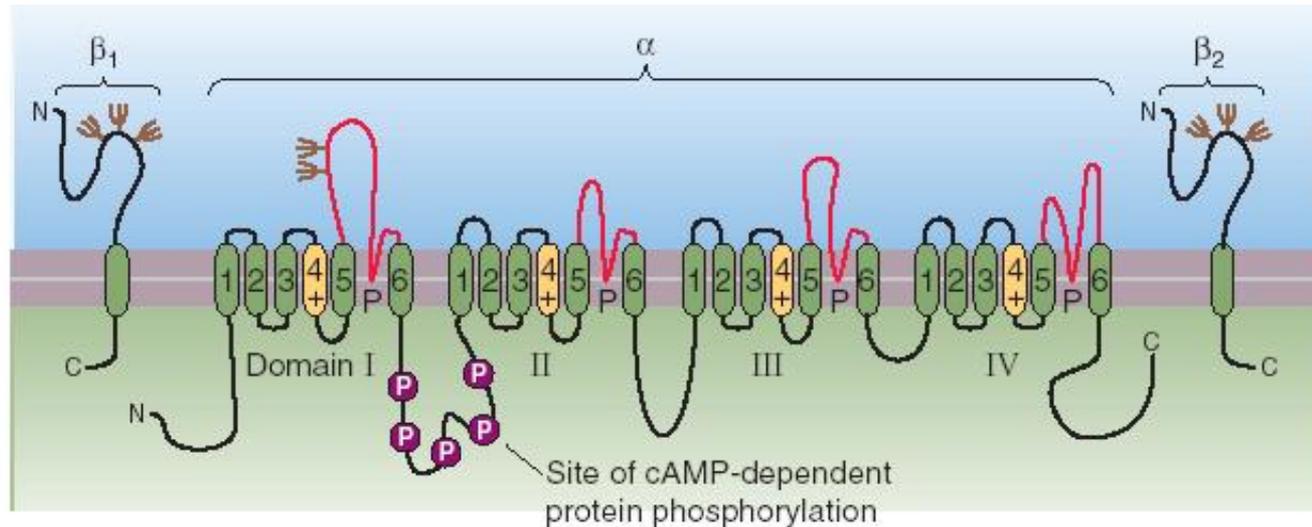
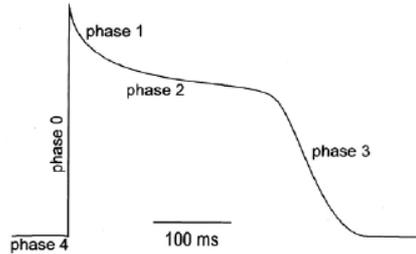
Responsable du courant I_{K1}

Le courant I_{K1} maintient le potentiel de membrane à -80mV

Inhibé par le césium et le barium



Les canaux sodiques voltage-dépendants



1 sous-unité α : 4 x 6 domaines transmembranaires, S4 senseur de potentiel

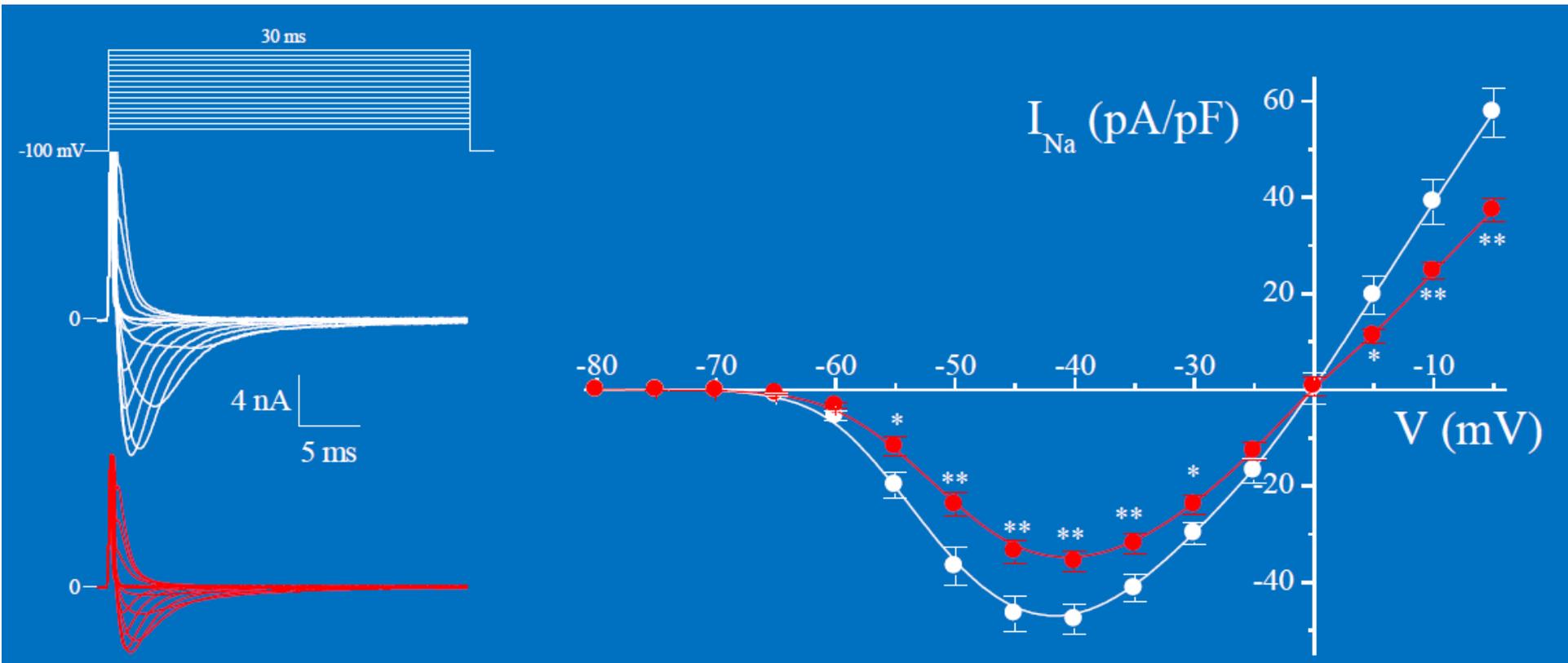
Dans les ventricules : principalement $Na_v1.5$

Responsable de la phase de dépolarisation des potentiels d'action : entrée de sodium

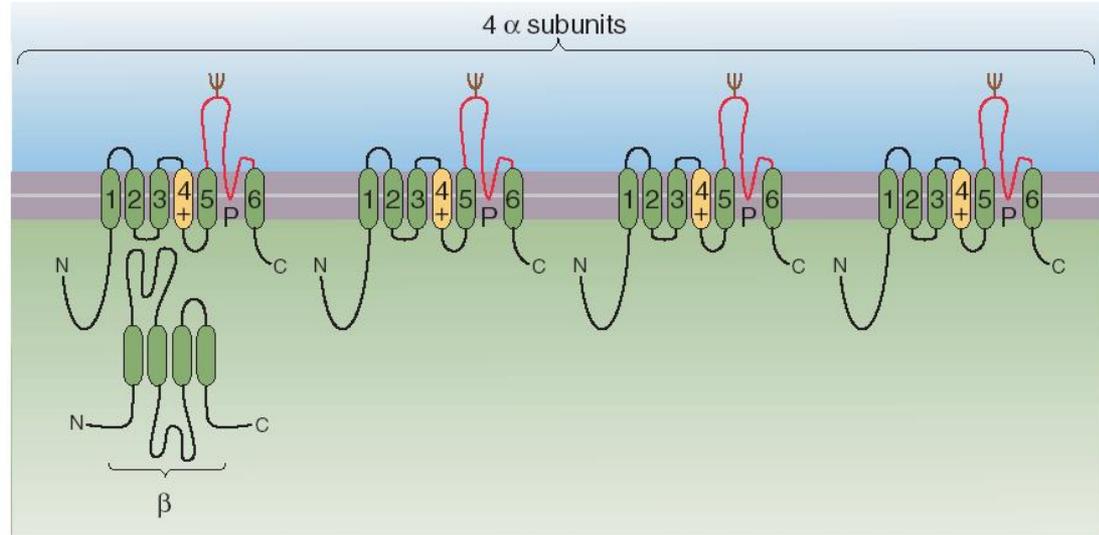
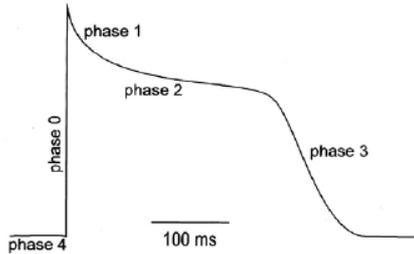
3 états : fermé, ouvert, inactivé. Ouverture à $-70/-60$ mV

Inhibé par de fortes doses de tétrodotoxine

Les canaux sodiques voltage-dépendants



Les canaux potassiques voltage-dépendants



4 sous-unités α $K_v.x$: 6 domaines transmembranaires, S4 senseur du potentiel

Les canaux potassiques présentent une très grande diversité. 40 différents canaux classés en 12 groupes distincts basés sur l'homologie de séquence de leur acides aminés (K_v1 – K_v12).

Impliqués dans la repolarisation des cardiomyocytes : sortie de potassium

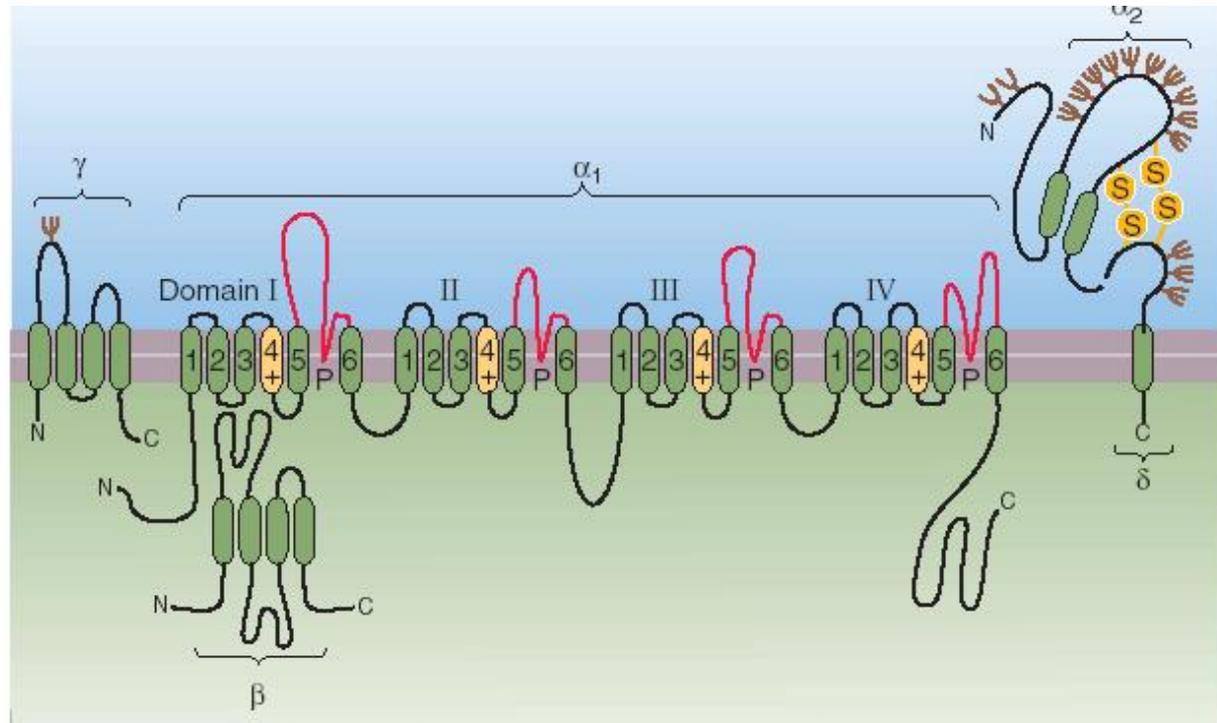
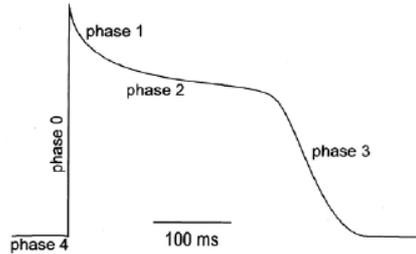
Les canaux potassiques voltage-dépendants

- $K_v7.1$ (K_vLQT1) associé à $KCNE1$: courant potassique rectifiant retardé (I_{K_S}).
Activation lente.

- $K_v4.3$ associé à $KChIP$: courant potassique transitoire sortant (I_{tO}).
Homotétramère
3 états : fermé, ouvert, inactivé. Inactivation rapide. Participe à la phase précoce de la repolarisation

- $K_v11.1$ (hERG) probablement associé à $KCNE2$: I_{K_R}
Peut-être bloqué par un grand nombre de médicaments → risque de torsades de pointes induites par un syndrome de QT long

Canal calcique de type L : I_{CaL}



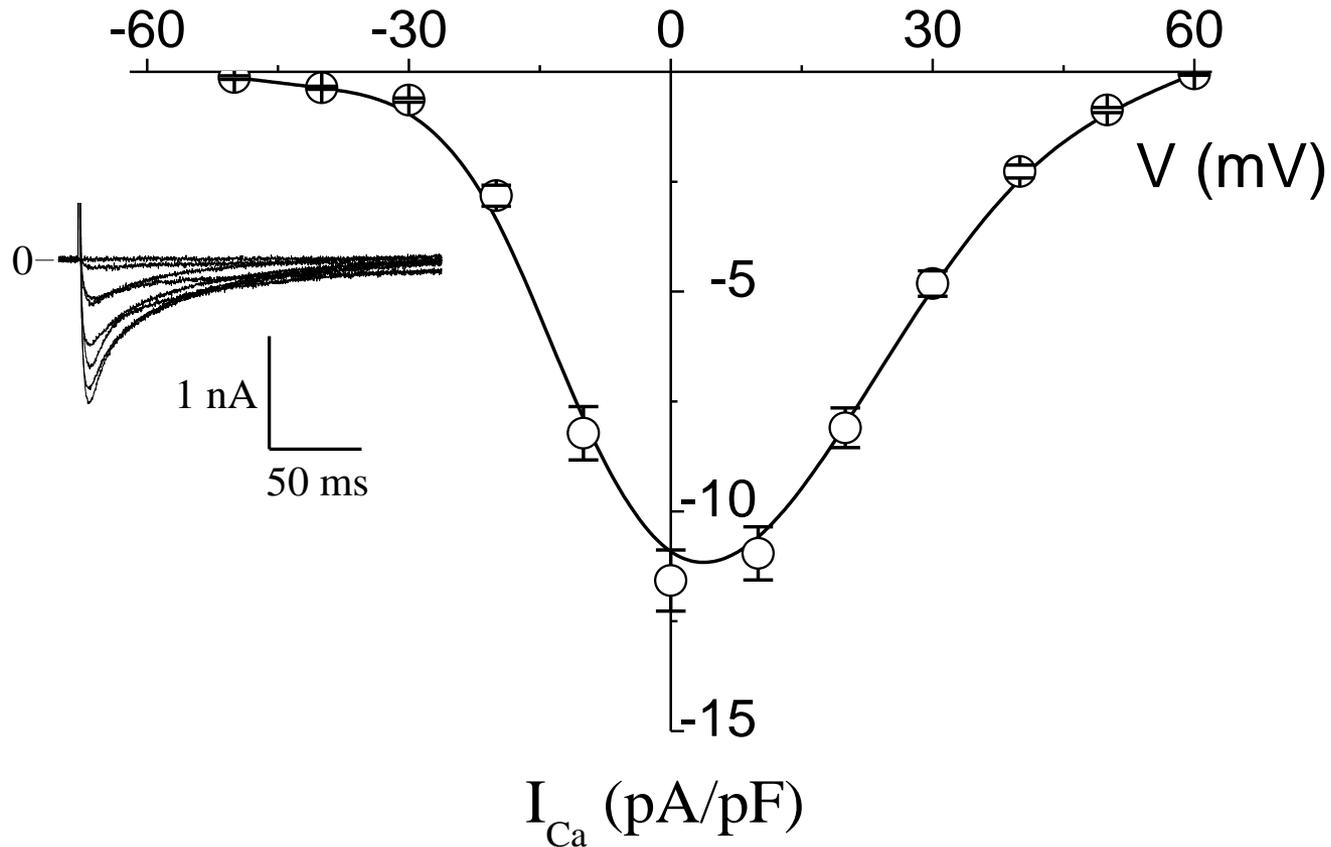
1 sous-unité α qui forme le pore : 4 x 6 domaines transmembranaires, S4 senseur de voltage

Dans les cardiomyocytes ventriculaires Cav1.2

3 états : fermé, ouvert, inactivé. Ouverture à -40 mV

Responsable de la principale entrée de Ca^{2+} dans les cardiomyocytes

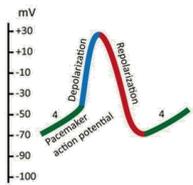
Canal calcique de type L : I_{CaL}



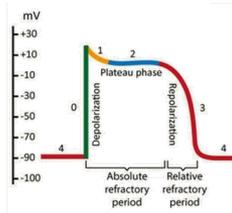
Inactivation rapide Ca^{2+} dépendante et inactivation lente voltage dépendante

Inhibé par dihydropyridine, vérapamil

Couplage électrique des cardiomyocytes : Jonctions Gap



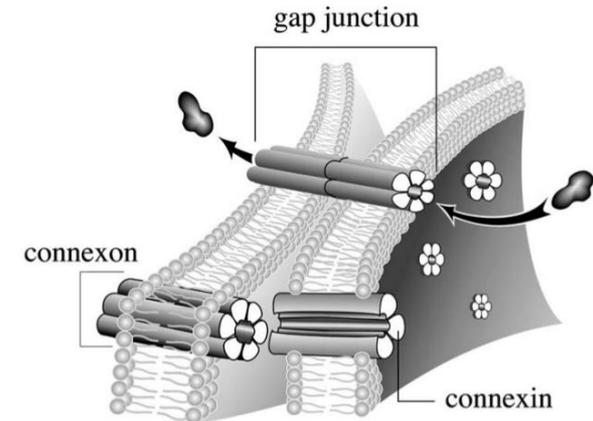
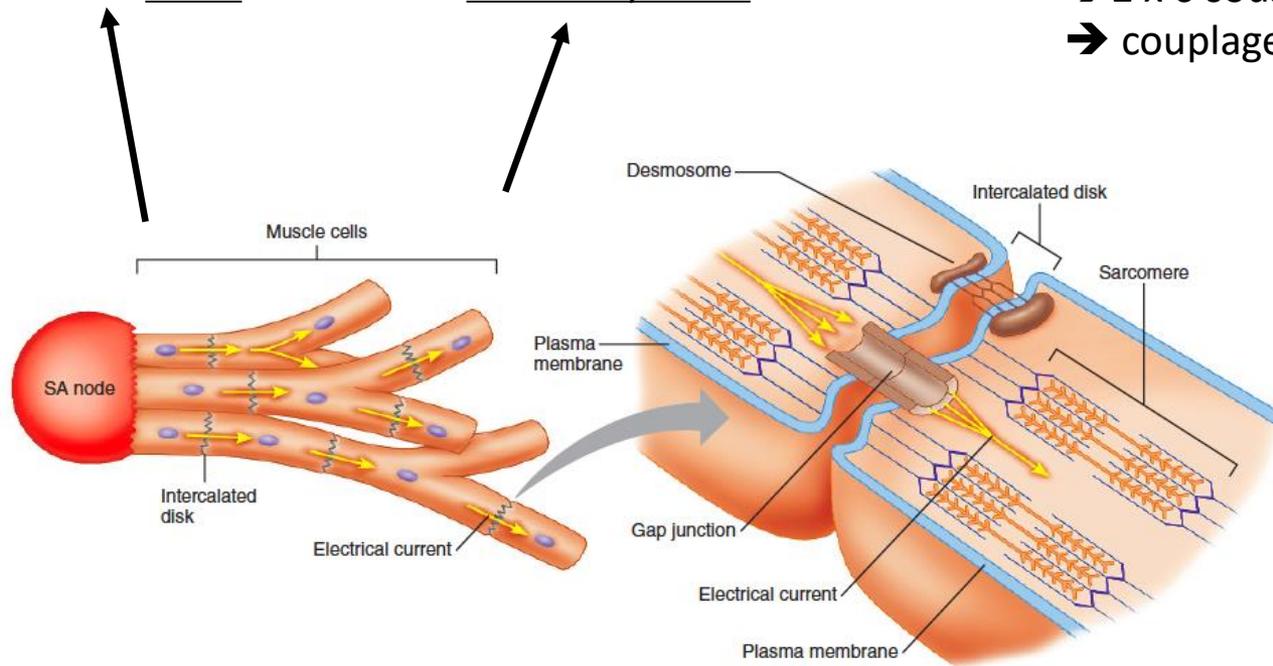
SA node



Contractile Myocardium

Gap Junctions

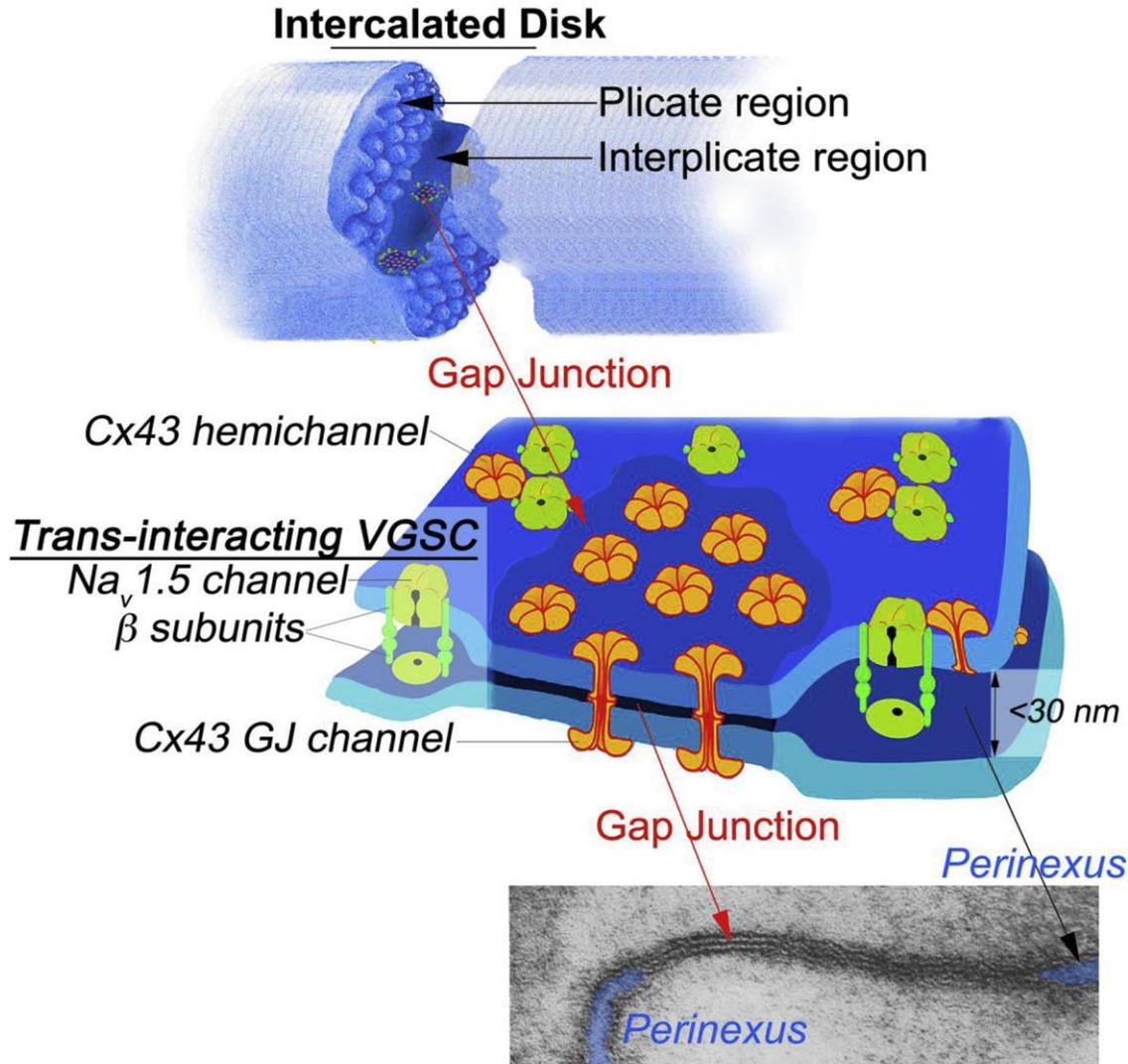
- Pores à conductance élevée, perméables aux ions et aux petites molécules
- 2 x 6 sous-unités = connexons
- couplage électrique des cardiomyocytes



SAN (centre): Cx 45 faible conductance
 SAN (périphérie): Cx 45 and Cx 43

Oreillettes: Cx 40 and Cx 43
 conductances élevées
 Ventricules: Cx 43

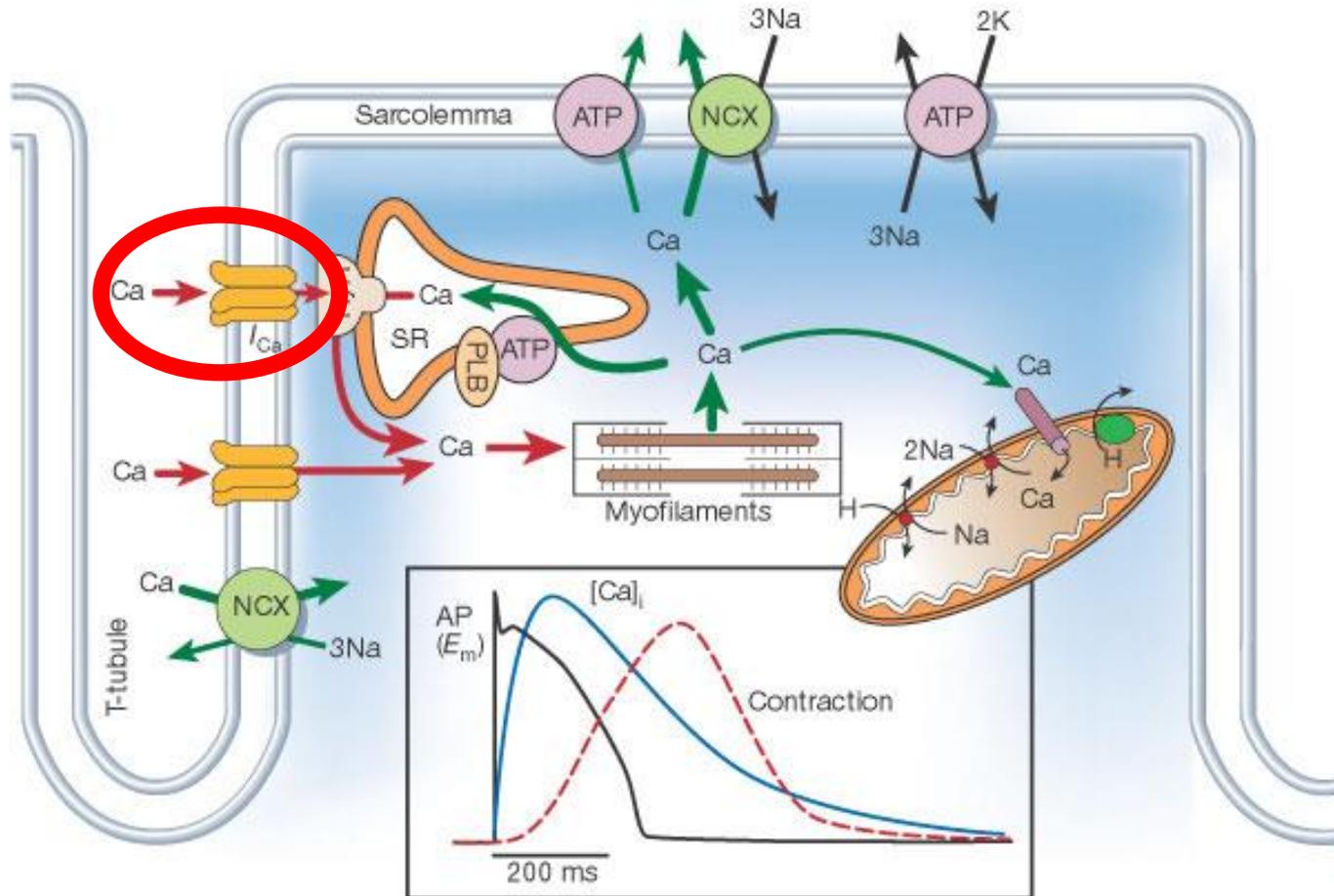
Couplage électrique des cardiomyocytes : colocalisation de Cx43 et Na_v1.5



Hoagland *et al.*, 2019

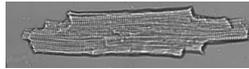
Régulation du couplage excitation-contraction

Canal calcique de type L : I_{CaL}



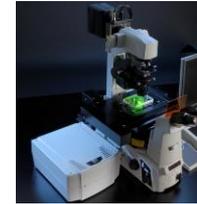
Méthodes d'analyse du CEC : microscopie confocale

Cellule ventriculaire



+

Sonde
Fluorescente du Ca^{2+}

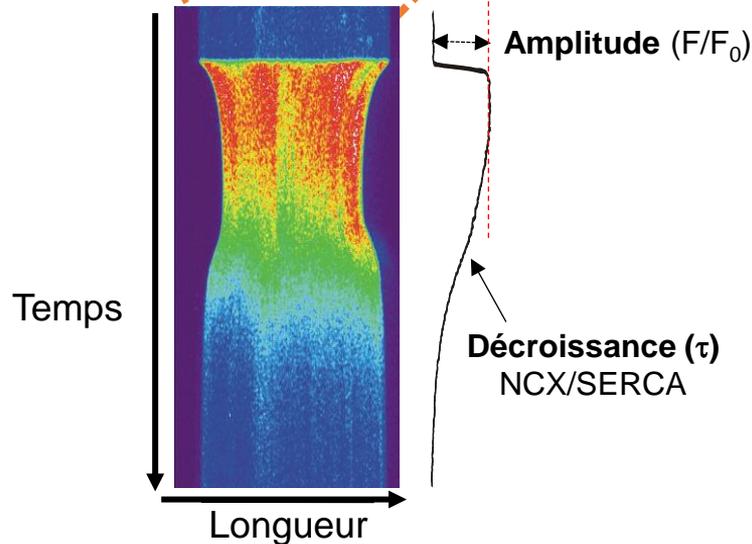
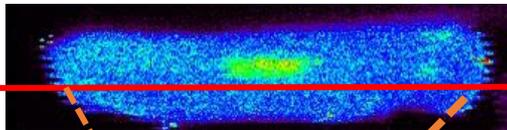


Microscope
Confocal

Systole- Transitoire [Ca^{2+}]

Libération de Ca^{2+} synchronisée (globale)
de l'ensemble des RRys pendant stimulation

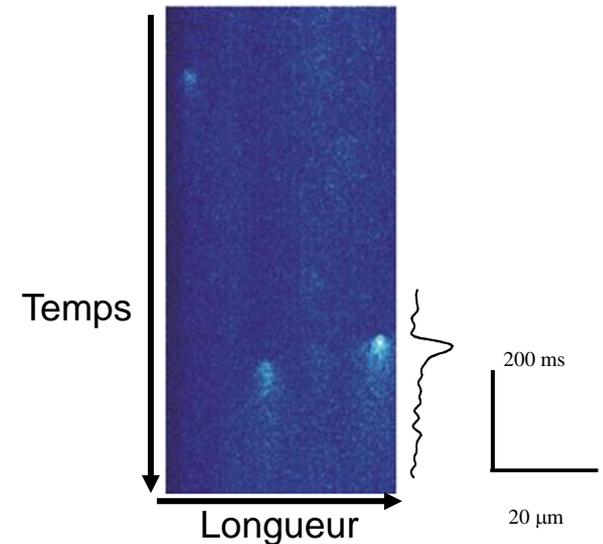
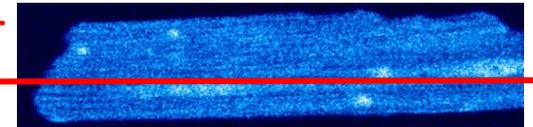
Laser



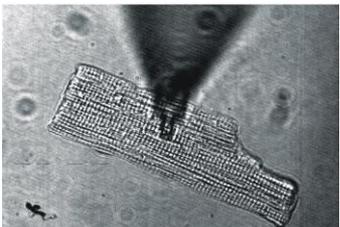
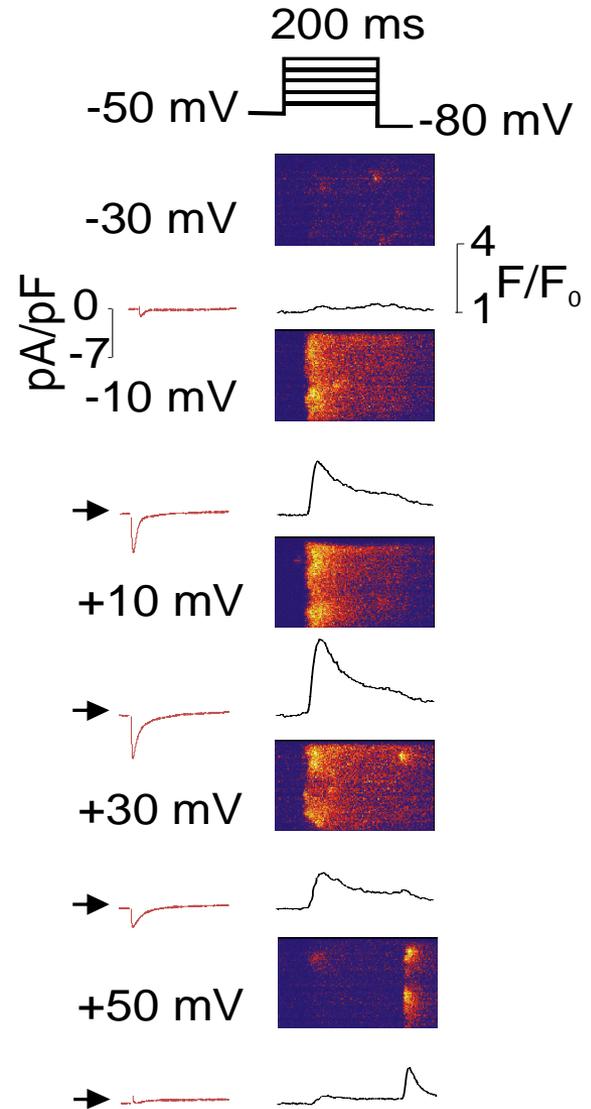
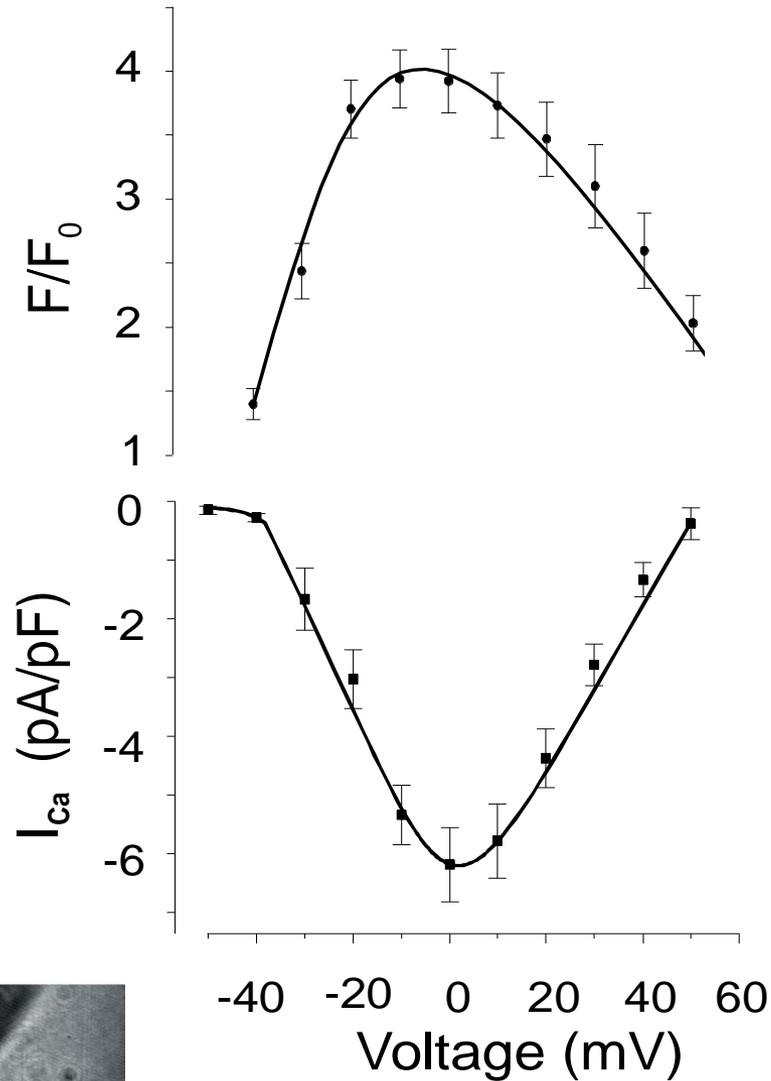
Diastole- Sparks [Ca^{2+}]

Libération de Ca^{2+} spontanée (locale)
par un groupe de RRys au repos

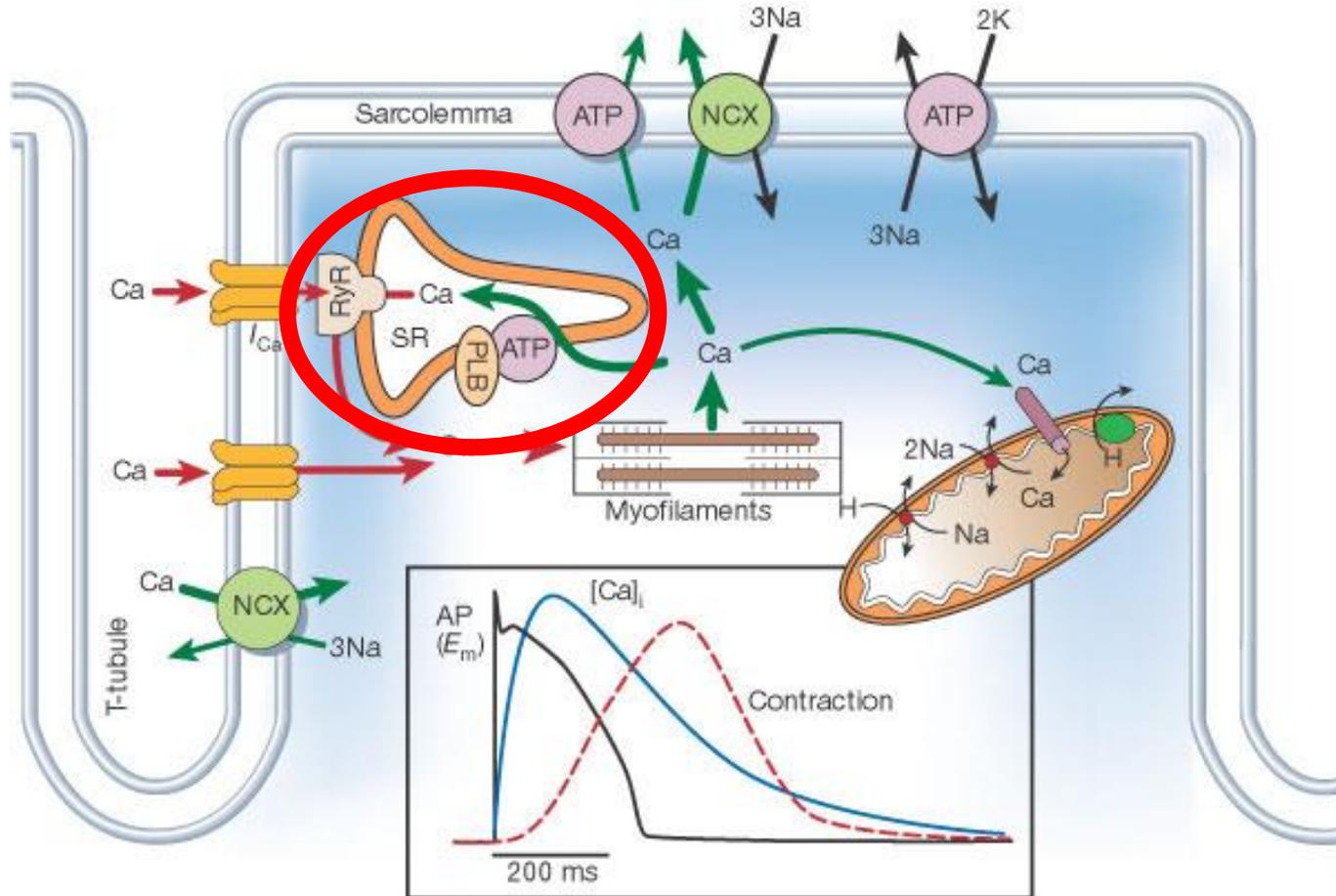
Laser



I_{CaL} et CICR

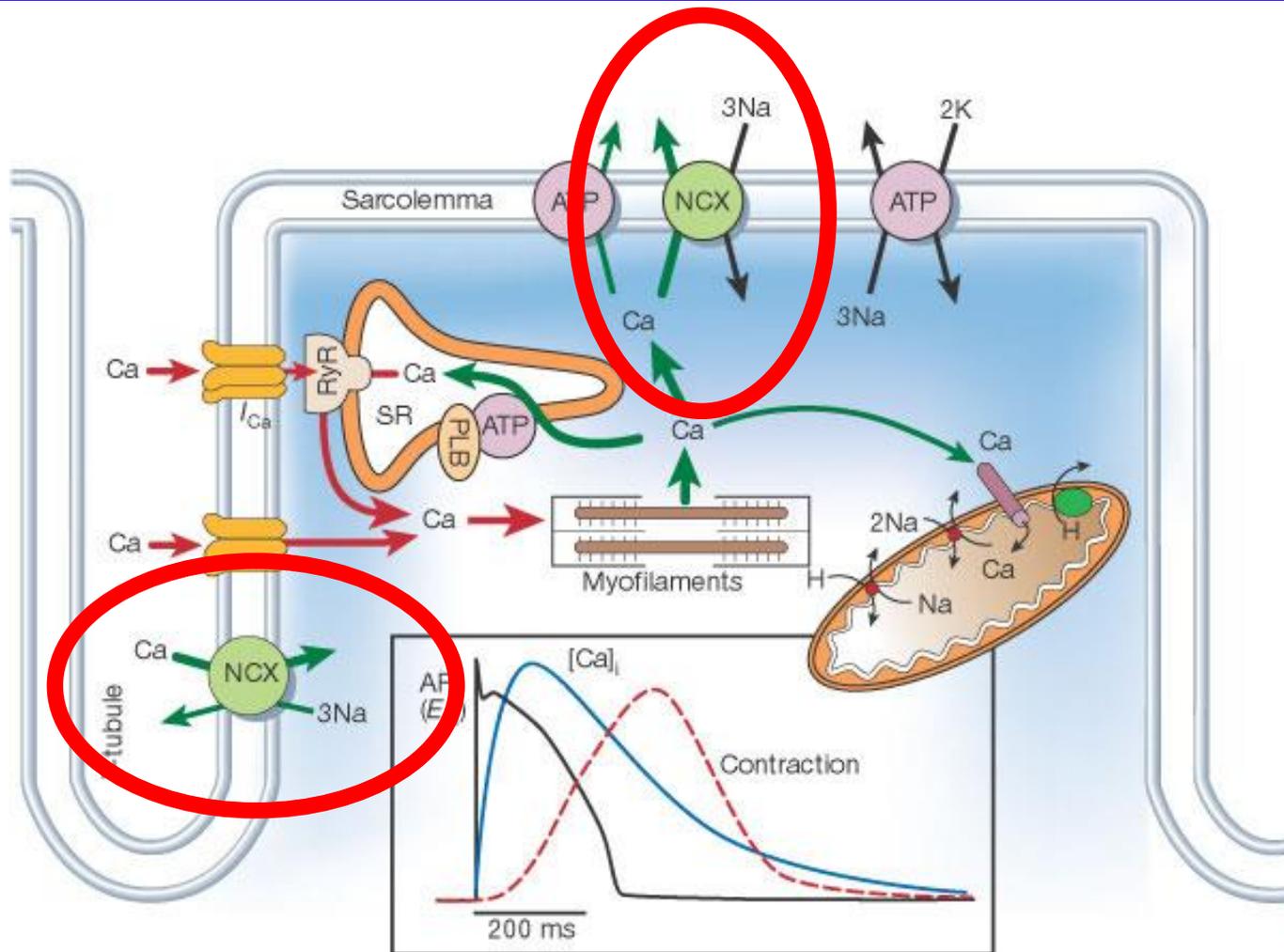


Charge en Ca^{2+} du reticulum sarcoplasmique



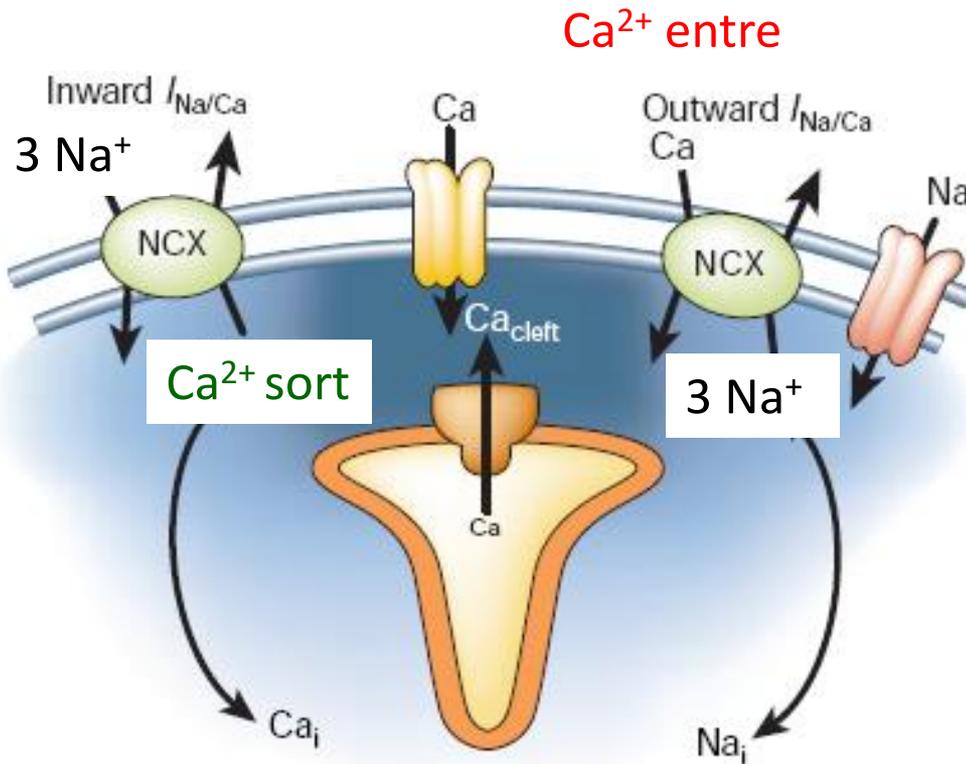
- Quantité de Ca^{2+} dans le RS. Régulation dépendante de :
- Influx Ca^{2+} par $I_{\text{Ca,L}}$
 - Recapture du Ca^{2+} par la SERCA
 - Extrusion du Ca^{2+} par NCX

L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$: NCX

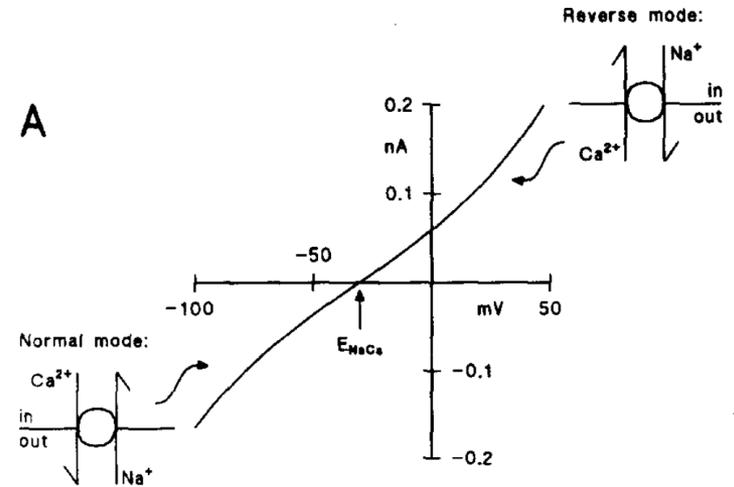


L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$: NCX

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger

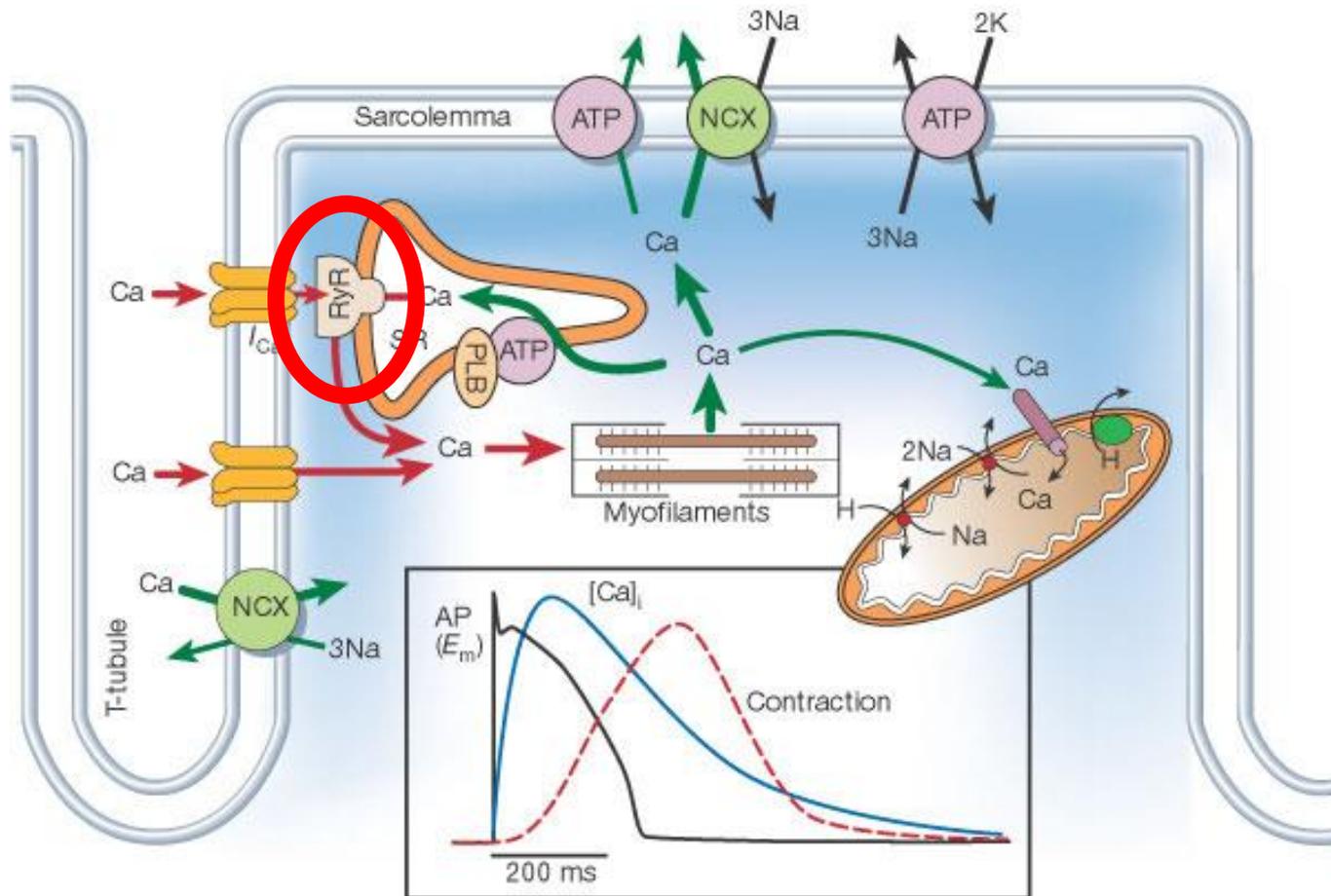


Outward: Ca^{2+} entre



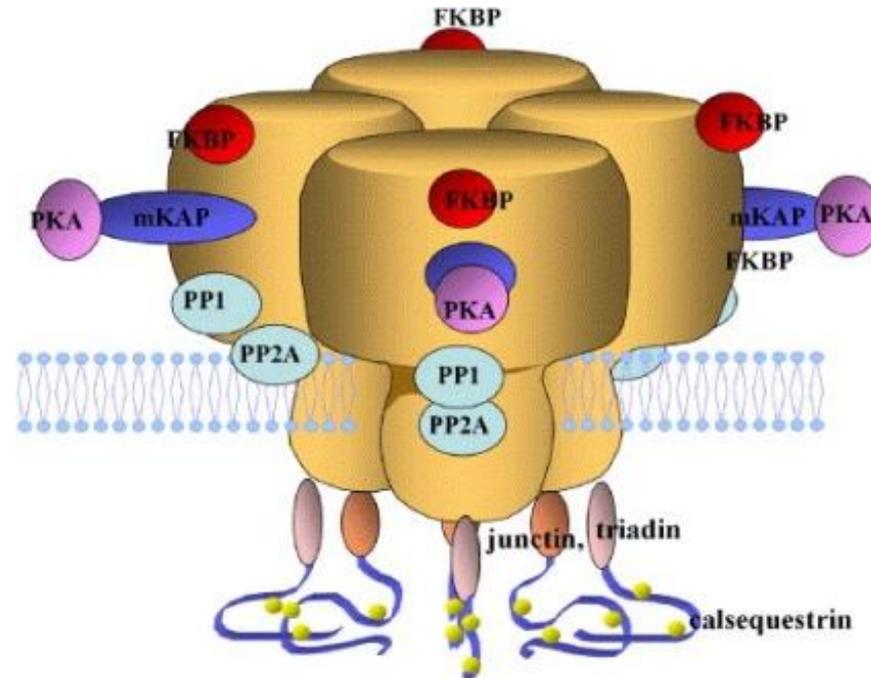
Janvier et al. Cardiovascular Research 1996

Le Récepteur à la Ryanodine : RyR

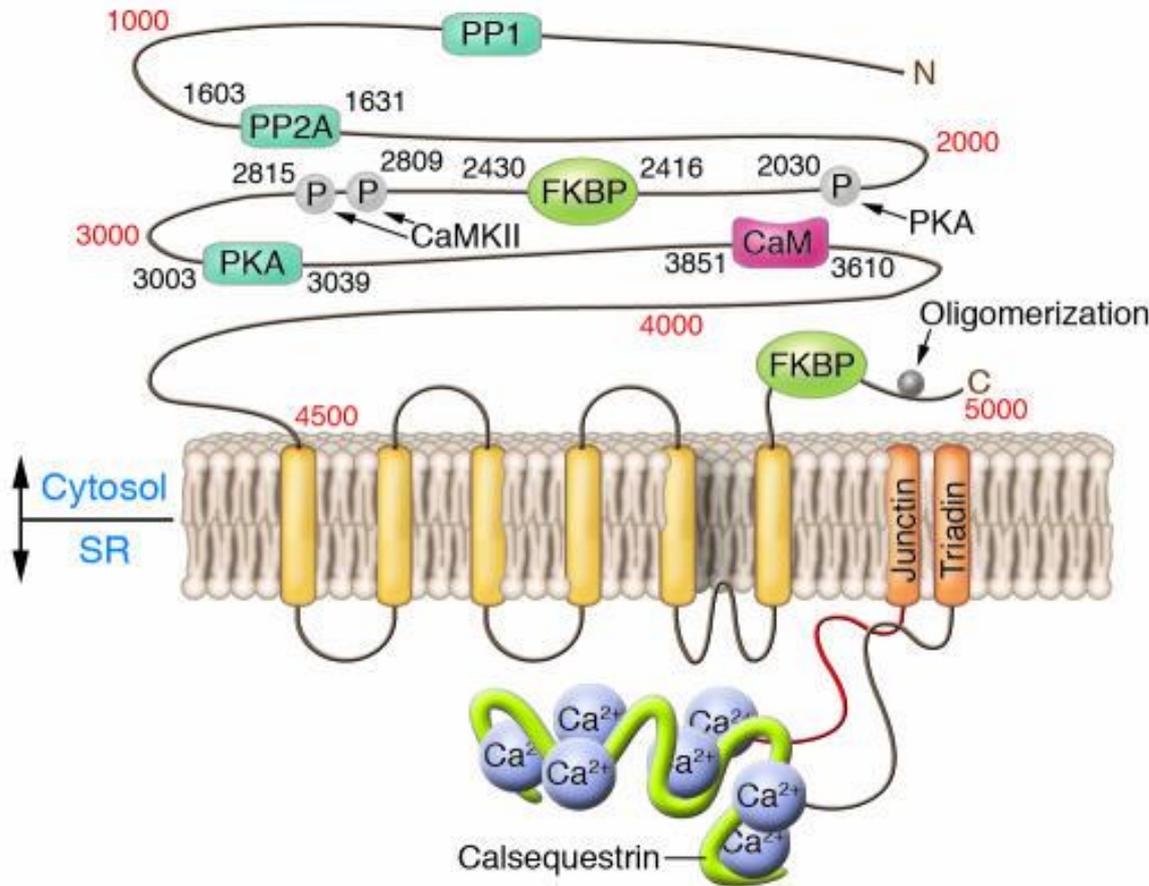


Le Récepteur à la Ryanodine : R_{Ry}

- Cœur: Récepteur à la ryanodine de type 2
- Homo-tétramère (4 monomères de 565 kDa)
- Canal trans-membranaire sensible à l'alcaloïde ryanodine.



Le Récepteur à la Ryanodine : un complexe macromoléculaire



Face Cytosolique

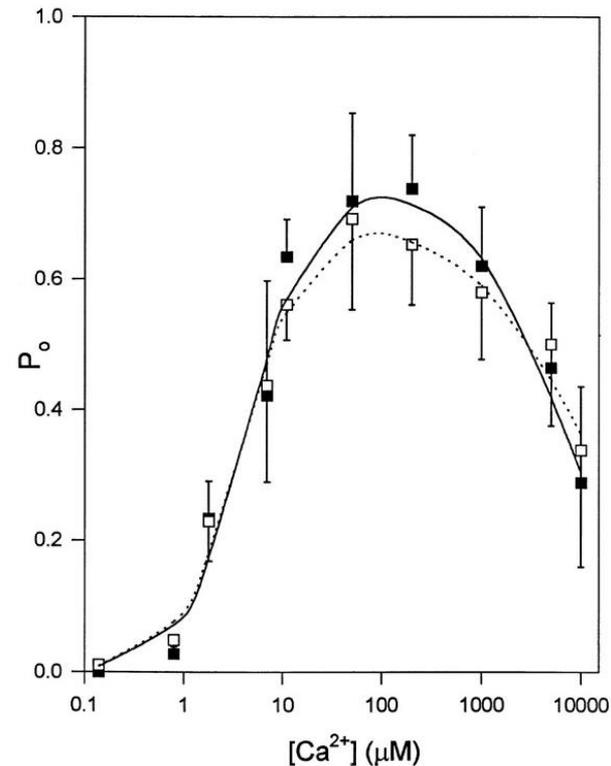
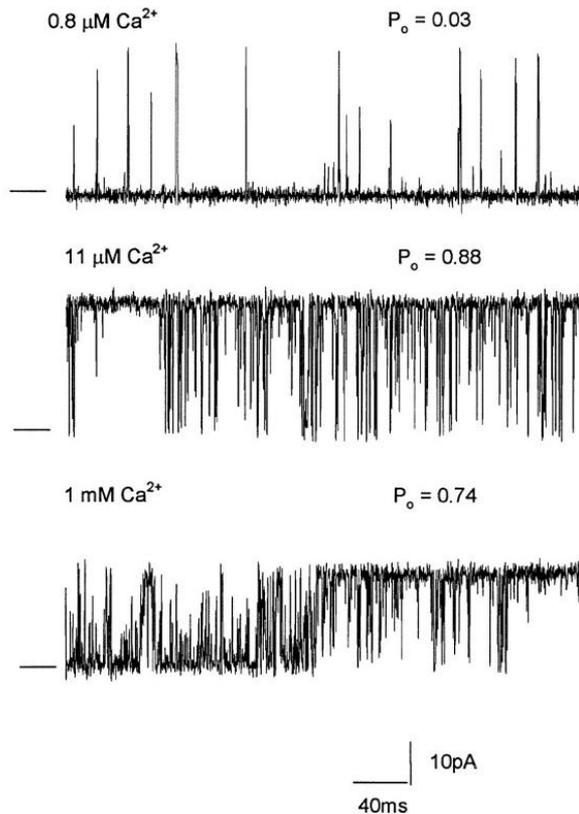
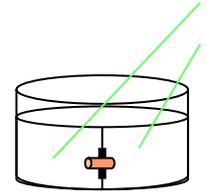
[Ca²⁺]
FKBP12.6= Calstabin 2
Calmodulin
Phosphorylation
CaMKII
PKA
Phosphatase

Face Luminale

[Ca²⁺]
Triadin
Junctin
Calsequestrin

Régulation des RRys : le Ca^{2+} cytosolique

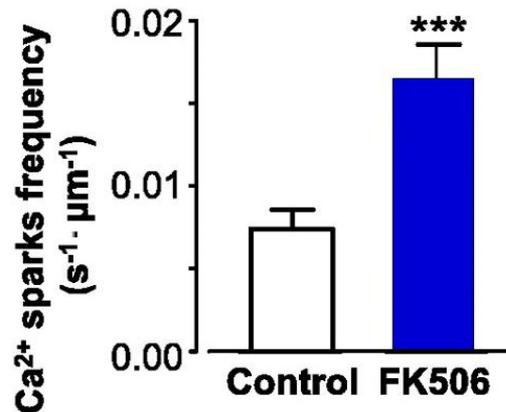
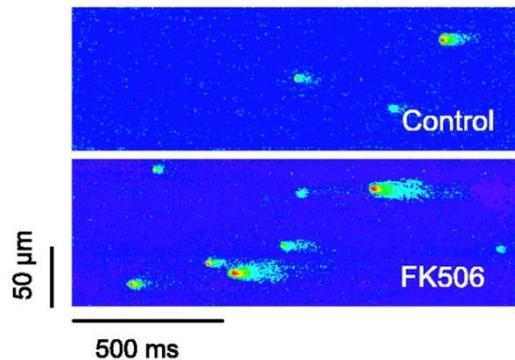
- La régulation par le Ca^{2+} est bi-modale
- Site de forte affinité pour le Ca^{2+} : activation
 - Site de faible affinité pour le Ca^{2+} : inhibition



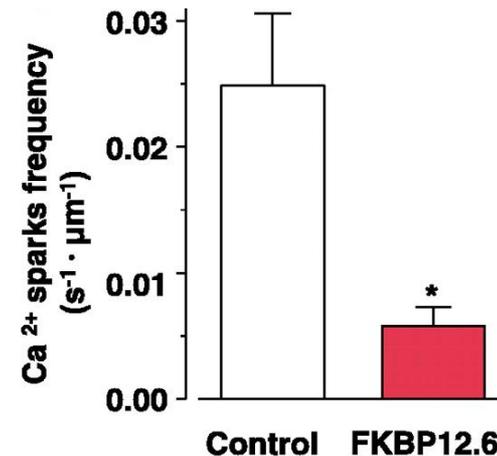
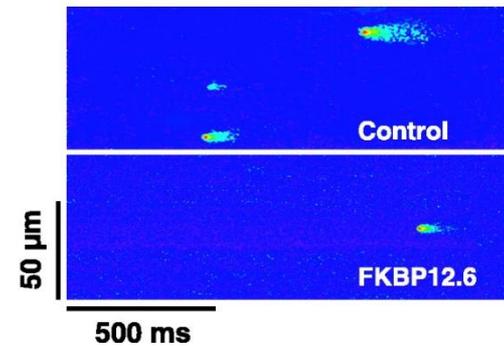
Régulation des RRys: FKBP12.6 (calstabine)

- Protéine de liaison aux immunophilines (FK506 et Rapamycine)
- Stabilisation des RRys dans un état fermé au cours de la diastole
- Synchronisation de l'ouverture des RRys

Dissociation FKBP12.6

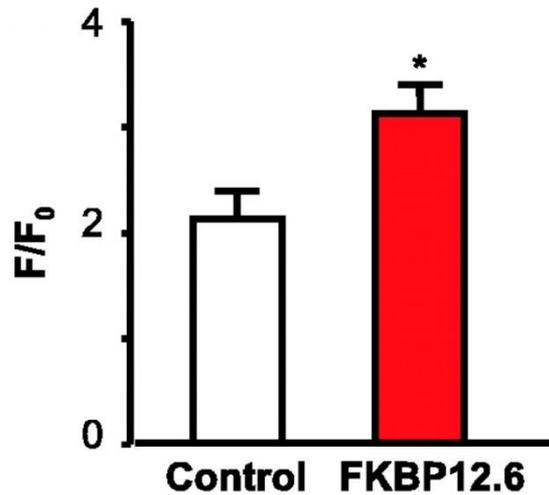


Sur-expression FKBP12.6

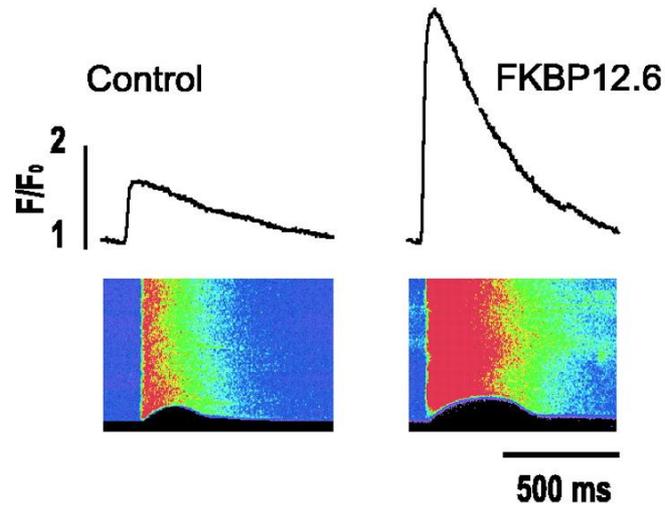


Impact de la sur-expression de FKBP12.6 sur le CEC

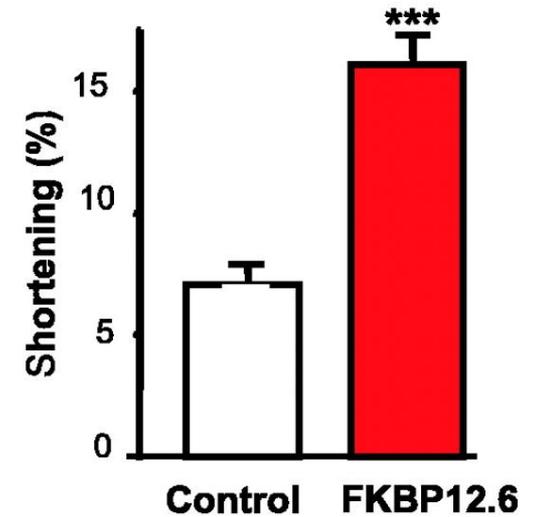
Charge Ca²⁺ du RS



Transitoire [Ca²⁺]

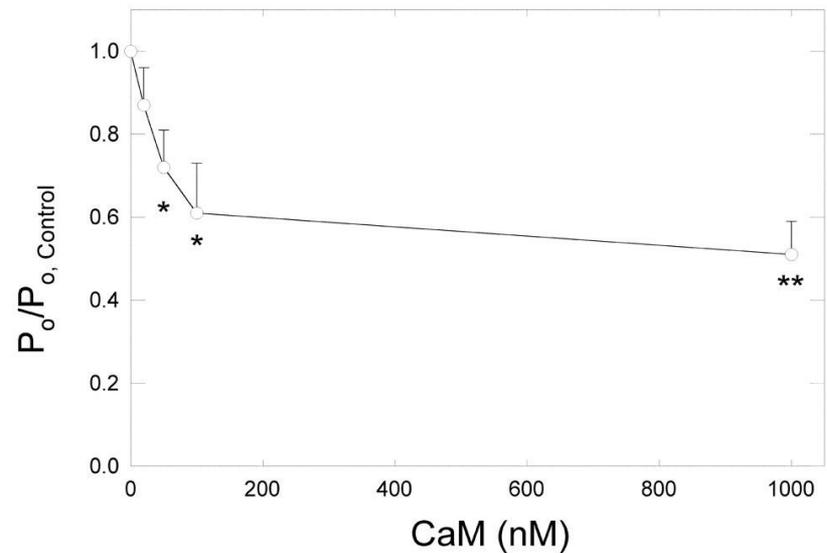
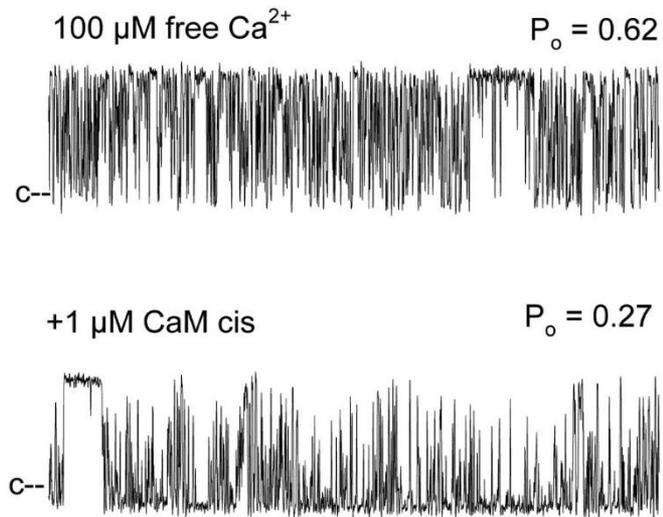


Contraction



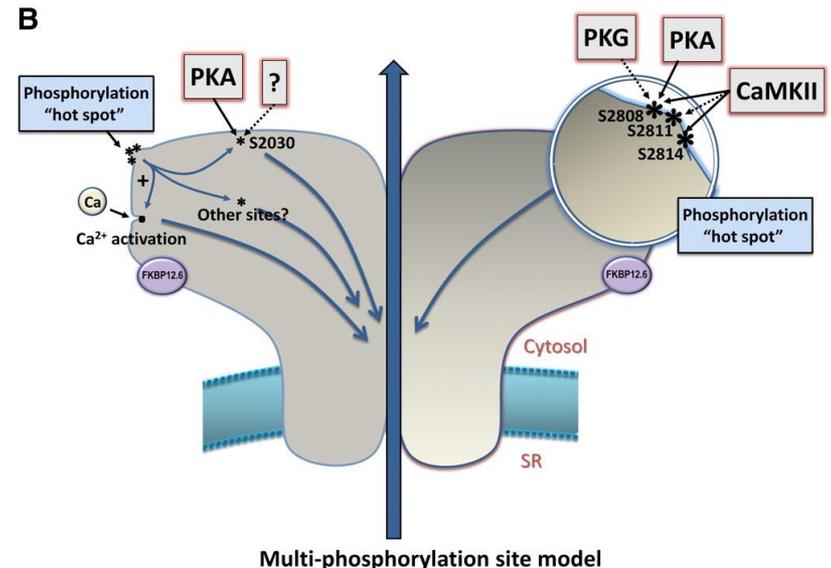
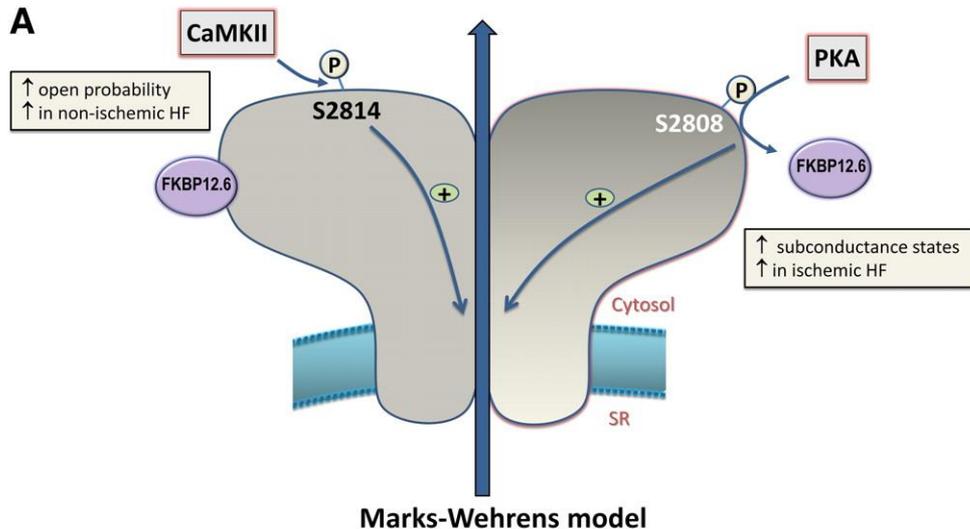
Régulation des RRys: la Calmoduline

- Interaction directe aux RRys dépendante du Ca^{2+}
- Inhibition des RRys
- Stabilisation des RRys dans un état fermé



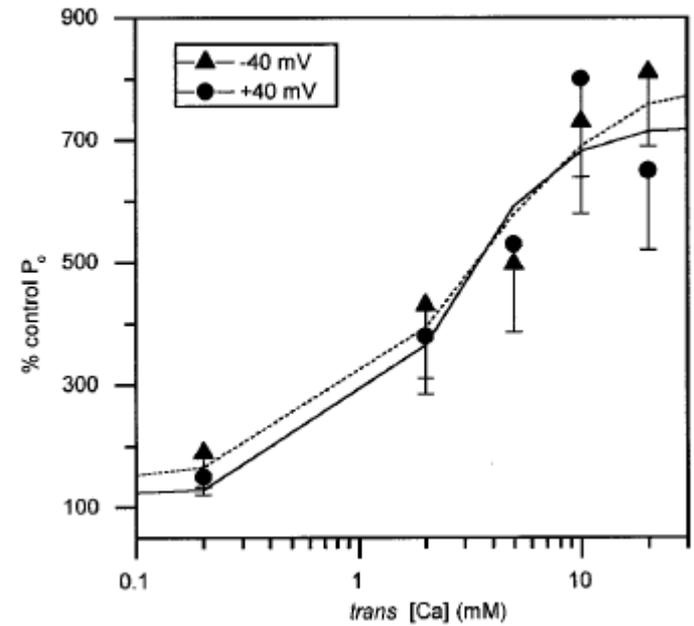
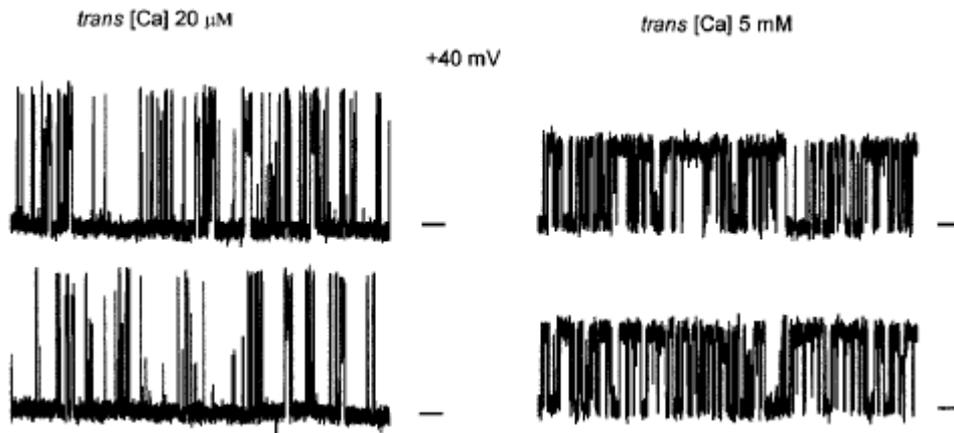
Phosphorylation des RRys

- Stimulation β -adrénergique, production d'AMPC
 - PKA: S2808 et S2030
 - CaMKII: S2814
 - Phosphatase: inhibition de la phosphorylation



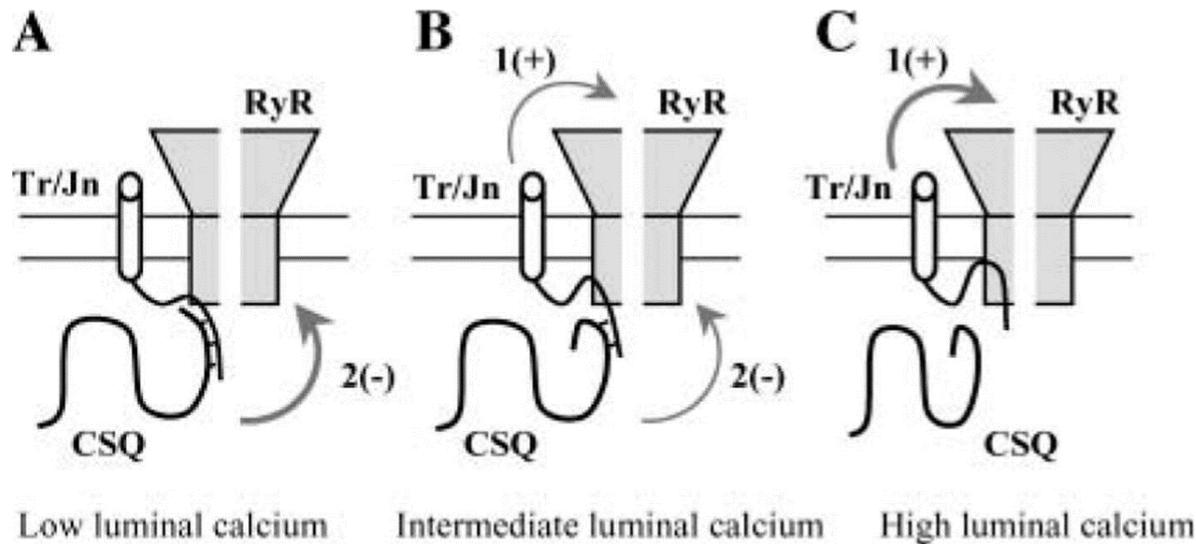
- Dissociation du FKBP12.6
- Augmentation de la probabilité d'ouverture, état de sous-conductance

Régulation des RRs: le Ca^{2+} luminal (RS)



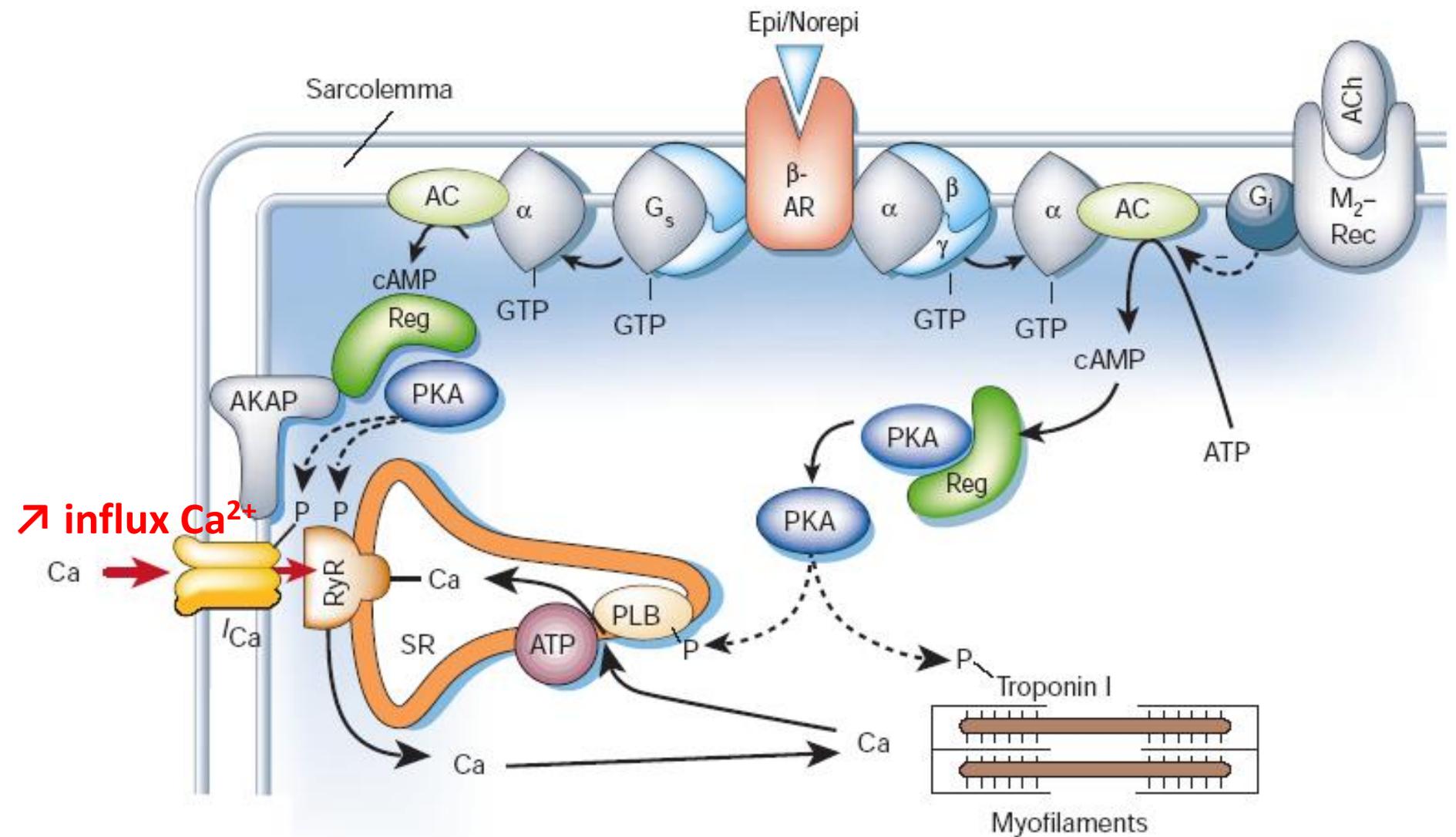
Régulation des RRs: Junctine/Calsequestrine

- Le complexe CSQ/Tr/Jn confère la sensibilité luminale du RRs au Ca^{2+}

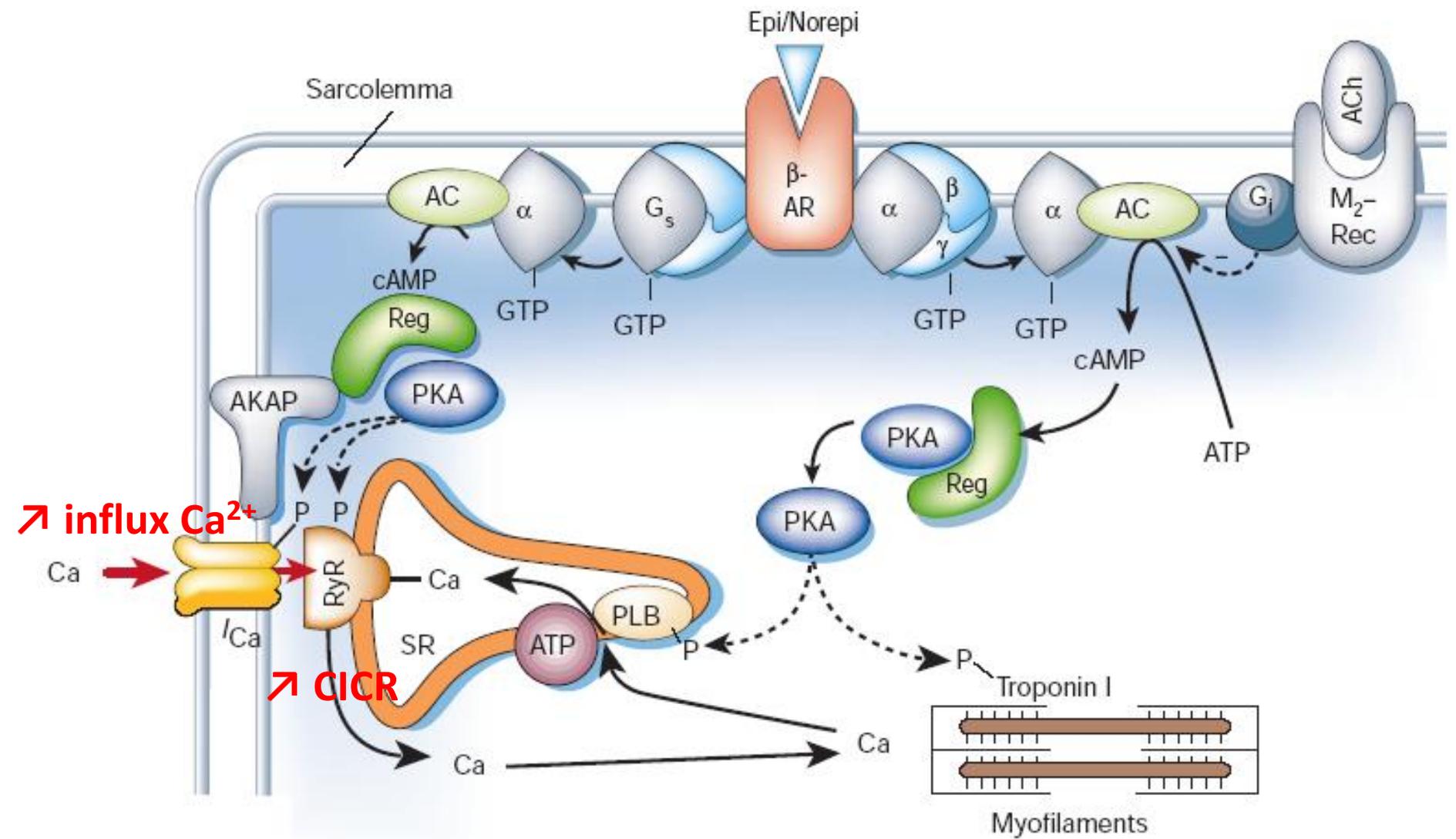


- CSQ est le senseur du Ca^{2+} qui inhibe le RRs lorsque $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ est faible.
- La Triadine 1 et junctin permettent l'interaction entre CSQ et le RRs.

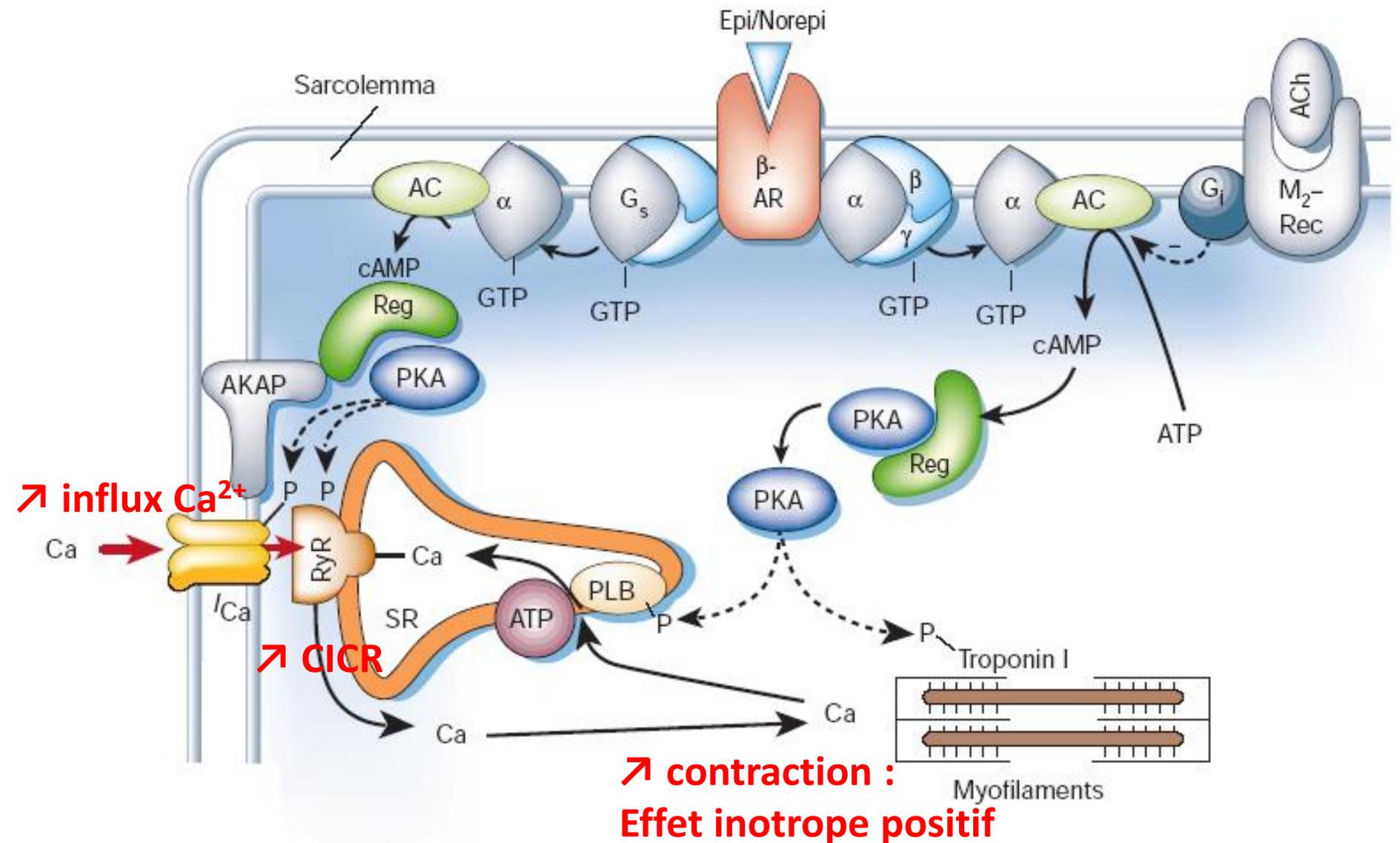
Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction



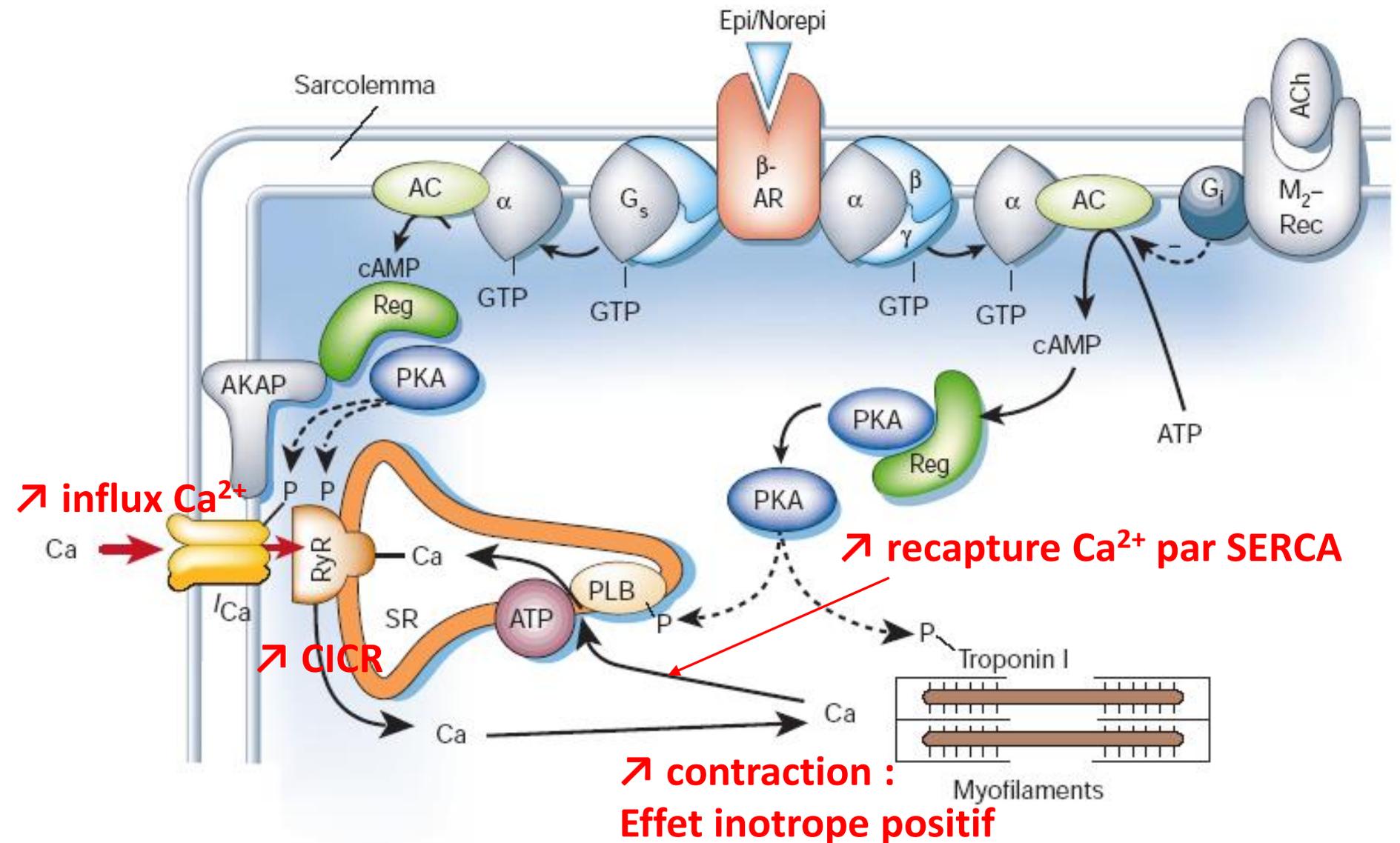
Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction



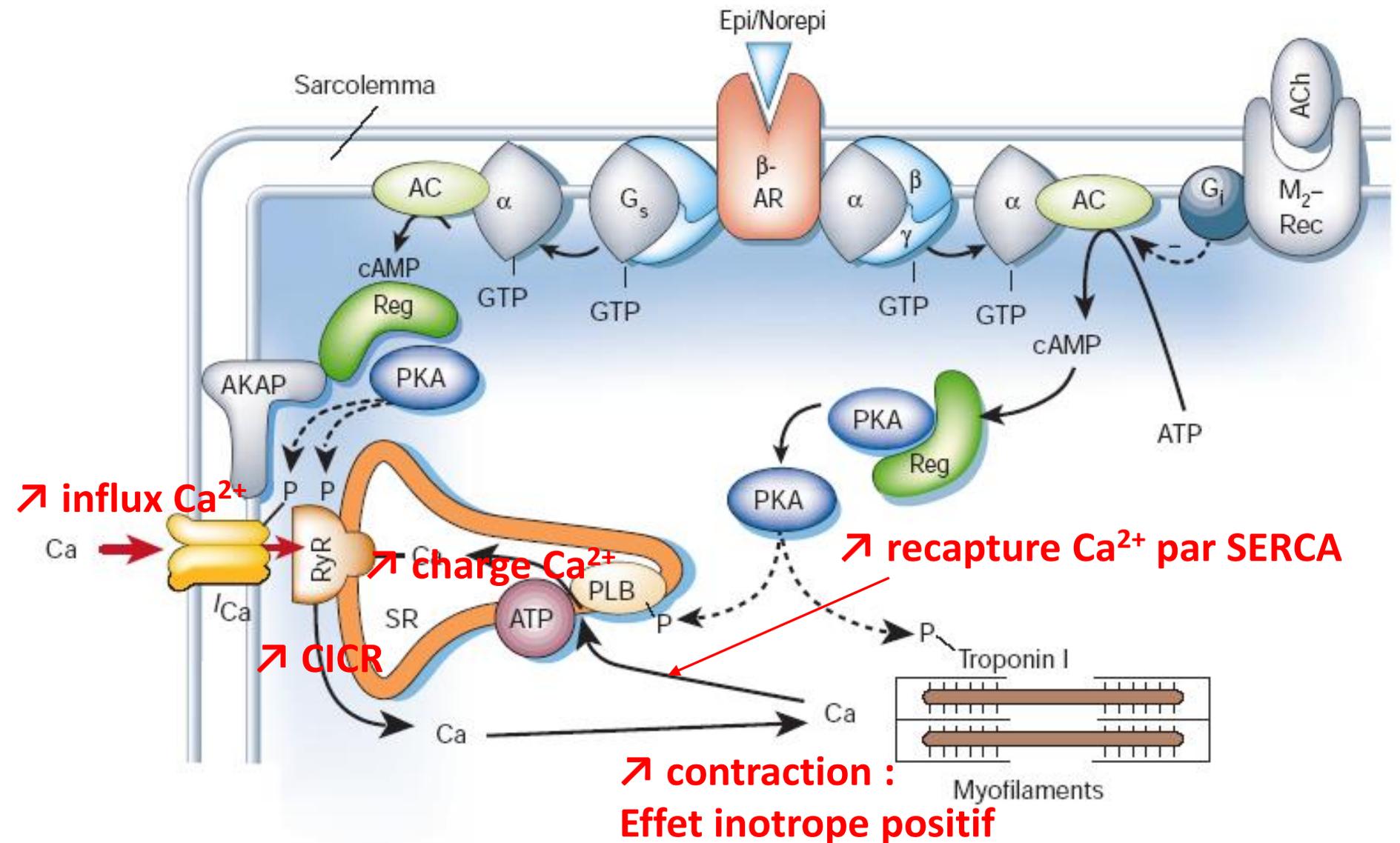
Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction



Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction



Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction



Stimulation β -adrénergique et couplage excitation-contraction

