

MISE EN ÉVIDENCE DE L'EXPRESSION D'UN COURANT CALCIQUE DE TYPE L NIFÉDIPINE-RÉSISTANT DANS LES CARDIOMYOCYTES ATRIAUX HUMAINS

http://www.lebanesemedicaljournal.org/articles/56-3/original4.pdf

Nassim FARÈS¹, Victor JEBARA², Pierre CORBI³, Patrick BOIS⁴, Daniel POTREAU⁴

Farès N, Jebara V, Corbi P, Bois P, Potreau D. Mise en évidence de l'expression d'un courant calcique de type L nifédipine-résistant dans les cardiomyocytes atriaux humains. J Med Liban 2008 ; 56 (3) : 168-173.

Fares N, Jebara V, Corbi P, Bois P, Potreau D. Evidence for expression of a nifedipine resistant L-type calcium current in human atrial cardiomyocytes. J Med Liban 2008 ; 56 (3) : 168-173.

RÉSUMÉ : Dans le cœur, deux types de courants calciques ont été décrits, L et T. Cependant une composante calcique dihydropyridine-résistante a été mise en évidence dans les myocytes ventriculaires de rats dont l'expression semble être régulée au cours du processus de différenciation-dédifférenciation de ces cellules. Le but de notre étude est de rechercher la présence d'une telle composante dans les cardiomyocytes humains.

Sur des cellules atriales, nous avons mesuré à l'aide de la technique de *patch clamp* le courant calcique de type L en présence de 2 μM de nifédipine. Un courant résiduel est activé ($-2,7 \pm 0,7$ pA/pF, $n = 6$) dans la même gamme de potentiels que le type L nifédipine sensible ($-2,1 \pm 0,4$ pA/pF, $n = 6$) mais avec un déplacement de la courbe d'inactivation de -10 mV. De plus il est complètement bloqué par 500 μM de chlorure de cadmium et sa densité est significativement augmentée par l'isoprotérénol à 1 μM ($-7,5 \pm 0,5$ pA/pF, $n = 6$; $p < 0,01$). Ces résultats mettent en évidence que le courant calcique nifédipine-résistant, similaire à celui qui a été exprimé dans les cardiomyocytes ventriculaires de rat, existe dans les cellules atriales humaines. Son identité moléculaire, son niveau d'expression, ainsi que son rôle dans les conditions physiopathologiques restent à élucider.

ABSTRACT : In the heart, two types of calcium currents were described, the L- and T-type. In addition to these two types, a dihydropyridine-resistant Ca^{2+} component has been described to be up-regulated in rat ventricular cardiomyocytes during their differentiation-dedifferentiation process. The aim of our study is to examine if such calcium current component is present in human cardiomyocytes.

The patch clamp technique was used to record Ca^{2+} current in atrial cells. In the presence of 2 μM nifedipine, residual current was activated (-2.7 ± 0.7 pA/pF, $n = 6$) in the same voltage range as the L-type, nifedipine-sensitive Ca^{2+} current (-2.1 ± 0.4 pA/pF, $n = 6$), but its steady-state inactivation was negatively shifted by 10 mV. This nifedipine-resistant Ca^{2+} current was completely blocked by 500 μM cadmium chloride and significantly enhanced by 1 μM isoproterenol (-7.5 ± 0.5 pA/pF, $n = 6$; $p < 0.01$).

These results give evidence that a nifedipine-resistant Ca^{2+} current, similar to the one which has been shown to be developmentally expressed in rat ventricular cardiomyocytes, is observed in human atrial cells. Its molecular identity, its expression level as well as its role in pathophysiological conditions remain to be studied.

INTRODUCTION

Dans le tissu cardiaque, l'entrée principale du calcium extracellulaire, impliqué dans la signalisation et les fonctions cellulaires, se fait via des canaux calciques voltages dépendants. Les propriétés électrophysiologiques et pharmacologiques de ces canaux ont été bien décrits [1-3].

Les études biochimiques et moléculaires ont permis d'établir la structure de ces canaux comme étant formés de plusieurs sous-unités. La sous-unité 1, étant le pore conducteur, se trouve associée aux sous-unités 2, 3, 4, et 5, sous-unités régulatrices. Dans le cœur des mammifères, deux types de courants calciques ont été rapportés montrant une distribution cellulaire spécifique : (i) Le courant calcique à bas seuil d'activation ou de type T ($I_{\text{Ca-T}}$), exprimé dans le système de conduction cardiaque, dans le pacemaker ainsi que dans les cellules atriales. Il a également été mis en évidence dans les cardiomyocytes ventriculaires de rat au stade fœtal et néonatal, pour disparaître au cours du développement postnatal [4]. $I_{\text{Ca-T}}$ a été de même observé dans les cellules cardiaques hypertrophiées [5] et les cellules ventriculaires adultes dédifférenciées en culture primaire [6-7]. (ii) Le courant calcique à haut seuil d'activation ou de type L ($I_{\text{Ca-L}}$), observé dans toutes les cellules cardiaques

1. Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine - Université Saint-Joseph (FM - USJ), Beyrouth, Liban.

2. Laboratoire de Recherche en Sciences chirurgicales, FM - USJ.

3. CHU - Jean Bernard, Poitiers, France.

4. Laboratoire de Physiologie et Physiopathologie cardiaques, PBS CNRS UMR 6187, Poitiers, France.

Correspondance : Docteur Nassim Farès, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph, Rue de Damas, BP. 11-5076, Riad el-Solh, Beyrouth 1107 2180, Liban.

Tél. : +961 1 421 000 ext. 2124

Fax : +961 1 421 023

e-mail : nassim.fares@usj.edu.lb

indépendamment de leur stade du développement. Sa sensibilité aux dihydropyridines (DHPs), marqueurs pharmacologiques, a été utilisée pour caractériser sa structure moléculaire et pour cloner les gènes codant pour ses composantes protéiques multimériques [8]. En plus de ces deux types de courants calciques, une troisième composante calcique dihydropyridine résistante avec des propriétés électrophysiologiques différentes de celles de I_{Ca-L} et de I_{Ca-T} a été récemment décrite dans les myocytes ventriculaires néonataux de rat mais reste absente dans les myocytes adultes [9]. Toutefois, cette composante s'est avérée être réexprimée lors de la différenciation des cardiomyocytes adultes en culture [10] suggérant ainsi qu'une telle réexpression pourrait se produire dans les situations physiopathologiques telles que les cardiopathies chroniques, et pourrait être impliquée dans la pathogénèse.

L'objectif de notre étude est de rechercher la présence d'une telle composante calcique dans les cardiomyocytes atriaux humains isolés de l'auricule droit lors de la mise en place de la circulation extracorporelle afin d'apporter des éléments supplémentaires à la compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans le développement des maladies cardiaques chroniques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dissociation cellulaire

Les myocytes atriaux ont été isolés enzymatiquement selon le protocole décrit par Hatem et al., 1997 [11], à partir de tissus de l'appendice auriculaire de six patients (paramètres cliniques inaccessibles) opérés dans les services de chirurgie cardio-thoracique (CHU Hôtel-Dieu de France, Liban) lors de la mise en place de la circulation extracorporelle. Toutes les solutions physiologiques utilisées durant tout le processus de dissociation cellulaire jusqu'à l'obtention de cellules auriculaires isolées prêtes pour les mesures électrophysiologiques sont bullées avec un mélange d'air (95% O_2 et 5% CO_2).

Mesures électrophysiologiques

Toutes les expériences ont été réalisées en conditions de voltage imposé à température ambiante ($20 \pm 2^\circ C$) à l'aide de la technique de *patch clamp* utilisant la configuration cellule entière [12].

Les micropipettes (2 à 4 M Ω) ont été préparées sur une étireuse verticale à double chauffage (PP830, Narishige), et reliées à la tête d'un amplificateur (Axopatch 200B, Axon instrument, USA), et conduit par un PC-compatible à un micro-ordinateur par l'intermédiaire d'un panneau de conversion A/D-D/A (Labmaster TM-40 ; Solon-USA). Le potentiel membranaire, l'acquisition de données, ainsi que l'analyse des résultats ont été effectués à l'aide du logiciel P-Clamp (version 6 ; Axon Instruments, Foster City, CA-USA). La capacité membranaire a été estimée à partir d'un protocole de dépolarisation de -10 mV (durée de 10 msec) et un potentiel de repos de -90 mV. Aucune correction de la résistance en

série ou de la capacité membranaire n'a été effectuée.

Les courants calciques ont été enregistrés en utilisant un protocole de double pulse afin de tracer les courbes courant-tension (I-V) et les courbes d'activation et d'inactivation à l'état stable. En effet, à partir d'un potentiel de repos de -80 mV, des pulses de dépolarisation croissants (par incréments de +10 mV, i.e. le pulse conditionnel) d'une durée d'une seconde sont appliqués, suivis d'un retour à -80 mV pendant 5 millisecondes, et par un pulse-test dépolarisant d'une seconde au potentiel de 0 mV, valeur pour laquelle le maximum de I_{Ca-L} est obtenu. Les amplitudes des pics de courant pour les courbes (I-V) et les courbes d'activation à l'état stable ont été mesurées à partir des pulses conditionnels. Les courbes d'inactivation à l'état stable ont été tracées à partir du courant normalisé enregistré pendant les pulses-tests. Les données des courbes d'activation et d'inactivation ont été fittées à l'aide de l'équation de Boltzmann :

$$I/I_{max} = \{1 + \exp [(V_m - V_{0,5})/k]\}^{-1}$$

où I/I_{max} est le courant relatif, $V_{0,5}$ est la moitié du voltage maximum de la courbe d'activation ou d'inactivation, et k est la pente.

Solutions

La solution de Tyrode contient (en mM) : NaCl 140, KCl 5,4, $CaCl_2$ 1,8, $MgCl_2$ 1,8, HEPES 10 et D-glucose 10, à pH 7,4 avec du NaOH.

Les courants calciques ont été enregistrés dans une solution externe, dépourvue de Na^+ et de K^+ , contenant (en mM) : N-méthyl-D-glucamine (NMG) 130, tétraéthylammonium-Cl (TEACl) 20, $CaCl_2$ 1,8, $MgCl_2$ 2, HEPES 10, et D-glucose 10, à pH 7,4 avec du HCl.

15 μM de tétrodotoxine (TTX, Sigma), ont été rajoutés à la solution de Tyrode avant les expériences en voltage-imposé.

La solution intrapipette, dans laquelle les ions de potassium ont été également omis, contient (en mM) : CsCl 110, TEACl 20, MgATP 5, NaGTP 0,3, Na_2ATP 2, Na_2 phosphocréatine 5, EGTA 10, et HEPES 5, à pH 7,2 avec du TRIS.

La nifédipine (Sigma) a été dissoute dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO) pour former une solution mère de 10^{-3} M. L'isoprotérénol (Sigma) a été dissoute dans du Tyrode additionnée d'acide ascorbique pour former une solution mère de 10^{-3} M. Une solution mère à 10^{-3} M de chlorure de cadmium (Sigma) a été également préparée diluée dans du Tyrode. Une fois utilisées, toutes ces drogues ont été rajoutées à la solution testée à la concentration finale désirée.

Toutes les solutions physiologiques de perfusion utilisées dans les mesures électrophysiologiques sont bullées avec un mélange d'air (95% O_2 et 5% CO_2).

Analyse statistique

Les données sont exprimées en valeurs moyennées \pm SEM, et les comparaisons entre les moyennes ont été effectuées en utilisant le test de Student (t-test).

$P < 0,01$ est considéré statistiquement significatif.

RÉSULTATS

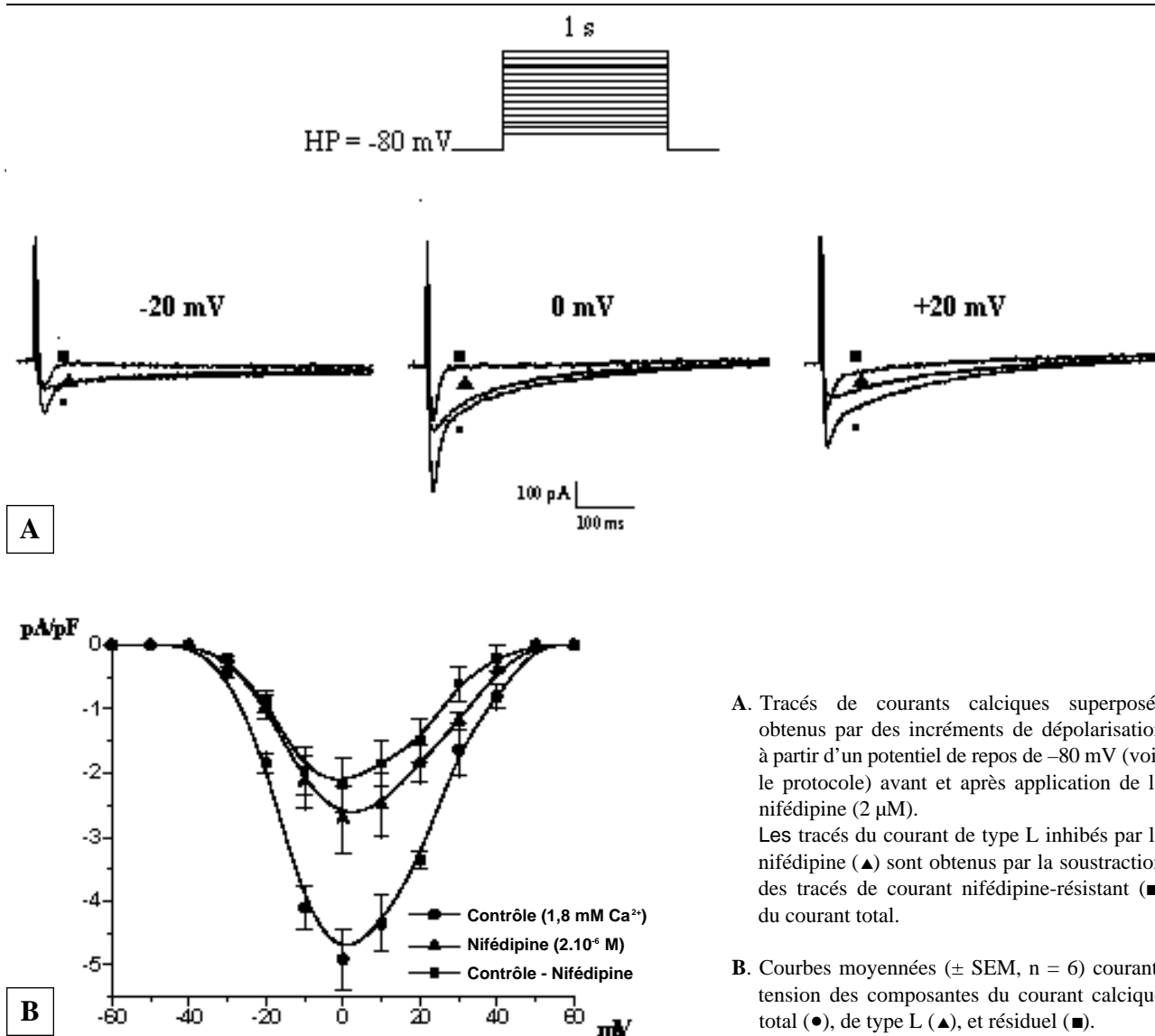
Mise en évidence du courant calcique nifédipine-résistant dans les cellules atriales humaines

La figure 1 montre les tracés de courants calciques obtenus en réponse à des dépolarisations, pour des incréments de +10 mV, à partir d'un potentiel de repos (HP) de -80 mV. Les courbes I-V (Fig. 2A) tracées à partir des courants enregistrés montrent que les courants calciques en configuration cellule entière présentent les mêmes propriétés électrophysiologiques que I_{Ca-L} avec des valeurs de potentiels de -40, 0 et +50 mV pour le seuil d'activation, le pic, et le potentiel d'inversion du courant, respectivement. L'application de 2 μ M de nifédipine, inhibiteur puissant de I_{Ca-L} , n'a pas cependant complète-

ment bloqué le courant calcique (Fig. 1B). Le pic du courant résiduel à 0 mV (Fig. 1B) représente $55,4 \pm 10,6$ % de la densité du courant calcique total ($-2,7 \pm 0,7$ vs $-4,9 \pm 0,4$ pA/pF, $p < 0,01$; $n = 6$ cellules). Dans ces conditions expérimentales, la densité de I_{Ca-L} bloquée par la nifédipine (mesurée par la soustraction du courant résiduel calcique du courant calcique total) est de $-2,1 \pm 0,4$ pA/pF ($n = 6$ cellules).

Caractérisation du courant calcique nifédipine-résistant

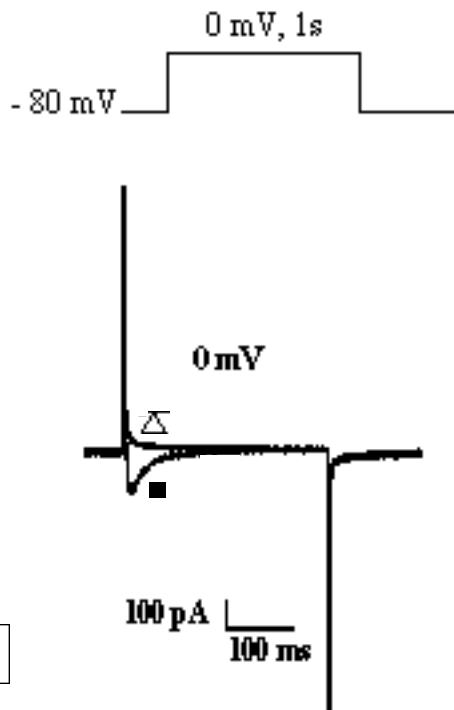
La figure 2 montre la disponibilité de I_{Ca-L} nifédipine-sensible et du courant calcique nifédipine-résistant (I_{Ca-NR}). Les paramètres d'activation de ces deux composantes sont comparables entre eux (Tableau I). Cependant, les paramètres d'inactivation de I_{Ca-NR} ($V_{0,5} = -34,5 \pm 0,5$ mV,



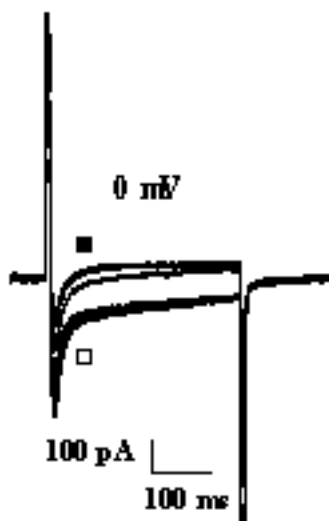
A. Tracés de courants calciques superposés obtenus par des incréments de dépolarisation à partir d'un potentiel de repos de -80 mV (voir le protocole) avant et après application de la nifédipine (2 μ M).
Les tracés du courant de type L inhibés par la nifédipine (\blacktriangle) sont obtenus par la soustraction des tracés de courant nifédipine-résistant (\blacksquare) du courant total.

B. Courbes moyennées (\pm SEM, $n = 6$) courants-tension des composantes du courant calcique total (\bullet), de type L (\blacktriangle), et résiduel (\blacksquare).

FIGURE 1



A



B

- A. Effets des inhibiteurs du courant calcique sur le courant calcique NR (■). Effets du cadmium (500 μ M, Δ) obtenu par le protocole de voltage imposé indiqué en dessus.
- B. Effets de l'isoprotérénol sur le courant NR. Tracés de courant de type-NR mesuré à 0 mV (■) et en présence de 1 μ M isoprotérénol + 2 μ M nifédipine (\square)

FIGURE 2

TABLEAU I
PARAMÈTRES D'ACTIVATION ET D'INACTIVATION
À L'ÉTAT STABLE DES COURANTS CALCQUES
NIFÉDIPINE-SENSIBLE TYPE L (I_{Ca-L})
ET NIFÉDIPINE-RÉSISTANT (I_{Ca-NR})*

	ACTIVATION		INACTIVATION	
	$V_{0,5}$ (mV)	k	$V_{0,5}$ (mV)	k
L-type	$-10,5 \pm 0,3$	$-7,2 \pm 0,2$	$-24,5 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,2$
NR-type	$-12,9 \pm 0,5$	$-6,5 \pm 0,4$	$-34,5 \pm 0,5$	$6,8 \pm 0,3$

*Les données sont fittées avec une fonction Boltzmann simple.
Les valeurs sont moyennées \pm SEM (n = 6 cellules).

$k = 6,8 \pm 0,3$, n = 6 cellules) obtenus en utilisant le protocole de double pulse illustré en haut de la figure 2, montre un déplacement de 10 mV vers des potentiels plus négatifs que ceux pour I_{Ca-L} ($V_{0,5} = -24,5 \pm 0,2$ mV, $k = 5,3 \pm 0,2$, n = 6 cellules).

La figure 2A montre les effets du chlorure de cadmium ($CdCl_2$) sur le pic du courant calcique nifédipine-résistant. En effet, l'ajout de 500 μ M de $CdCl_2$ montre un blocage total du courant.

De plus, l'ajout d'1 μ M d'isoprotérénol augmente significativement I_{Ca-NR} ($-7,5 \pm 0,5$ pA/pF, n = 6 ; $p < 0,01$) (Figure 2B).

DISCUSSION

Dans cette étude, nous mettons en évidence l'expression d'un courant calcique nifédipine-résistant (I_{Ca-NR}) dans les cellules atriales humaines. La nature exacte des canaux soutenant ce courant n'est pas encore connue et exige de nombreux travaux expérimentaux. Les résultats rapportés dans ce travail plaident pour une isoforme du canal différente de celles déjà décrites dans les myocytes cardiaques. L'évidence première sur la présence de I_{Ca-NR} dans les cardiomyocytes atriaux humains est révélée par application de 2 μ M de nifédipine dans le milieu extracellulaire ; bien qu'à cette concentration le courant calcique de type L devrait être bloqué complètement dans les cellules cardiaques (Pignier et al., 2002) [10], nous avons toutefois toujours environ 55% du courant calcique non inhibé. L'analyse des courbes I-V montre que ce I_{Ca-NR} est activé dans une gamme de potentiels identique à celle observée pour I_{Ca-L} , avec un $V_{0,5}$ décalé vers des potentiels plus négatifs (Tableau I). D'après ces résultats, l'hypothèse que ce courant pourrait être de type T peut être alors écartée. En outre, l'absence d'un effet de la TTX nous permet d'exclure l'hypothèse d'une éventuelle contribution à ce courant calcique résiduel, le courant calcique de type N ou encore le passage de calcium par les canaux sodiques TTX-sensibles.

De plus, tenant compte des courbes I-V et de la sensibilité des canaux calciques aux processus de phosphorylation (Fig. 2B), le courant I_{Ca-NR} présente le même comportement que I_{Ca-L} en réponse à l'isoprotérénol. En recoupant tous ces faits expérimentaux, nous pouvons postuler que

I_{Ca-NR} pourrait être une autre composante du courant calcique et probablement un isotype de I_{Ca-L} .

Les études de génétique moléculaire ont décrit la diversité ainsi que les déterminants des propriétés des canaux calciques [13-15]. La perméabilité aux cations et la sensibilité aux drogues reviennent à la sous-unité α_1 , le pore conducteur du canal alors que l'amplitude du courant et la porte du canal sont principalement régulées par les sous-unités α_2 , α_3 et α_4 . La sensibilité aux DHPs des canaux calciques de type L [14] ainsi que leur disponibilité en fonction du potentiel [16] dépendent de la sous-unité α_1 . Si le canal calcique nifédipine-résistant est une isoforme du canal calcique de type L, nous pouvons spéculer qu'il pourrait résulter de l'expression d'un épissage alternatif de la sous-unité α_1 ou des sous-unités auxiliaires ; une notion que nous ne pouvons pas exclure [17]. Pour démontrer ces hypothèses, l'étude électrophysiologique du canal à l'échelle unitaire ainsi qu'une approche moléculaire seront nécessaires.

D'un autre côté, nous avons mis en évidence, dans des études ultérieures, la présence de I_{Ca-NR} , dans les cardiomyocytes ventriculaires de rats au stade néonatal mais qui serait absente au stade adulte, et qui pourrait être réexprimé une fois que les cellules cardiaques adultes se différencient en culture primaire suggérant une régulation potentielle des canaux de type-NR lors du développement normal et pathologique [10]. De même, d'autres auteurs ainsi que nous-mêmes avons également analysé et décrit la plasticité phénotypique des cellules ventriculaires à passer d'un phénotype normal à un phénotype fœtal dans certaines conditions spécifiques [6, 18]. De plus, il est actuellement connu que plusieurs composantes ioniques peuvent être la cible de régulation de niveau d'expression dans certaines circonstances pathologiques ou au cours du processus de vieillissement, telles : augmentation du courant potassique transitoire sortant dans les myocytes atriaux humains au cours du développement [19] et sa diminution dans les myocytes ventriculaires de patients présentant une insuffisance cardiaque [20] ; augmentation de la densité du canal calcique de type L au cours du développement cardiaque postnatal [21] sans manifester des changements notables au cours du vieillissement [4] ou dans certaines conditions pathologiques [22]. Enfin, comme il a été mentionné plus haut, la sous-unité α_1 semble être régulée au cours du développement [23] et l'isoforme foetal semble être réexprimé dans le myocarde de rat non nécrosé pendant le remodelage du ventricule gauche [24].

Ces résultats démontrent donc clairement la présence d'une composante calcique nifédipine-résistante dans les cellules atriales humaines semblable à celle présente au cours du développement postnatal et du processus de différenciation des cellules cardiaques.

CONCLUSION

Bien que la fonctionnalité exacte de ces canaux et l'identification de leur structure restent à élucider, l'évidence de la régulation de leur expression au cours du

développement semble être bien établie. Les résultats dans le présent travail sont conformes aux données de la littérature et plaident en faveur de la capacité des cellules atriales humaines à exprimer le courant calcique de type-NR et qu'une telle expression pourrait se produire dans les maladies cardiaques chroniques et, par conséquent, pourrait être impliquée dans certains processus physiopathologiques comme par exemple la sécrétion de certaines hormones cardiaques (facteur atrial natriurétique) à l'égard du courant calcique de type T [25].

REMERCIEMENTS

Nous remercions le conseil de recherche de l'Université Saint-Joseph ainsi que le conseil de recherche du programme CEDRE pour le soutien financier qui a permis de réaliser le présent travail.

RÉFÉRENCES

1. Glossmann H, Striessnig J. Molecular properties of calcium channels. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990 ; 114 : 1-105.
2. Krizanova O. Structural implications in the function of L-type voltage-dependent calcium channels. *Gen Physiol Biophys* 1996 ; 15 : 79-87.
3. McDonald T, Pelzer S, Trautwein W, Pelzer DJ. Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal, and smooth muscle cells. *Physiol Rev* 1994 ; 74 : 365-507.
4. Zhou YY, Lakatta EG, Xiao RP. Age-associated alternations in calcium current and its modulation in cardiac myocytes. *Drug and Aging* 1998 ; 13 : 159-71.
5. Boyden PA, Jeek CD. Ion channel function in disease. *Cardiovasc Res* 1995 ; 29 : 312-18.
6. Farès N, Gomez JP, Potreau D. T-type calcium current is expressed in dedifferentiated adult rat ventricular cells in primary culture. *C R Acad Sci III* 1996 ; 319 : 569-76.
7. Guo W, Kamiya K, Kodama I, Toyama J. Cell-cycle related changes in the voltage-gated Ca^{2+} currents from newborn rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1998 ; 30 : 1095-103.
8. Bers D, Perez-Reyes E. Ca channels in cardiac myocytes structure and function in Ca influx and intracellular Ca release. *Cardiovasc Res* 1999 ; 42 : 339-60.
9. Pignier C, Potreau D. Characterization of a nifedipine-resistant calcium current in neonatal rat ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol* 2000 ; 279 : 2259-68.
10. Pignier C, Ancey C, Farès N, Bescond J, Potreau D. Reexpression of the nifedipine-resistant calcium channel during dedifferentiation of adult rat ventricular cardiomyocytes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2002 ; 13 : 178-83.
11. Hatem SN, Berrardeau A, Rucker-Martin C et al. Different compartments of sarcoplasmic reticulum participate in the excitation-contraction coupling process in human atrial myocytes. *Circ Res* 1997 ; 80 : 345-53.
12. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch Eur J Physiol* 1981 ; 391 : 85-100.
13. Varadi G, Mori Y, Mikala G, Schwartz A. Molecular

- determinants of Ca²⁺ channel function and drug action. Trends Physiol Sci 1995 ; 16 : 43-9.
14. Welling A, Ludwig A, Zimmer S, Klughauer N, Flockerzi V, Hofmann F. Alternatively spliced IS6 segments of the α_1C gene determine the tissue-specific dihydropyridine sensitivity of cardiac and vascular smooth muscle L-type Ca²⁺ channels. Circ Res 1997 ; 81 : 526-32.
 15. Cory P, Nargeot J. Diversité génétique des canaux calciques activés par la dépolarisation membranaire. Rev Neurol (Paris) 2004 ; 160 : 5 pt 2, 7-15.
 16. Soldatov NM, Zuhlke RD, Bouron A, Reuter H. Molecular structures involved in L-type calcium channel inactivation. Role of the carboxyl-terminal region encoded by exons 40-42 in α_1C -subunit in the kinetics and Ca²⁺ dependence of inactivation. J Biol Chem 1997 ; 272 : 3560-6.
 17. Cens T, Restituito S, Galas S, Charnet P. Voltage and calcium use the same molecular determinants to inactivate calcium channels. J Biol Chem 1999 ; 274 : 5483-90.
 18. Farès N, Bois P, Lenfant J, Potreau D. Characterization of a hyperpolarization-activated current in dedifferentiated adult rat ventricular cells in primary culture. J Physiol (Lond) 1998 ; 506 : 73-82.
 19. Crumb WJ, Pigott JD, Clarkson CW. Comparison of I_{to} in young and adult human atrial myocytes : Evidence for developmental changes. Am J Physiol 1995 ; 268 : H1335- H1342.
 20. Näbauer M, Beuckelman DJ, Erdman E. Characteristics of transient outward current in human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. Circ Res 1993 ; 73 : 386-94.
 21. Gomez JP, Potreau D, Branka JE, Raymond G. Developmental changes in Ca²⁺ currents from newborn rat cardiomyocytes in primary culture. Pflügers Arch 1994 ; 428 : 241-9.
 22. Richard S, Leclercq F, Lemaire S, Piot C, Nargeot J. Ca currents in compensated hypertrophy and heart failure. Cardiovasc Res 1998 ; 37 : 300-10.
 23. Diebold RJ, Koch WJ, Ellinor PT et al. Mutually exclusive exon splicing of the cardiac calcium channel α_1 subunit gene generates developmentally regulated isoforms in the rat heart. Proc Natl Acad Sci USA 1992 ; 89 : 1497-501.
 24. Gigh-Jain M, Huang B, Jain P, Battula V, El-Sherif N. Reemergence of the fetal pattern of L-type calcium channel gene expression in non infarcted myocardium during left ventricular remodeling. Biochem Biophys Res Commun 1995 ; 216 : 892-7.
 25. Leuranguer V, Monteil A, Bourinet E, Dayanithi G, Nargeot J. T-type calcium currents in rat cardiomyocytes during postnatal development : contribution to hormone secretion. Am J Physiol 2000 ; 279 : H2540-H2548.

توضيح لاصطلاح التيار الكلسي نمط L مقاوم للنيفيديين لخلايا عضلة القلب للاذنيات البشرية

موجز : في القلب تياران كلسيان تم وصفهما L و T. ومع ذلك فان مركبا كلسيا مقاوما لديهدروبيريدين توضح في خلايا القلب لبطينات الجرذان ودلائلها منظمة اثناء سياق التغيير التمايزي للخلايا القلبية. غاية هذه الدراسة البحث عن وجود المركب في الخلايا القلبية البشرية للخلايا الاذنية، وأجرينا القياس بتقنية التيار الكلسي نمط L بوجود ٢ ميكرو M نيفيديين، تيار متبقي منشط (-2.7 ± 0.7 pA/pF, n=6) في نفس سلسلة الكمون كنمط L الحساس للنيفيديين (-2.1 ± 0.4 pA/pF, n=6) ولكن بانتقال الخط البياني لعدم نشاط -10mV. علاوة على ذلك فإنه ينحصر M بفضل ٥٠٠ ميكرو M من كلورور الكادميوم وكثافته مزداة بوضوح بفضل ايزو بروتيرينول ميكرو واحد (-7.5 ± 0.5 pA/pF, n=6) احتمال أقل من ٠,٠١. هذه النتائج توضح ان التيار الكلسي المقاوم للنيفيديين مشابه للذي ظهر في الخلايا القلبية لبطين الجرذ وهو موجود في الخلايا الاذنية البشرية. هويته الجزيئية ومستوى تعبيره وشروطه في الفيزيولوجيا المرضية يجب ان توضح.