

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du

**Département de physiologie dirigé par le Professeur Rémi NEVIÈRE – EA 4484 –
« Signaux de mort cellulaire, métabolisme mitochondrial et dysfonction myocardique ».**

Je tiens à remercier très sincèrement

Le Professeur Rémi Nevière pour m'avoir guidé tout au long de ce travail de thèse. Un grand merci pour ta patience et tes remarques lumineuses qui ont orienté mes recherches.

Le Professeur Fabienne Saulnier pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail et pour avoir accepté de présider le Jury de cette thèse. Un grand merci pour ton enseignement clinique rigoureux et ta supervision bienveillante.

Les rapporteurs de cette thèse, les Professeurs Fabienne Tamion et Vladimir Veksler, pour avoir accepté d'expertiser ce travail.

Les Professeurs Daniel Mathieu et Jean-Paul Mira pour avoir accepté de juger ce travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME	6
ABSTRACT	7
LISTE DES ABREVIATIONS	8
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES TABLEAUX	12
INTRODUCTION	13
I. STRUCTURE ET ORGANISATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOMYOCYTES.	19
I.1. Structure et organisation des microfilaments dans les cardiomyocytes.	19
I.1.a. Structure et organisation générale des microfilaments.	19
I.1.b. Organisation des microfilaments dans les cardiomyocytes.	24
I.2. Structure et organisation des microtubules dans les cardiomyocytes.	27
I.2.a. Structure et organisation générale des microtubules.	27
I.2.b. Organisation des microtubules dans les cardiomyocytes.	30
I.3. Structure et organisation des filaments intermédiaires dans les cardiomyocytes.	32
I.3.a. Structure et organisation générale des filaments intermédiaires.	32
I.3.b. Organisation des filaments intermédiaires dans les cardiomyocytes.	35
II. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LA PHYSIOLOGIE DU MYOCARDE.	38
II.1. Organisation et fonction des myofilaments.	39
II.2. Systèmes de mécanotransmission intramyofibrillaire.	46
II.3. Systèmes de mécanotransmission extramyofibrillaire.	50
II.4. Implication du cytosquelette dans le couplage excitation-contraction-respiration des cardiomyocytes.	58
II.4.a. Implication du cytosquelette dans le couplage excitation-contraction.	58
II.4.b. Implication du cytosquelette dans la respiration mitochondriale et la production énergétique.	64
II.4.c. Implication du cytosquelette dans le couplage excitation-respiration.	67
II.5. Systèmes de nettoyage et de recyclage du cytosquelette dans les cardiomyocytes.	72

III. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES DYSFONCTIONS MYOCARDIQUES.	75
III.1. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies primitives.	76
III.1.a. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies hypertrophiques.	76
III.1.b. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies dilatées.	78
III.2. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies ischémiques.	82
III.2.a. Implication du cytosquelette dans l'ischémie-reperfusion myocardique.	83
III.2.b. Implication du cytosquelette dans la dysfonction myocardique post-infarctus.	85
III.3. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies par surcharge barométrique.	88
III.4. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies par surcharge volumétrique.	92
III.5. Implication du cytosquelette dans la cardiomyopathie septique.	95
OBJECTIFS DU TRAVAIL	99
RESULTATS	101
Article 1	102
Résultats non publiés	103
DISCUSSION	104
I. IMPLICATION DES MICROTUBULES DANS LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE.	105
II. IMPLICATION DES MICROFILAMENTS DANS LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE.	108
CONCLUSIONS	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	114

RESUME

Le cytosquelette se compose de microfilaments (polymères d'actine), de microtubules (polymères de tubuline) et de filaments intermédiaires (polymères de desmine, de lamines ...). Le sepsis, défini par une infection associée à une réaction inflammatoire systémique est responsable d'une dysfonction myocardique de mauvais pronostic. Cette cardiomyopathie apparaît dans les premières heures du sepsis et guérit en moins de deux semaines chez les survivants. Même si certaines études démontrent l'implication d'éléments du cytosquelette dans la cardiomyopathie septique, les rôles des microfilaments et des microtubules ne sont pas clairement établis.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) est une cytokine pro-inflammatoire sécrétée en excès dans le sepsis qui serait responsable d'un ralentissement de la récupération myocardique. Dans un premier temps, notre travail a consisté à caractériser l'implication des microtubules dans la dysfonction musculaire cardiaque induite par MIF. Dans un modèle de trabécules auriculaires droites humaines nous avons démontré que MIF induit une hyperpolymérisation des microtubules responsable d'une hyperviscosité intracellulaire, d'une dysfonction mitochondriale et d'une dysfonction contractile. Nos résultats suggèrent qu'une hyperpolymérisation des microtubules induite par MIF pourrait être responsable d'un ralentissement de la récupération myocardique à la phase tardive de la cardiomyopathie septique.

Dans un second temps, nous avons évalué l'implication des microfilaments dans un modèle murin de dysfonction myocardique inflammatoire induite par l'injection d'une endotoxine bactérienne, le lipopolysaccharide. Nos résultats suggèrent qu'à la phase précoce de la cardiomyopathie inflammatoire il existe une hyperpolymérisation des microfilaments responsable de dysfonctions contractile et mitochondriale.

Les connaissances fondamentales acquises au cours de ce travail de thèse suggèrent une implication directe des microtubules et des microfilaments dans la physiopathologie des cardiomyopathies inflammatoires.

ABSTRACT

The cytoskeleton is composed of intracellular microfilaments (actin polymers), microtubules (tubulin polymers) and intermediate filaments (desmin, lamin ... polymers). Sepsis, the association of infection and systemic inflammatory response, induces myocardial dysfunction. Septic cardiomyopathy appears in the early phase of sepsis and is associated with fatal outcome. Complete recovery of myocardial function occurs within two weeks following the onset of myocardial dysfunction in surviving patients. Although several studies demonstrated a role of cytoskeleton in septic cardiomyopathy, the implication of microfilaments and microtubules is not clear.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a pro-inflammatory cytokine secreted during sepsis that is suggested to postpone myocardium recovery. The first aim of the study was to characterize microtubule implications in MIF-induced cardiac muscle dysfunction. In a model of human right atrial trabecule we demonstrated that MIF induces microtubule stabilizations which is responsible for high intracellular viscosity, contractile and mitochondria dysfunctions. Our results suggest that MIF-induced microtubule stabilizations might be responsible for a delay of myocardial recovery during septic cardiomyopathy.

The second aim of the study was to characterize microfilament implications in a murine inflammatory cardiomyopathy induced by lipopolysaccharid (LPS) injection. Our results suggest that microfilament stabilizations might be responsible for LPS-induced contractile and mitochondria dysfunction in the early phase of inflammatory cardiomyopathy.

Thus, these new fundamental mechanisms suggest direct implication of microtubules and microfilaments in the development and evolution of inflammatory cardiomyopathies.

LISTE DES ABREVIATIONS

Actine F	Actine filamentaire (polymérisée)
Actine G	Actine globulaire (non polymérisée)
ADP	Adénosine di-phosphate
ALP	Actinin-associated LIM protein
ANT	Adenyl-nucleotide transporter
Arp2/3	Actin related protéins 2/3
ATP	Adénosine tri-phosphate
BDM	2,3-butanedione monoxine
BTS	N-benzyl-p-toluene sulphonamide
CPK	Créatine phosphokinase
CPKm	Créatine phosphokinase mitochondriale
CPK-MM	Créatine phosphokinase musculaire cytosolique
DHPR	Dihydropyridin receptor
F1/F0	ATP synthase
FHL-2	4,5 LIM protein-2
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
GTP	Guanosine tri-phosphate
IL1-béta	Interleukine 1-béta
IL6	Interleukine 6
LPS	Lipopolysaccharide
MAP	Microtubule associated proteins
MCU	Mitochondria calcium uniport
MHC	Myosin heavy chain
MIF	Macrophage migration inhibitory factor
MK	Myokinase
MLC	Myosin light chain
MLP	Muscle LIM protein
MyBP-C	Myosin binding protein C
MyBP-M	Myosin binding protein M
NCX	Echangeur sodium/calcium du sarcolemne
NCXm	Echangeur sodium/calcium mitochondrial

NADH	Nicotinamide dinucléotide réduit
Pi	Phosphate inorganique
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PLB	Phospholamban
ROCK	Rho-associated protein kinase
RYR	Ryanodine receptor
SERCA	Sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase
Tubule-T	Tubule transverse
TNF-alpha	tumor necrosis factor-alpha
UPS	Ubiquitin-proteasome system
VDAC	Voltage dependent anion channel

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation schématique des connexions des cardiomyocytes dans le myocarde.	14
Figure 2. Ultrastructure des trois polymères du cytosquelette : les microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires.	15
Figure 3. Représentation schématique du cytosquelette des cardiomyocytes.	17
Figure 4. Costamères de cardiomyocytes ventriculaires de rats.	18
Figure 5. Fixation des myofibrilles aux disques intercalaires dans des cardiomyocytes ventriculaires murins en microscopie électronique.	18
Figure 6. Représentation schématique de l'assemblage et du désassemblage des microfilaments.	20
Figure 7. L'unité contractile des myofibrilles : le sarcomère.	25
Figure 8. Myofilaments de myocarde ventriculaire humain.	26
Figure 9. Isoformes d'actine cytosolique dans des cardiomyocytes ventriculaires de souris.	26
Figure 10. Représentation schématique de la structure et de la dynamique des microtubules.	28
Figure 11. Localisation des isoformes de tubuline bêta dans des cardiomyocytes isolés de ventricules de rats.	31
Figure 12. Représentation schématique de l'assemblage des filaments intermédiaires.	34
Figure 13. Localisation de la desmine dans du myocarde ventriculaire de souris.	36
Figure 14. Lamines A et B2 dans un noyau de cardiomyocyte ventriculaire de souris.	37
Figure 15. Représentation schématique de l'organisation des myofilaments dans un sarcomère.	39
Figure 16. Représentation schématique des protéines de liaison des myofilaments fins d'actine.	41
Figure 17. Représentation schématique de la structure des myofilaments de myosine.	43
Figure 18. Représentation schématique de la principale protéine de liaison des myofilaments épais de myosine : la MyBP-C (Myosin binding protein-C).	44
Figure 19. Représentation schématique du cycle d'interactions actines-myosines dans les myofilaments.	45
Figure 20. Représentation schématique des structures de mécanotransmission intramyofibrillaire : titine, disques Z et M.	47
Figure 21. Représentations schématiques des systèmes de mécanotransmission des disques intercalaires.	52

Figure 22. Représentation schématique des connexions latérales des myofibrilles au niveau du disque Z.	53
Figure 23. Organisation schématique d'un costamère.	54
Figure 24. Organisation schématique d'un complexe de la dystrophine.	55
Figure 25. Organisation schématique d'un complexe d'adhésion focale.	56
Figure 26. Organisation schématique d'un complexe sous membranaire de la spectrine.	56
Figure 27. Représentation schématique d'un complexe de fixation nucléo-cytoplasmique.	57
Figure 28. Zones de contact entre deux tubules-T et le réticulum sarcoplasmique dans l'espace interfibrillaire d'un cardiomyocyte de quadriceps de souris.	59
Figure 29. Schéma général simplifié du couplage excitation-contraction dans un cardiomyocyte.	60
Figure 30. Schéma général de la fixation d'une myofibrille au réticulum sarcoplasmique dans un myocyte squelettique.	63
Figure 31. Mitochondries interfibrillaires au contact des myofilaments, des tubules-T et du réticulum sarcoplasmique dans un cardiomyocyte canin.	64
Figure 32. Représentation schématique de l'acheminement de l'énergie des mitochondries vers les ATPases d'un cardiomyocyte.	65
Figure 33. Zones de contact entre les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique.	68
Figure 34. Représentation schématique des mécanismes du couplage excitation-respiration.	70

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Principales caractéristiques des polymères du cytosquelette.	16
Tableau 2. Isoformes de l'actine.	21
Tableau 3. Principales protéines de liaison de l'actine et leurs fonctions.	24
Tableau 4. Principales protéines de liaison et modifications post-traductionnelles de la tubuline.	30
Tableau 5. Classification des filaments intermédiaires.	33
Tableau 6. Principales protéines de liaison et modifications post-traductionnelles des filaments intermédiaires.	35
Tableau 7. Principales protéines constituant les disques Z et M des myofibrilles.	49
Tableau 8. Implication du cytosquelette dans la régulation du couplage excitation-contraction.	64
Tableau 9. Implication du cytosquelette dans la régulation des mitochondries.	67
Tableau 10. Implication du cytosquelette et de la mitofusine dans le couplage excitation-respiration.	71
Tableau 11. Systèmes de nettoyage et de recyclage du cytosquelette des cardiomyocytes.	74
Tableau 12. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies hypertrophiques.	78
Tableau 13. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies dilatées.	82
Tableau 14. Implication du cytosquelette dans la physiopathologie des lésions d'ischémie-reperfusion.	85
Tableau 15. Implication du cytosquelette des cardiomyocytes dans le remodelage post-infarctus du myocarde.	88
Tableau 16. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies barométriques.	92
Tableau 17. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies volumétriques.	94
Tableau 18. Implication du cytosquelette dans la cardiomyopathie septique.	98

INTRODUCTION

Le cœur se compose de quatre cavités contractiles lui permettant d'éjecter le sang provenant des veines dans les artères. L'organisation anatomique du cœur permet aux cavités droites et gauches de fonctionner de manière synchrone et d'assurer le débit de sang nécessaire à la survie des êtres humains. Le fonctionnement du myocarde ventriculaire détermine en grande partie le volume de sang éjecté à chaque battement : le volume d'éjection systolique. Bien qu'environ 70% des cellules myocardiques soient non musculaires, les cardiomyocytes représentent la grande majorité de la masse du myocarde. Les cardiomyocytes sont connectés entre eux et forment un syncytium électromécanique. Leur membrane cytoplasmique, le sarcolemme, est solidement ancrée aux cardiomyocytes adjacents et à la matrice extracellulaire. Les connexions du sarcolemme longitudinal aux autres cardiomyocytes forment les disques intercalaires. Le sarcolemme latéral est fixé à la matrice extracellulaire. La cohésion de l'ensemble des cardiomyocytes au sein du syncytium assure la transmission intercellulaire des forces mécaniques dans le myocarde. Cette mécanotransmission intercellulaire homogénéise la contraction et la relaxation du myocarde (1) (**Figure 1**).

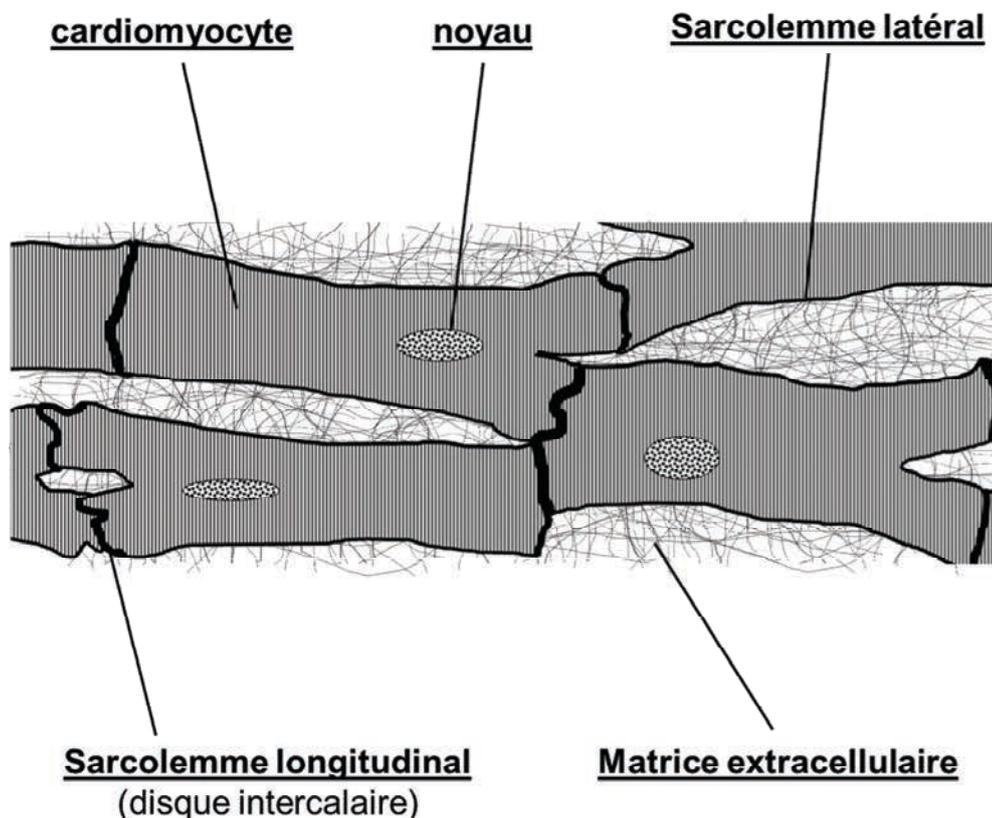


Figure 1. Représentation schématique des connexions des cardiomyocytes dans le myocarde.

Chaque cardiomyocyte se compose de plusieurs domaines structurels et fonctionnels dont les principaux sont : l'appareil contractile, le réticulum sarcoplasmique, les mitochondries, le noyau et le sarcolemme. La cohésion de l'ensemble des structures intracellulaires est assurée par le cytosquelette. Le cytosquelette est constitué de polymères protéiques groupés en faisceaux ou en réseaux qui créent l'armature de la cellule et lui donnent sa forme, sa plasticité et sa mobilité. Le cytosquelette se compose de trois polymères : les microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires (**Figure 2**) (**Tableau 1**).

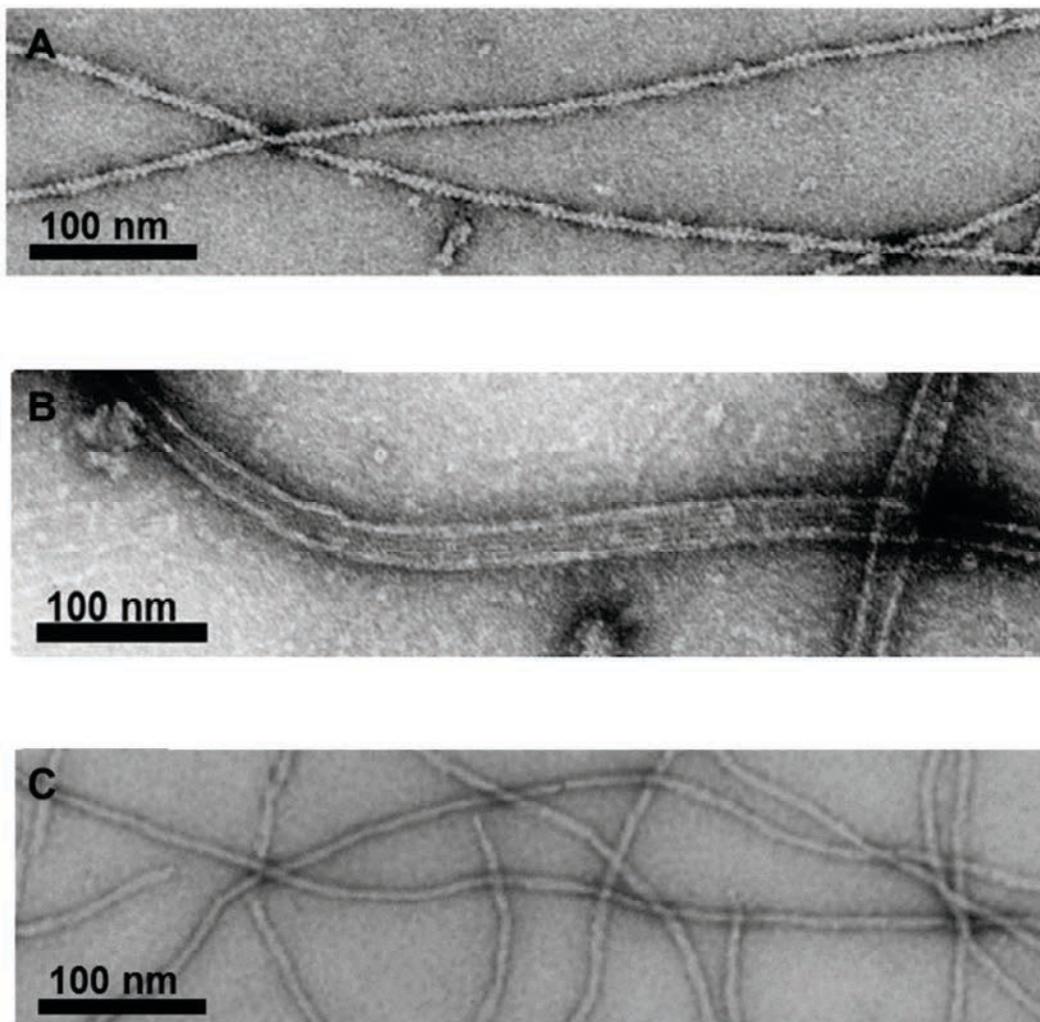


Figure 2. Ultrastructure des trois polymères du cytosquelette : A/ les microfilaments, B/ les microtubules et C/ les filaments intermédiaires. D'après Herrmann et al. (2).

Tableau 1. Principales caractéristiques des polymères du cytosquelette.

Polymères	Monomères	Diamètre	Fixation nucléotidique	Stabilité	Moteurs moléculaires
Microfilaments 	Actine	7-9 nm	ATP	Instables	Myosines
Microtubules 	Tubuline	24-28 nm	GTP	Instables	Kinésines et dynéines
Filaments intermédiaires 	Kératines, desmine, vimentine, lamines ...	10-15 nm	-	Stables	-

Isolément, les 3 principaux constituants du cytosquelette ne peuvent jouer aucun rôle dans la physiologie cellulaire. L'implication du cytosquelette dans les mécanismes de vie cellulaire dépend des protéines de liaisons des polymères. Les protéines de liaison permettent de réguler le niveau de polymérisation des polymères, de réguler leurs fixations aux autres constituants cellulaires et de générer des mouvements. Les protéines de liaison capables de générer des mouvements sont appelées moteurs moléculaires. Les microfilaments, les microtubules, les filaments intermédiaires et les protéines de liaison composent l'ensemble du cytosquelette.

Le cytosquelette est impliqué dans de nombreuses étapes de la vie cellulaire comme la mitose, la méiose, la différenciation et l'apoptose. L'architecture des microdomaines fonctionnels, les voies de signalisation, la synthèse protéique, l'homéostasie et les mouvements cellulaires dépendent également du cytosquelette. Certains éléments du cytosquelette sont situés dans le cytosol et certains dans le noyau. Certains éléments forment des structures cellulaires spécialisées comme les pseudopodes, les cils ou les flagelles et participent à la différenciation cellulaire (3).

L'appareil contractile d'un cardiomyocyte occupe 50% du volume intracellulaire et se compose de structures longitudinales agencées en parallèle, les myofibrilles. Les myofibrilles sont des structures spécialisées du cytosquelette cytoplasmique qui génèrent les contractions répétées des cardiomyocytes. Les myofibrilles sont constituées de filaments spécialisés d'actine et de

myosine associés à d'autres protéines de liaison. Les myofibrilles sont organisées en fagots ou en faisceaux dans les cardiomyocytes (**Figure 3**).

Le cytosquelette cytosolique extramyofibrillaire et le cytosquelette nucléaire assurent la mécano-transmission intracellulaire, la transformation des contraintes mécaniques en signaux chimiques (mécanotransduction) et le maintien de l'architecture cellulaire malgré les contraintes physiques extrêmes induites par les contractions (mécano-protection). Le cytosquelette cytosolique des cardiomyocytes est constitué de microfilaments, de microtubules, de filaments intermédiaires et de très nombreuses protéines de liaison. Les filaments intermédiaires de lamine et leurs protéines associées forment le cytosquelette nucléaire (1) (**Figure 3**).

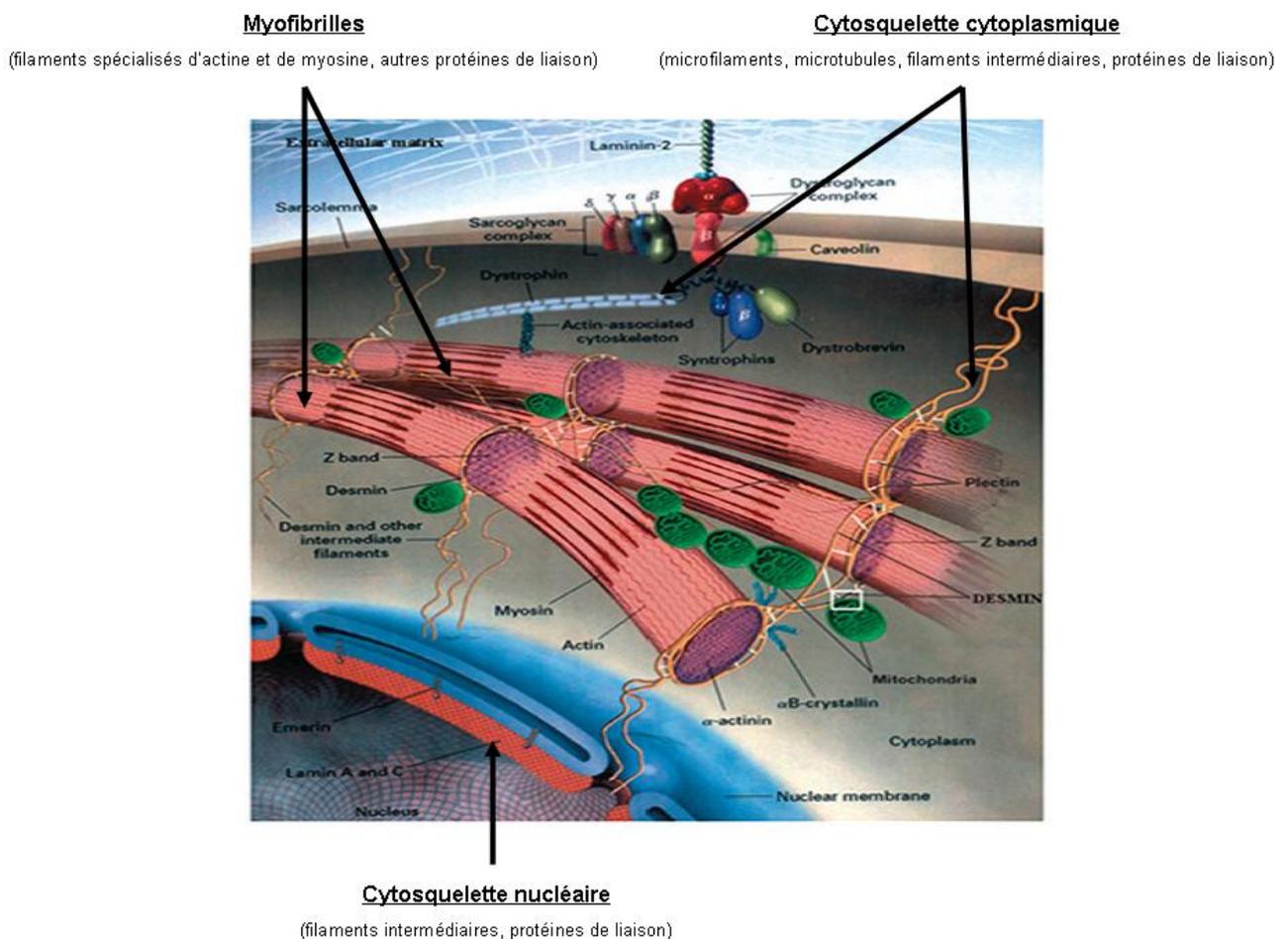


Figure 3. Représentation schématique du cytosquelette des cardiomyocytes. D'après Capetanaki et al. (4).

Les costamères sont des structures spécialisées du cytosquelette cytosolique des cardiomyocytes qui prennent l'apparence d'un grill costal en microscopie photonique et qui fixent les myofibrilles au sarcolemme latéral (**Figure 4**). Inversement, les extrémités longitudinales des myofibrilles se fixent directement aux disques intercalaires sur le sarcolemme longitudinal des cardiomyocytes (**Figure 5**).

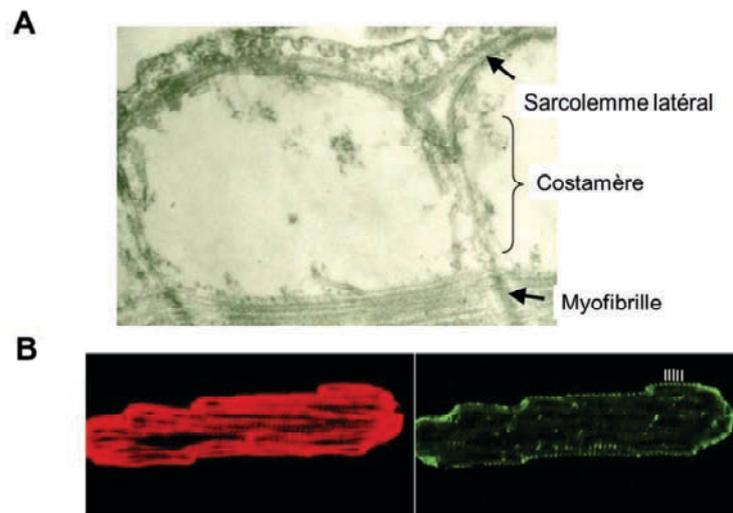


Figure 4. Costamères de cardiomyocytes ventriculaires de rats. A/ Amarrage d'une myofibrille au sarcolemme latéral par un costamère en microscopie électronique. B/ Myofibrilles (Rouge) et costamères (vert) sur une coupe de 1 μ m d'épaisseur réalisée au centre d'un cardiomyocyte en microscopie confocale. D'après Samarel et al. (5).

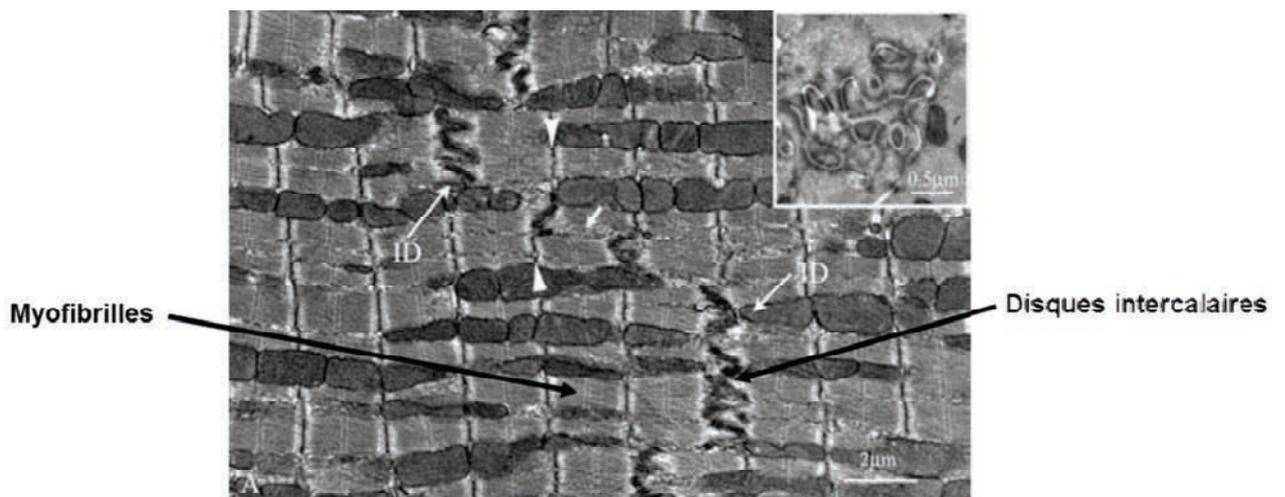


Figure 5. Fixation des myofibrilles aux disques intercalaires dans des cardiomyocytes ventriculaires murins en microscopie électronique. D'après Bennett et al. (6).

Des anomalies primitives du cytosquelette conduisent à de nombreuses maladies chez l'homme et chez l'animal. La plupart des cardiomyopathies primitives humaines sont dues à des mutations des gènes du cytosquelette. De plus, la physiopathologie des cardiopathies et des cardiomyopathies secondaires implique de nombreuses altérations des filaments d'actine, des microtubules et des filaments intermédiaires.

La cardiomyopathie septique se caractérise par une inflammation aigüe du myocarde et par une destruction des myofibrilles. L'implication des microfilaments, des microtubules et des filaments intermédiaires dans la myocardiopathie septique est encore mal connue. Au cours de ce travail nous avons étudié l'implication des microfilaments et des microtubules dans des modèles de dysfonction inflammatoire aigüe du myocarde.

I. STRUCTURE ET ORGANISATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOMYOCYTES.

I.1. STRUCTURE ET ORGANISATION DES MICROFILAMENTS DANS LES CARDIOMYOCYTES.

I.1.a. Structure et organisation générale des microfilaments.

L'actine est une petite protéine globulaire (43 kDa) de 10 nm de long et de 5 nm de large hautement conservée parmi les espèces animales tout au long de l'évolution. L'actine est présente dans toutes les cellules eucaryotes (7) ; c'est la protéine la plus abondante du corps humain.

L'actine monomérique, globulaire (actine G), est stockée dans les différents compartiments cellulaires et permet la formation de polymères filamenteux polarisés en double hélice alpha de 8 nm (7-9 nm) de diamètre. Les microfilaments sont très dynamiques et peuvent se polymériser ou se dépolymériser en quelques minutes. L'actine est capable de fixer et d'hydrolyser l'ATP. La liaison de l'actine à l'ATP stabilise la forme filamentaire alors que la liaison à l'ADP la déstabilise (8).

La première étape de la synthèse d'un microfilament est la nucléation. Il s'agit de l'association de 3 monomères d'actine qui crée un point de départ indispensable au démarrage de la polymérisation et à l'élongation des microfilaments. L'actine filamenteuse (actine F) se polymérise essentiellement par l'extrémité barbue chargée positivement. L'extrémité barbue incorpore préférentiellement des monomères d'actine fixant une molécule d'ATP. Au fur et à mesure que le filament s'allonge, les molécules d'actine hydrolysent l'ATP et libèrent un ion phosphate. Les molécules d'actine fixant de l'ADP se détachent du microfilament par l'extrémité pointue (9). Les monomères d'actine libre échantent l'ADP contre une molécule d'ATP, ce qui permet leur nouvelle incorporation dans un filament. Ce phénomène de polymérisation-dépolymérisation orienté par l'hydrolyse de l'ATP est appelé « tapis roulant de l'actine » (10) (**Figure 6**). Une fois l'actine polymérisée, l'actine F crée un réseau intracellulaire en fixant les structures adjacentes. Des branches collatérales d'actine F se connectent entre elles : c'est la réticulation. Les microfilaments se fixent également à des protéines de liaison et ancrent ainsi le réseau d'actine F au reste du cytosquelette, aux membranes des organites et à la membrane plasmique.

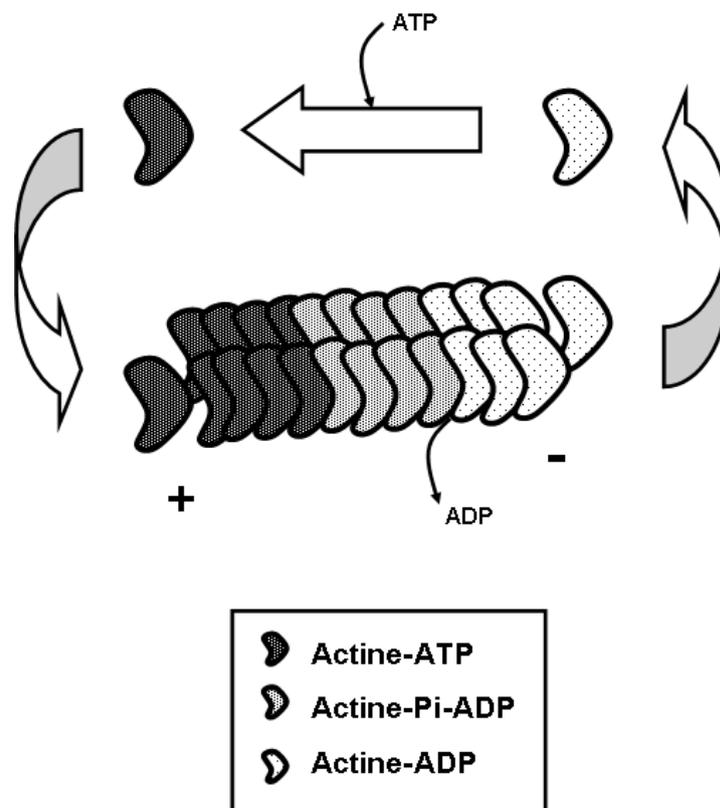


Figure 6. Représentation schématique de l'assemblage et du désassemblage des microfilaments.

Six gènes différents permettent la synthèse de six isomères d'actine chez les mammifères. Les six isoformes d'actine sont groupées en trois classes alpha, beta et gamma selon leurs propriétés migratoires sur gel d'électrophorèse (11). Les isoformes alpha-squelettique, alpha-cardiaque, alpha-musculaire lisse et gamma-musculaire lisse sont exprimées majoritairement dans les cellules musculaires squelettiques, cardiaques et lisses. Les isoformes cytoplasmique bêta et gamma sont ubiquitaires (**Tableau 2**). Les différents isomères d'actine ont des structures protéiques très proches avec plus de 90% d'homologie (12,13). Malgré une grande homologie des structures protéiques les isomères ne sont pas interchangeable. Les actines musculaires ne peuvent remplacer les isoformes cytoplasmiques et de la même manière les actines cytoplasmiques ne peuvent assurer pleinement les fonctions des isomères musculaires (7).

Tableau 2. Isoformes de l'actine.

Isoforme	Localisation
Béta	Ubiquitaire (cytoplasme)
Gamma-cytoplasmique	Ubiquitaire (cytoplasme)
Gamma-musculaire lisse	Cellules musculaires lisses (appareil contractile)
Alpha-cardiaque	Cardiomyocytes (myofibrilles)
Alpha-musculaire lisse	Cellules musculaires lisses (appareil contractile)
Alpha-squelettique	Cellules musculaires squelettiques, cardiomyocytes (myofibrilles)

L'implication de l'actine dans la physiologie cellulaire nécessite l'intervention de protéines de liaison de l'actine. Certaines protéines de liaison régulent l'état de polymérisation de l'actine alors que d'autres sont responsables des connexions intracellulaires. Les myosines sont des protéines de liaison particulières qui génèrent des mouvements, ce sont des moteurs moléculaires. Les myosines transforment l'énergie chimique de l'ATP en énergie cinétique. Plus de 70 familles de protéines de liaison de l'actine et 17 classes de myosines sont connues et permettent une régulation fine et adaptée du réseau d'actine et des déplacements de la myosine le long de ce réseau (14). Les différentes isoformes d'actine, de protéines de liaison et de myosine contribuent à la diversité et à la spécialisation des fonctions des microfilaments. Les filaments d'actine, les

protéines de liaisons et les myosines sont essentiels à un grand nombre de fonctions cellulaires comme la mitose, la migration, la formation des jonctions intercellulaires, la régulation transcriptionnelle, le transport des organites, le transport des vésicules intracellulaires et la régulation de la forme des cellules.

In vitro, la nucléation est l'étape limitante de la formation de microfilaments d'actine. Le complexe des protéines de liaison de l'actine 2 et 3 (Arp2/3 ; Actin related proteins 2/3) permet la nucléation de l'actine G. Cette nucléation permet la polymérisation rapide des filaments par l'extrémité barbue positive. De plus l'Arp2/3 coiffe l'extrémité pointue de l'actine et inhibe le désassemblage des microfilaments par l'extrémité pointue négative (8,15). Lorsque la nucléation de l'actine est suffisante, la polymérisation dépend de la disponibilité de l'actine libre. L'actine-G doit être liée à l'ATP pour être incorporée dans les microfilaments. Des protéines comme la profiline permettent l'échange d'une molécule d'ADP contre une molécule d'ATP. L'actine-G liée à l'ATP et fixée à la profiline est immédiatement disponible pour être incorporée aux processus de nucléation et de polymérisation en cours (8).

Certaines protéines de liaison se fixent aux extrémités des microfilaments et bloquent à la fois leur polymérisation et leur dépolymérisation. La protéine Cap Z stabilise l'extrémité barbue des filaments, alors que la tropomoduline stabilise l'extrémité pointue. Des protéines stabilisatrices se fixent le long de l'actine-F et protègent les filaments de la dépolymérisation. Les principales protéines stabilisatrices du corps des microfilaments sont la tropomyosine, la nébulette et la nébuline (8).

Certaines molécules comme les protéines de choc thermique réparent les molécules d'actine dénaturées et favorisent leur recyclage lorsque la réparation est impossible (16).

Les microfilaments s'organisent de manière parallèle en faisceaux ou de manière perpendiculaire en réseau sous l'influence de nombreuses protéines de régulation (17). La fimbrine et l'alpha-actinine favorisent un agencement parallèle en faisceaux. L'Arp2/3, la filamine et la spectrine favorisent un agencement perpendiculaire en réseau. L'ancrage des microfilaments aux membranes et aux autres éléments du cytosquelette dépend principalement de la dystrophine, de la taline, de la vinculine et de la plectine. La dystrophine connecte l'actine F au sarcolemme latéral. La taline et la vinculine fixent les microfilaments à la membrane latérale et aux disques intercalaires. La plectine, attache les microfilaments à la fois aux microtubules et aux filaments intermédiaires. L'émerine et le complexe SUN-nesprine amarrent les microfilaments à la membrane nucléaire externe (1).

Certaines protéines comme la cofiline (18) et la gelsoline (19) coiffent l'extrémité barbue de l'actine. Elles stoppent l'addition de nouveaux monomères, clivent et dépolymérisent les microfilaments. La cofiline et la gelsoline provoquent la dépolymérisation des microfilaments qui ne sont pas protégés par des protéines stabilisatrices. Ces protéines permettent la destruction des filaments dénaturés et favorisent ainsi le renouvellement du réseau (**Tableau 3**).

Des agents pharmacologiques comme la cytochalasine-D (16), la latrunculine-A (20), la swinholidine A (21), la toxine C2 du *Clostridium botulinum* (22), la transférase du *Clostridium difficile* et la toxine iota du *Clostridium perfringens* (23) dépolymérisent les microfilaments. A l'inverse, la phalloïdine (24), le jasplakinolide (25) et la toxine du *Photobacterium luminescens* (23) favorisent la polymérisation de l'actine.

Bien que l'effet « tapis roulant » de l'actine puisse entraîner certains déplacements moléculaires, une grande majorité des mouvements le long des microfilaments sont produits par les myosines (14) (**Tableau 3**). A partir de l'énergie chimique issue de l'hydrolyse de l'ATP, les myosines fournissent de l'énergie cinétique qui permet leurs déplacements le long de l'actine F. Dans la très grande majorité des cas le déplacement des myosines se fait en direction de l'extrémité barbue des microfilaments (10).

Nous connaissons environ 140 isoformes de myosine, regroupées en 17 classes (26). Le génome humain contient 40 gènes de myosine qui peuvent être regroupés en 12 classes différentes. Les myosines de type II (musculaires ou non) autrement dénommées myosines conventionnelles, sont génératrices de contractions cellulaires et de tensions intracellulaires. L'être humain possède 15 gènes de myosines conventionnelles dont 6 myosines musculaires squelettiques, 2 myosines cardiaques et une myosine musculaire lisse. Les myosines non conventionnelles sont essentiellement impliquées dans les mouvements des organites et le transport des membranes. L'être humain possède 25 gènes de myosines non conventionnelles.

Des agents pharmacologiques comme le 2,3-butanedione monoxime (BDM) (27) ou le N-benzyl-p-toluène sulphonamide (BTS) (28) inhibent les interactions actine-myosine.

Tableau 3. Principales protéines de liaison de l'actine et leurs fonctions.

Nucléation	Stabilisation	Fixation	Réparation Recyclage	Clivage Dépolymérisation	Mouvements
Profiline Arp2/3	Cap-Z Tropomoduline Tropomyosine Nébuline Nébulette	α -actinine Fimbrine Arp2/3 Filamine Spectrine Dystrophine Taline Vinculine Plectine Emerine SUN-nesprine	Protéines de choc thermique	Cofiline Gelsoline	Myosines

I.1.b. Organisation des microfilaments dans les cardiomyocytes.

L'actine représente 20% des protéines des cardiomyocytes. Seules les isoformes d'actine alpha-cardiaque, alpha-squelettique, bêta et gamma-cytoplasmiques sont exprimées de manière significative dans les cardiomyocytes humains adultes (7).

Les isoformes musculaires de l'actine prédominent et représentent environ 80% de l'actine totale. L'actine alpha-cardiaque prédomine et représente environ 80% des isoformes musculaires dans le myocarde humain (12). Les cœurs de souris expriment quasi exclusivement l'actine alpha-cardiaque en situation physiologique. Quelques rares souris comme les Balb/c ou les DBA ont une expression plus élevée d'actine alpha-squelettique. Chez les Balb/c, l'expression myocardique d'actine alpha-squelettique peut représenter 25 à 54 % de l'actine musculaire totale (29).

En microscopie, l'appareil contractile des cardiomyocytes est marqué par de nombreuses stries transversales. Les stries transversales sont dues à l'assemblage en série des unités contractiles des myofibrilles : les sarcomères. Chaque sarcomère est constitué de filaments fins, de filaments épais et de nombreuses protéines associées (**Figures 7**). Les filaments fins sont des filaments d'actine alpha-cardiaque ou alpha-squelettique (30,31). Les filaments épais sont composés de

myosine de type II musculaire (32) (**Figure 8**). C'est le glissement des filaments fins le long des filaments épais qui crée le mouvement essentiel à la contraction des cardiomyocytes.

L'affinité particulière des isoformes d'actine alpha vis-à-vis des protéines de stabilisation confère aux myofilaments fins une grande stabilité dans le temps. Ils sont renouvelés tous les 10 jours (33). Les 4 principales protéines qui stabilisent les myofilaments fins dans les cardiomyocytes sont la tropomyosine, la nébulette, la cap-Z et la tropomoduline (3). La principale protéine de fixation des filaments fins entre eux et au reste du cytosquelette est l'alpha-actinine.

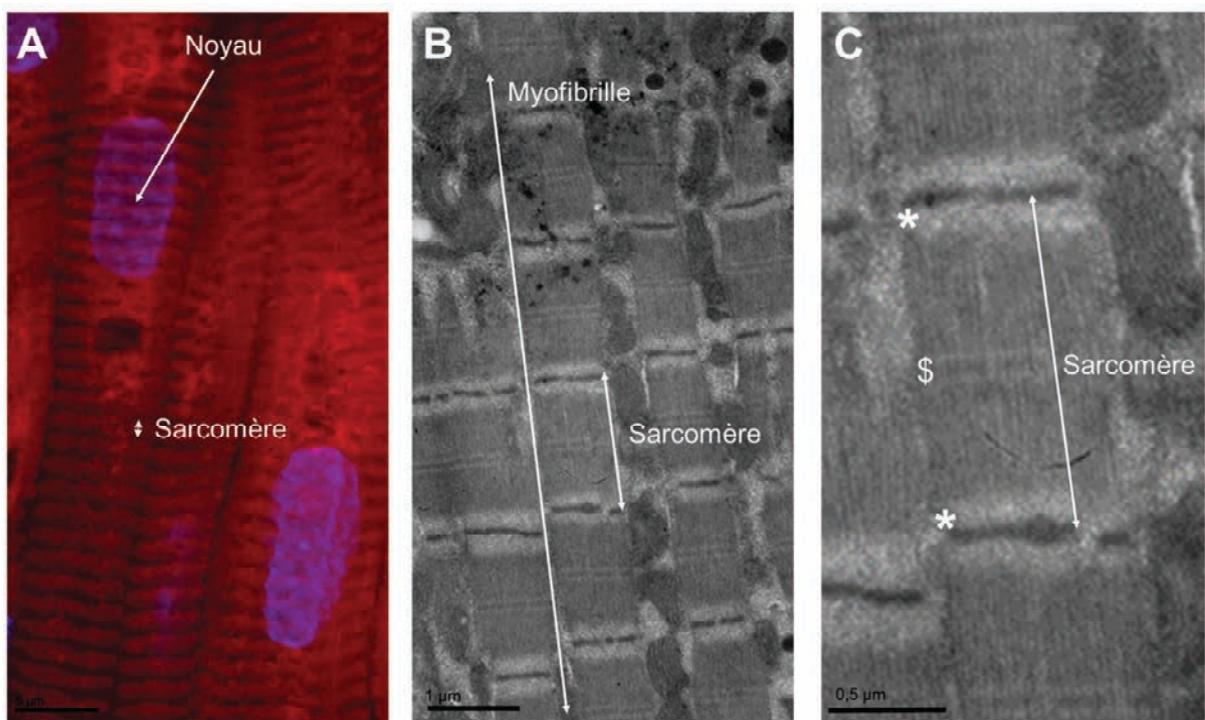


Figure 7. L'unité contractile des myofibrilles : le sarcomère. A/ Vue longitudinale de 3 cardiomyocytes auriculaires humains avec marquage de l'actine polymérisée (rouge) et des noyaux (bleu) en microscopie photonique. B/ Alignements de myofibrilles dans un cardiomyocyte auriculaire humain en microscopie électronique. C/ Alignements de myofilaments dans un sarcomère de cardiomyocyte auriculaire humain : * filaments fins d'actine ; \$ filaments épais de myosine. Résultats personnels.

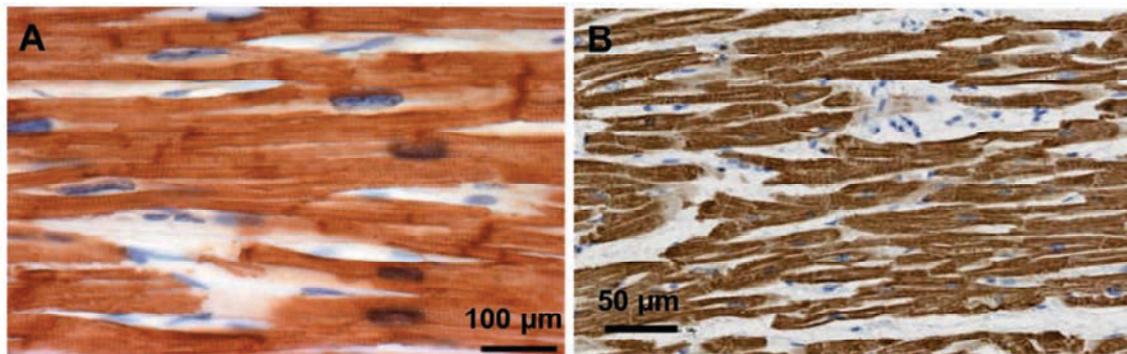


Figure 8. Myofilaments de myocarde ventriculaire humain. A/ Filaments fins d'actine alpha (marron) et noyaux (bleu). D'après Suurmeijer et al. (31). B/ Filaments épais de myosine (marron) et noyaux (bleu). D'après Theis et al (34).

Les actines bêta et gamma-cytoplasmique ont des localisations exclusivement extra-sarcomériques. Ces microfilaments cytosoliques sont situés sous le sarcolemme, en périphérie des myofibrilles, des organelles et du noyau (35,36). Alors que l'actine bêta est distribuée de manière homogène dans le cytoplasme des cardiomyocytes, l'actine gamma cytoplasmique fait partie intégrante des costamères (**Figure 9**). Ces microfilaments cytosoliques sont impliqués dans la mécanoprotection, la mécanotransmission, la mécanotransduction et les transports protéiques des cardiomyocytes. Les principales molécules d'ancrage des microfilaments cytosoliques des cardiomyocytes sont l'alpha-actinine, la dystrophine, la spectrine, la vinculine, la taline et la plectine.

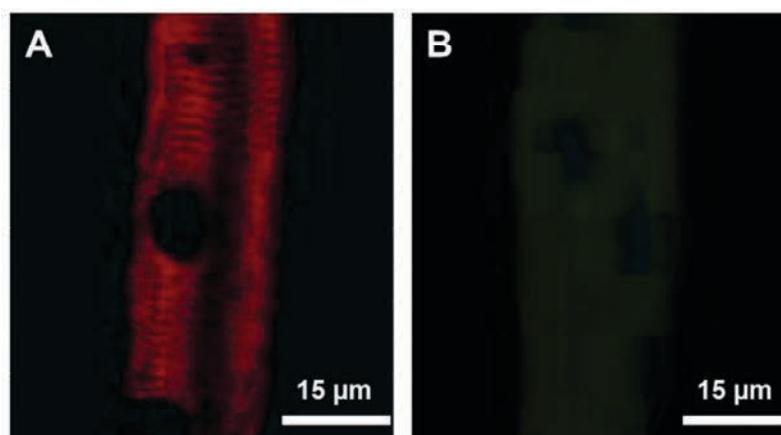


Figure 9. Isoformes d'actine cytosolique dans des cardiomyocytes ventriculaires de souris. A/ Actine gamma-cytoplasmique localisée dans les costamères d'un cardiomyocyte isolé. D'après Rybakova et al. (35). B/ Actine bêta répartie de manière diffuse dans le cytoplasme d'un cardiomyocyte isolé. D'après Diguët et al (36).

La cofiline et la gelsoline sont les protéines de liaison de l'actine responsables du nettoyage des microfilaments dégradés ou non protégés par des molécules stabilisatrices (37–39).

La crystalline-alpha-B est une protéine de choc thermique capable de se fixer à l'actine (40) et présente en grande quantité dans les cardiomyocytes adultes (41). La crystalline-alpha-B stabilise les microfilaments in vitro (16) et protège les myofilaments fins des contraintes mécaniques in vivo (42,43).

I.2. STRUCTURE ET ORGANISATION DES MICROTUBULES DANS LES CARDIOMYOCYTES.

I.2.a. Structure et organisation générale des microtubules.

La tubuline est une protéine globulaire de 55 kDa capable d'hydrolyser la GTP. Nous connaissons deux isoformes cytoplasmiques majeures (alpha et bêta) et une isoforme mineure organisée en anneaux au niveau des centromères (gamma). Les autres isoformes sont beaucoup plus rares. La tubuline est très conservée entre les espèces. Il existe plus de 75% d'homologie entre les tubulines des animaux et des végétaux.

Les microtubules sont des polymères cylindriques de tubuline de 25 nm (24-28 nm) de diamètre (44) associés à des protéines de stabilisation. L'assemblage en série d'hétérodimères alpha-bêta de 4 nm de long forme des protofilaments de tubuline mesurant jusqu'à 20 μ M de long. L'assemblage en cylindre creux de 13 protofilaments (11 à 15) forme un microtubule.

Les microtubules sont des structures polarisées et instables comme les microfilaments. Ils ont une distribution radiaire avec une extrémité négative proche d'un centre organisateur, le centromère, et une extrémité positive située en périphérie de la cellule (45) (**Figure 10**).

Les microtubules sont des structures très dynamiques qui ont la capacité de se polymériser et de se dépolymériser en quelques minutes dans le cytoplasme. Ils se polymérisent et se dépolymérisent essentiellement par leur extrémité positive périphérique (46) (**Figure 10**).

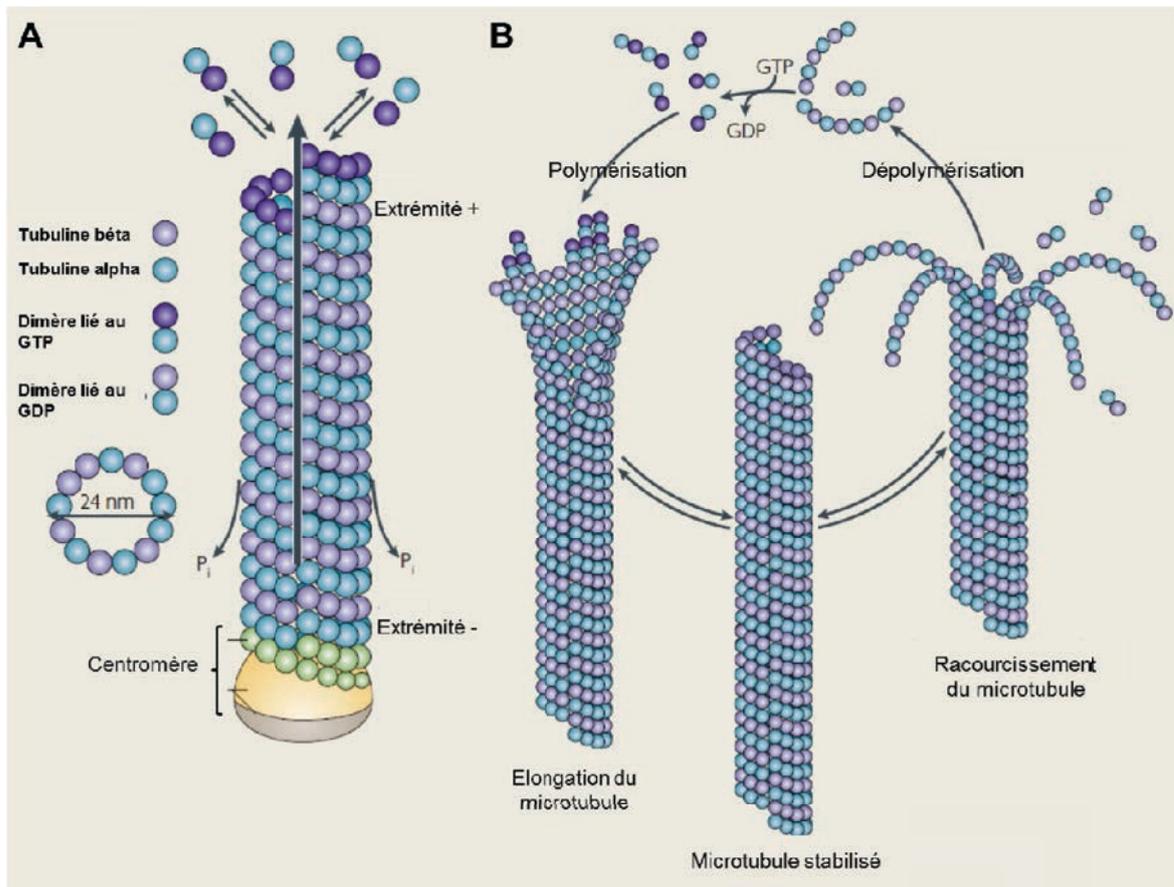


Figure 10. Représentation schématique de la structure et de la dynamique des microtubules. A/ Structure d'un microtubule. B/ Cycle de polymérisation, dépolymérisation d'un microtubule. D'après Conde et al. (45).

Des protéines associées aux microtubules, les MAP (microtubule associated proteins) régulent l'équilibre entre les formes polymérisées et libres de tubuline in vivo. Environ 20% des protéines des microtubules sont des protéines de liaison. Plus d'une centaine de protéines de stabilisation sont connues actuellement. Les principales protéines stabilisatrices dans les cellules eucaryotes sont les MAP, la protéine STOP et la protéine Tau. Les principales protéines déstabilisatrices des microtubules sont l'op18/stathmine, XKCM1/MCAK et la katamine (47) (**Tableau 4**). L'équilibre entre anti- et pro-polymérisants de la tubuline régule l'architecture du réseau tout en régénérant les microtubules endommagés. Les microtubules s'adaptent de cette manière aux déformations cellulaires. Ils participent aux changements de forme des cellules en réponse à des modifications des contraintes mécaniques. Le réseau de microtubules s'oriente généralement perpendiculairement aux déformations (48).

De nombreuses modifications post-traductionnelles de la tubuline modifient la stabilité des microtubules in vivo. L'acétylation (49,50) et la glutamination (51,52) de la tubuline stabilisent la polymérisation. A l'inverse, sa phosphorylation favorise la dépolymérisation des microtubules (53) (**Tableau 4**).

Les microtubules sont amarrés à la membrane cytoplasmique, à la paroi des organelles et aux noyaux soit par des interactions directes entre la tubuline et des protéines membranaires comme l'émerine (54), soit par l'intermédiaire de protéines de liaison comme les MAP (55,56). Des connexions entre les microtubules et les filaments du cytosquelette sont réalisées par des molécules comme la plectine, les dynéines (57) ou les kinésines (58) (**Tableau 4**). Ces connexions favorisent la stabilité de l'ensemble du cytosquelette. Les microtubules, les microfilaments et les filaments intermédiaires sont interdépendants et la déstabilisation des uns entraîne la déstabilisation des autres (58,59).

Des agents pharmacologiques comme la colchicine (60), le nocodazole (61), la vincristine (62), la vinblastine (63), la colcémide (64) ou la thrombine (53) dépolymérisent les microtubules. A l'inverse le paclitaxel (65) stabilise leur forme polymérisée.

D'une manière générale, les microtubules sont impliqués dans la mitose, la motilité de certaines cellules (pseudopodes, cils et flagelles), la synthèse protéique, les transports et l'adressage intracellulaire (organelles, vésicules, macromolécules, complexes moléculaires).

Les kinésines et les dynéines sont les moteurs moléculaires qui parcourent le réseau de microtubules et permettent le transport de vésicules et d'organelles (**Tableau 4**). L'énergie chimique issue de l'hydrolyse de l'ATP fournie aux kinésines et aux dynéines l'énergie cinétique qui permet leurs déplacements (66).

Les kinésines se déplacent de l'extrémité négative jusqu'à l'extrémité positive en périphérie de la cellule. Il existe plus de 50 gènes différents de kinésines chez les mammifères. Les deux têtes fonctionnelles permettent un déplacement processif tout le long des microtubules. Les kinésines sont impliquées dans le transport des organelles et des vésicules vers la périphérie de la cellule. De plus, les kinésines permettent dans certaines cellules eucaryotes de lier les microtubules aux filaments intermédiaires et de transporter ces derniers vers la périphérie des cellules (58).

Les dynéines sont des moteurs moléculaires qui se déplacent de l'extrémité positive jusqu'à l'extrémité négative au niveau des centromères. Deux têtes fonctionnelles permettent un

déplacement processif tout le long des microtubules. Les dynéines sont impliquées dans le transport des organelles et des vésicules vers le centre de la cellule (67). De plus, les dynéines permettent dans certaines cellules eucaryotes de lier les microtubules aux filaments intermédiaires et de transporter ces derniers vers le centre de la cellule (57).

Les déplacements des moteurs moléculaires sont finement régulés par le degré de polymérisation de la tubuline, la présence de protéines stabilisatrices et certaines modifications post-traductionnelles. L'action des kinésines et des dynéines dépend avant tout de l'intégrité du réseau de microtubules. Alors que la stabilité du réseau est indispensable aux transports, des molécules stabilisatrices comme certaines MAP inhibent le déplacement des moteurs moléculaires (68,69). De même, alors que la glutamination de la tubuline stabilise le réseau, elle inhibe la fixation des microtubules aux kinésines (70).

Tableau 4. Principales protéines de liaison et modifications post-traductionnelles de la tubuline.

Stabilisation Polymérisation	Dépolymérisation	Fixation	Mouvements	Modifications post-traductionnelles
MAPs STOP Tau	Op18/Stathmine XKCM1/MCAK Katamine	MAPs Dynéines Kinésines Plectine Emerine	Kinésine (+) Dynéines (-)	<u>Stabilisatrices</u> : Glutamination Acétylation <u>Déstabilisatrice</u> : Phosphorylation

I.2.b. Organisation des microtubules dans les cardiomyocytes.

Les isoformes de tubuline alpha et bêta prédominent dans les cardiomyocytes. Seulement 30% de la tubuline totale est polymérisée sous la forme de microtubules alors que le reste de la tubuline est sous forme libre dans le cytosol (71). La tubuline est plus concentrée dans certains microdomaines comme l'appareil contractile (isoforme bêta 3), les mitochondries (isoforme bêta 2) (72), le réticulum sarcoplasmique (44) et les disques intercalaires (54). L'isoforme bêta 4 est retrouvée sous forme polymérisée autour du noyau et dans tout le cytoplasme (72) (**Figure 11**).

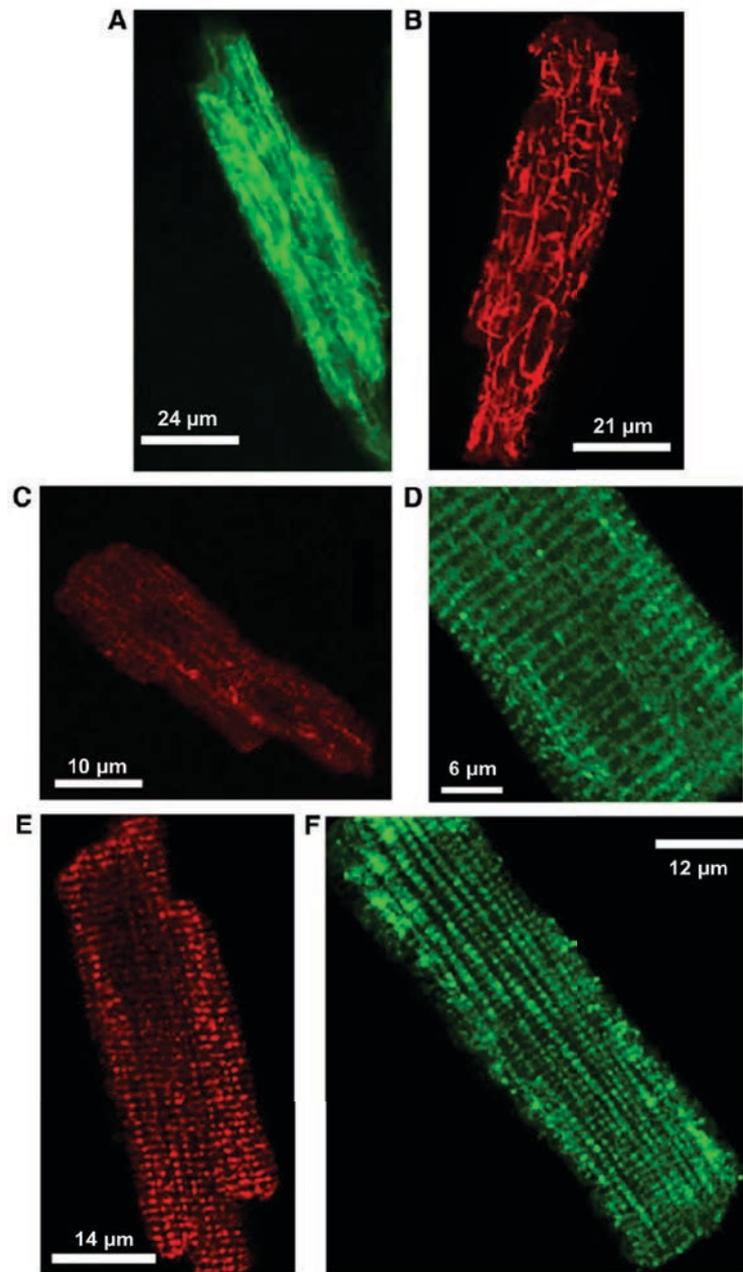


Figure 11. Localisation des isoformes de tubuline bêta dans des cardiomyocytes isolés de ventricules de rats. A/ Localisation de la tubuline bêta totale. B/ Tubuline bêta 4, isoforme polymérisée dans le cytoplasme et la région périnucléaire. C/ Tubuline bêta 1, isoforme répartie de manière diffuse dans tout le cytoplasme. D/ Tubuline bêta 3, isoforme localisée au niveau des sarcomères et répartie de manière striée. E/ et F/ Tubuline bêta 2, isoforme localisée au niveau des mitochondries. D'après Guzun et al. (72).

Parmi les molécules régulatrices de la polymérisation de la tubuline, MAP4 est majoritaire dans les cardiomyocytes adultes. La forme déphosphorylée de MAP4 stabilise les microtubules face aux contraintes mécaniques intenses (73,74).

Les connexions entre les microtubules et les autres filaments du cytosquelette des cardiomyocytes sont principalement assurées par la plectine, les dynéines (57) et les kinésines (58). Les dynéines et les kinésines des cardiomyocytes sont responsables du transport de nombreuses molécules (44,68,69) et du positionnement des organelles (64,75).

I.3. STRUCTURE ET ORGANISATION DES FILAMENTS INTERMÉDIAIRES DANS LES CARDIOMYOCYTES.

I.3.a. Structure et organisation générale des filaments intermédiaires.

Contrairement aux filaments d'actine et aux microtubules, le réseau de filaments intermédiaires est constitué de protéines fibrillaires qui n'ont aucune activité enzymatique connue. Les filaments intermédiaires sont des polymères flexibles, résistants et non extensibles. Leurs diamètres de 10 à 15 nm sont intermédiaires entre le diamètre des microfilaments (7-9 nm) et celui des microtubules (24-28 nm). Chaque sous-unité protéique élémentaire possède un domaine central analogue en forme de bâtonnet. Les domaines de tête (N terminal) et de queue (C terminal) sont variables d'un filament à l'autre. Cinquante gènes sont connus pour coder les protéines des filaments intermédiaires qui sont groupées en six classes (76) (**Tableau 5**).

Tableau 5. Classification des filaments intermédiaires.

Classes	Monomères	Localisations
I	Kératines acides (40-65 kDa ; 18 gènes)	Cellules épithéliales
II	Kératines basiques (51-86 kDa ; 18 gènes)	Cellules épithéliales
III	Desmine (53 kDa ; 1 gène), synémine (41-180 kDa ; 1 gène), périphérine (57 kDa ; 1 gène), vimentine (54 kDa ; 1 gène) et GFAP (glial fibrillary acidic protein ; 50 kDa ; 1 gène)	Myocytes, neurones, cellules mésenchymateuses, cellules gliales ...
IV	Neurofilaments L, M et H (Light, Medium, Heavy ; 3 gènes) et l'interneuxine- α (55 kDa ; 1 gène)	Neurones
V	Lamines (62–72 kDa ; 4 gènes ; 7 isoformes)	Ubiquitaires (noyaux)
VI	Nestine (230 kDa ; 1 gène)	Neurones, Myocytes

Les filaments intermédiaires sont capables de se polymériser spontanément sans consommer d'énergie. Ce sont les structures les plus stables du cytosquelette. L'assemblage des filaments s'effectue en trois étapes (77,78). Tout d'abord, en moins de deux secondes des tétramères de protéines élémentaires s'assemblent latéralement pour former des « filaments de taille unitaire » d'environ 58 nm de long et de 16 nm de diamètre. Puis, en moins de dix minutes, les « filaments de taille unitaire » se connectent en série pour atteindre plusieurs centaines de nanomètres de long et former des filaments immatures. Enfin, une réorganisation des interactions moléculaires au sein des filaments permet de réduire leur diamètre. Les filaments intermédiaires matures mesurent ainsi entre 10 et 15 nm de diamètre (**Figure 12**).

L'état de polymérisation des filaments intermédiaires est régulé par des modifications post-traductionnelles telles que des phosphorylations, des glycosylations ou des ribosylations. D'une manière générale, la phosphorylation (79,80), la glycosylation (36) ou la ribosylation (81) des protéines élémentaires déstabilise la structure filamentaire. La dégradation des filaments est également sous le contrôle de protéases. Des protéases comme la calpaïne clivent les filaments intermédiaires et permettent leur renouvellement au cours de la vie cellulaire (82) (**Tableau 6**).

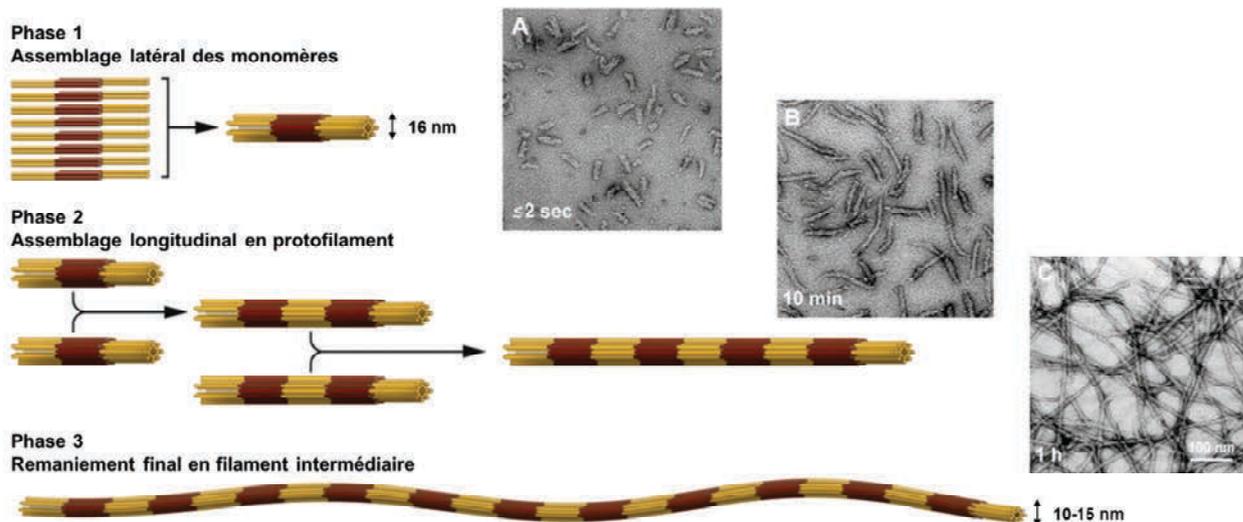


Figure 12. Représentation schématique de l'assemblage des filaments intermédiaires. Première (A), deuxième (B) et troisième (C) phases. D'après Hermann et al. et Strelkov et al. (2,83).

Les filaments intermédiaires de classes I, II, III, IV et VI sont tissus spécifiques et appartiennent au cytosquelette cytoplasmique. Le contenu intracellulaire en filaments intermédiaires permet de distinguer les lignées cellulaires. Le réseau tridimensionnel des filaments cytoplasmiques protège l'architecture cellulaire des contraintes mécaniques et influence la position des organelles et des complexes macromoléculaires.

De nombreuses protéines régulent l'organisation et l'architecture des filaments intermédiaires. Des protéines comme la plectine (84,85), les plakines (86) et l'alpha-actinine (87) connectent les filaments intermédiaires aux autres structures intracellulaires. Les dynéines régulent l'orientation, les déplacements et le positionnement de certains filaments intermédiaires (57,58,70). D'autres protéines comme les protéines de choc thermique réparent les protéines dénaturées et les recyclent lorsque la réparation est impossible (88,89) (**Tableau 6**).

Les lamines sont ubiquitaires et sont l'élément principal du cytosquelette intranucléaire. Les filaments intermédiaires de lamine créent un réseau sous membranaire qui interagit à la fois avec la chromatine et l'enveloppe nucléaire. La membrane nucléaire régule les transferts de molécules entre le noyau et le cytoplasme d'une part et l'expression de certains gènes d'autre part (90,91). L'émerine et le complexe SUN-nesprine fixent les lamines à la membrane nucléaire interne (1).

Contrairement aux filaments d'actine et aux microtubules, les filaments intermédiaires ne participent pas aux mouvements cellulaires et aucun agent pharmacologique connu ne modifie directement et spécifiquement leur état de polymérisation.

Tableau 6. Principales protéines de liaison et modifications post-traductionnelles des filaments intermédiaires.

Clivage Dépolymérisation	Fixation	Protection	Modifications post- traductionnelles
Protéases (calpaïne ...)	Plectine Alpha-actinine Plakines Emerine Dynéines Emerine SUN-nesprine	Protéines de choc thermique	<u>Déstabilisatrices</u> : Phosphorylation Glycosylation Ribosylation

I.3.b. Organisation des filaments intermédiaires dans les cardiomyocytes.

Les deux principales protéines qui composent les filaments intermédiaires du cytosquelette plasmatique des cardiomyocytes sont la desmine et la synémine. Les lamines sont les filaments intermédiaires des noyaux.

La desmine est le filament intermédiaire prédominant dans le cytoplasme des cardiomyocytes (92). Elle forme essentiellement des homopolymères. La formation d'hétéropolymères est possible avec d'autres protéines de classe III comme la synémine. L'expression de la desmine est spécifique des tissus musculaires (93).

Le réseau de desmine qui enveloppe et fixe le noyau est connecté au sarcolemme, aux myofibrilles (94,95), aux organelles (4), aux disques intercalaires et aux autres éléments du cytosquelette (92,96,97). La desmine lie les myofibrilles en fagots dans le cytoplasme (96,98). Le réseau crée ainsi des liens dans les plans longitudinaux et transversaux des cardiomyocytes (**Figure 13**).

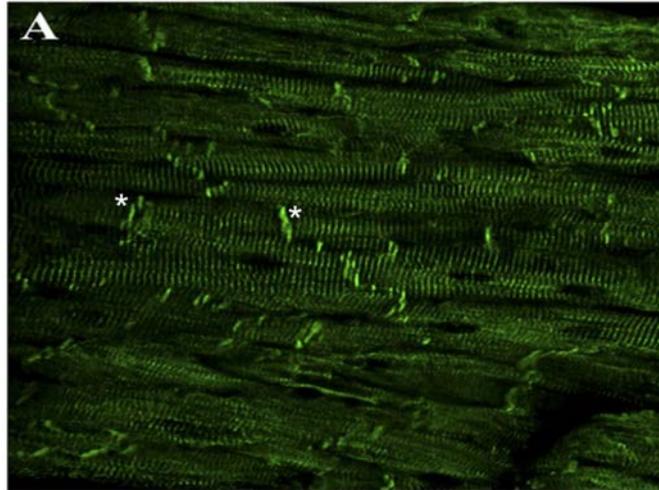


Figure 13. Localisation de la desmine (vert) dans du myocarde ventriculaire de souris. * disques intercalaires. D'après McLendon et al. (99).

Les principales protéines de liaison de la desmine dans les cardiomyocytes sont la spectrine, les ankyrines, la desmoplakine et la plectine (85). Les filaments de desmine sont ancrés au sarcolemme latéral par la spectrine ou les ankyrines (100) et aux disques intercalaires par la desmoplakine. La plectine fixe la desmine aux microtubules et aux microfilaments (101).

Le réseau de desmine est impliqué dans la préservation de la structure et de la fonction des myofibrilles, des mitochondries et du réticulum sarcoplasmique (102,103). La régulation de la densité de ce réseau est sous la dépendance de modifications post-traductionnelles, de protéases et de molécules chaperonnes. La phosphorylation (104–106), la glycosylation (36) ou la ribosylation (81) de la desmine dépolymérise les filaments. La calpaine est la principale protéase responsable de la dégradation physiologique de la desmine dans le myocarde (107). Enfin, la crystalline-alpha-B, principale protéine chaperonne de la desmine dans le myocarde (36,40,108) permet la réparation et le recyclage de filaments intermédiaires (42,43).

La synémine peut s'intégrer au sein des filaments de desmine dans tous les muscles dont le myocarde (109,110). La stœchiométrie au sein des filaments cytoplasmiques est très en faveur de la desmine avec un rapport moléculaire de 1 pour 25 (110). Il n'existe pas de filament de synémine mais plutôt des filaments de desmine parsemés de synémine (109).

Les principales protéines de liaison de la synémine dans les cardiomyocytes sont l'alpha-actinine, la vinculine, la taline et la plectine (101). La fixation de la synémine à l'alpha-actinine,

à la vinculine et à la taline permet de connecter les myofibrilles et le sarcolemme au réseau de desmine (87,111–113).

Les filaments intermédiaires de lamine sont des homopolymères exclusifs. Deux familles de lamines sont connues, les lamines A/C et B. Alors que les lamines B sont exprimées pendant toutes les phases du développement cellulaire, les lamines A/C ne sont présentes que dans les cellules différenciées. Les isoformes A, C et B2 sont présentes dans les cardiomyocytes humains adultes (114).

Les filaments intermédiaires de lamine constituent l'élément principal du cytosquelette intranucléaire. Les lamines créent un réseau nucléaire sous membranaire qui interagit à la fois avec la chromatine et l'enveloppe nucléaire (**Figure 14**). La membrane nucléaire régule les transferts de molécules entre le noyau et le cytoplasme, l'expression de certains gènes et certaines étapes de la mitose. La phosphorylation des lamines provoque le désassemblage des filaments intermédiaires nucléaires pendant la mitose. Le réseau de lamines reste stable en dehors des phases de multiplication cellulaire (90).

L'architecture du réseau de lamines est façonnée et régulée par au moins 67 protéines intranucléaires ou transmembranaires. L'émerine et le complexe SUN-nesprine sont les principaux fixateurs des lamines à la membrane nucléaire. Ces protéines transmembranaires amarrent le réseau de lamines à l'enveloppe nucléaire et protègent le noyau des agressions mécaniques liées aux contractions (115–117).

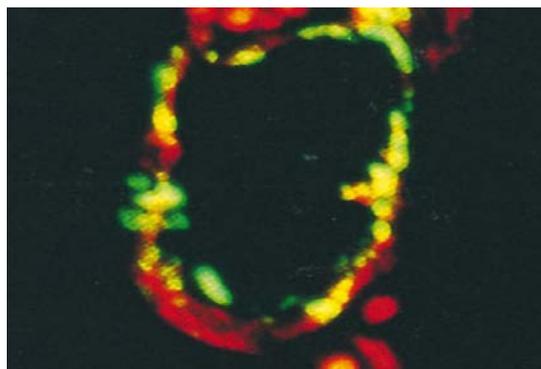


Figure 14. Lamines A (vert) et B2 (rouge) dans un noyau de cardiomyocyte ventriculaire de souris. D'après Ausma et al. (114).

II. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LA PHYSIOLOGIE DU MYOCARDE.

Les glissements des myofilaments de myosine le long des myofilaments d'actine génèrent le mouvement à l'origine de la contraction du myocarde. Les forces mécaniques générées par les myofilaments sont transmises à toute la longueur des myofibrilles, au cardiomyocyte et au myocarde. Le cytosquelette est la clef de voute de la mécanotransmission des cardiomyocytes. La transmission appropriée des contraintes mécaniques permet une contraction homogène du myocarde et une régulation de l'architecture des cardiomyocytes. Les déformations de certaines protéines du cytosquelette engendrent des signaux chimiques intracellulaires, c'est la mécanotransduction. La régulation des voies de signalisation intracellulaires par les déformations du cytosquelette permet l'adaptation de l'expression protéique aux contraintes mécaniques (1).

La qualité de la contraction des myofibrilles dépend de l'intégrité des myofilaments, de l'intégrité des structures de mécanotransmission, des flux calciques transmembranaires et de la concentration d'ATP. L'homogénéité et l'intensité des flux calciques coordonnent les contractions des myofilaments et la production énergétique. Ce couplage chimio-mécano-énergétique nécessite le maintien à proximité des myofilaments, du sarcolemme, du réticulum sarcoplasmique et des mitochondries. Le cytosquelette maintient l'architecture et la fonction de ces microdomaines malgré les agressions mécaniques répétées des contractions (3).

Enfin, les contraintes mécaniques intenses imposées à l'ensemble des cardiomyocytes accélèrent la dégradation des structures protéiques. Les microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires sont dégradés. La structure tridimensionnelle des protéines du cytosquelette est dénaturée. Des systèmes de réparation et de recyclage du cytosquelette permettent le nettoyage des structures endommagées et la synthèse de nouveaux filaments. L'équilibre entre la synthèse, la dégradation, la réparation et le recyclage des protéines maintient le cytosquelette fonctionnel (118,119).

II.1. ORGANISATION ET FONCTION DES MYOFILAMENTS.

L'aspect strié d'un cardiomyocyte humain est dû à l'assemblage en série des sarcomères. Chaque sarcomère est délimité par 2 lignes Z (ou disques Z) constituées d'alpha-actinine. Au centre de chaque sarcomère se trouve une ligne M, constituée de myoméline et de MyBP-M (Myosin binding protein M). Les filaments fins d'actine et les filaments épais de myosine sont situés entre les disques Z. Les bandes transversales les plus claires sont nommées bandes I ou isotropes. Chaque bande I, est séparée en 2 parties égales par une ligne Z. Les bandes I contiennent les zones des filaments fins qui ne sont pas chevauchés par les filaments épais. Les bandes transversales les plus sombres sont nommées bandes A ou anisotropes. Chaque bande A, est séparée en 2 parties égales par une ligne M. Les bandes A contiennent la totalité des filaments épais chevauchant ou non des filaments fins (1,3) (**Figure 15**).

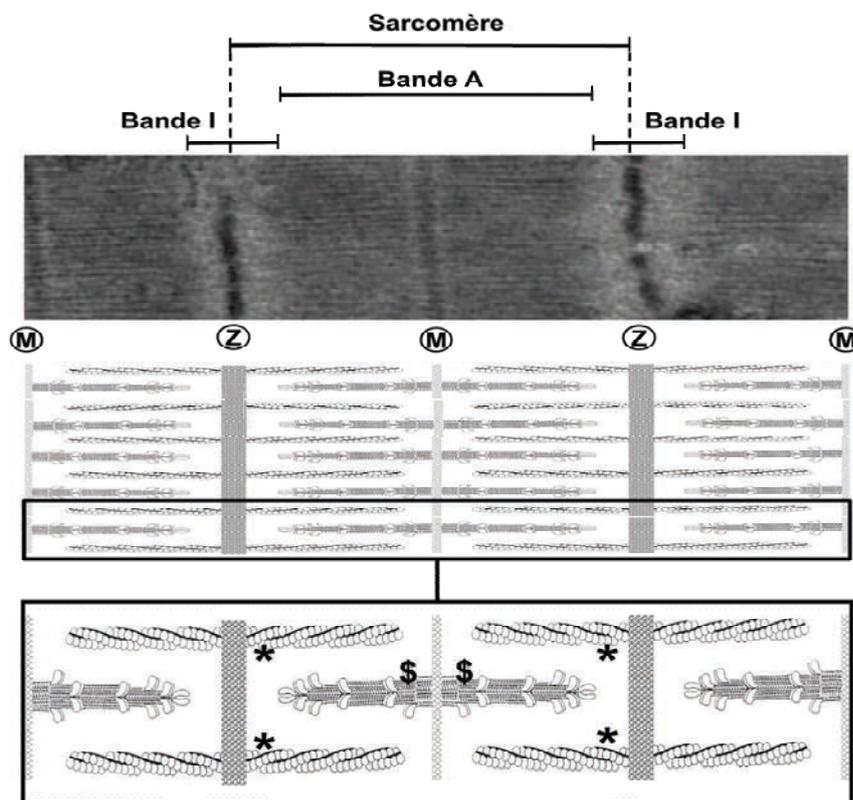


Figure 15. Représentation schématique de l'organisation des myofilaments dans un sarcomère. Sarcomère de cardiomyocyte auriculaire humain observé en microscopie électronique. Dessin schématique de l'ultrastructure des myofilaments dans un sarcomère : * filament fin d'actine ; \$ filament épais de myosine. D'après Opie (120).

Dans des conditions physiologiques, la performance contractile des myofilaments dépend du chevauchement de l'actine par la myosine, de la sensibilité des myofilaments au calcium et des variations des concentrations de calcium intracellulaire. Au cours du cycle de contraction des cardiomyocytes, la longueur d'un sarcomère oscille entre 1,8 et 2,2 μM . Lorsque le sarcomère a une longueur de repos de 2,2 μM , le recouvrement des sites d'actine par les têtes de myosine est optimal.

Le chevauchement de l'actine par la myosine dépend de la précharge du sarcomère, c'est-à-dire du degré d'étirement du sarcomère avant sa contraction (121–123). La sensibilité des myofilaments au calcium dépend des constituants du cytosquelette sarcomérique. La proportion des différentes isoformes protéiques et les modifications post-traductionnelles de l'actine, de la myosine et des protéines de liaison régulent la sensibilité des myofilaments au calcium.

Les myofilaments fins se composent principalement de filaments d'actine alpha de 1,1 μm de long. Les sarcomères humains se composent de 80% d'actine alpha-cardiaque et de 20% d'actine alpha-squelettique (12). La force de contraction des myofibrilles est corrélée à la proportion d'actine alpha-squelettique (29).

La stabilité des myofilaments fins et leur longueur sont déterminées par des protéines de liaison de l'actine dont les principales sont la Cap-Z à l'extrémité barbue, la tropomoduline-1 à l'extrémité pointue, la tropomyosine tout le long du corps et la nébulette le long du corps proche de l'extrémité barbue des microfilaments (3). La tropomyosine et les troponines I, T et C sont les protéines de liaison de l'actine qui régulent les interactions entre les myofilaments fins et épais pendant toute la durée du cycle de contraction (**Figure 16**).

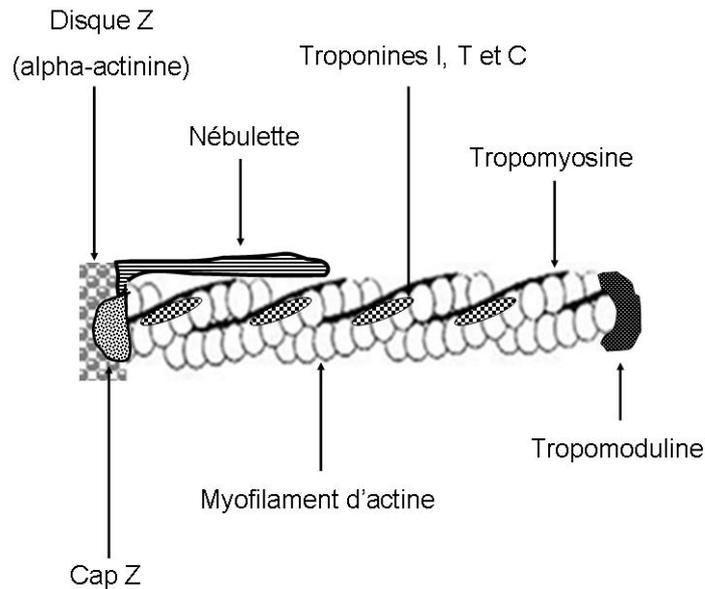


Figure 16. Représentation schématique des protéines de liaison des myofilaments fins d'actine. D'après Opie (120).

La tropomyosine est une protéine allongée d'environ 40 nm de long qui se fixe sur 7 monomères d'actine. Le montage en série des molécules de tropomyosine permet de former des polymères de la longueur des filaments fins. Il y a 2 polymères de tropomyosine enroulés en hélices autour de chaque microfilament sarcomérique.

La tropomyosine occupe 2 positions sur le filament fin selon la concentration en calcium intracellulaire et la sensibilité du complexe tropomyosine-troponines au calcium. En présence d'une concentration élevée en calcium, la tropomyosine se déplace et démasque les sites de fixation de l'actine à la myosine. La bascule de la tropomyosine permet la mise en mouvement des têtes de myosine et induit le glissement des myofilaments. Le cycle contractile d'un cardiomyocyte se caractérise par une augmentation et une diminution cycliques des concentrations intracellulaires de calcium. C'est le rythme et la fréquence de ce transitoire calcique qui détermine le rythme et la fréquence de la bascule de la tropomyosine le long des myofilaments d'actine (122,124–126).

Il existe quatre isoformes de tropomyosine dans les cellules musculaires striées : alpha, bêta, gamma et kappa. Au cours de la vie fœtale, les cardiomyocytes expriment les isoformes alpha et bêta (127). Les cardiomyocytes adultes humains expriment presque exclusivement l'isoforme alpha (128). En comparaison avec l'isoforme bêta, la tropomyosine-alpha diminue la sensibilité au calcium et augmente la vitesse de déplacement des myofilaments (129). La surexpression de l'isoforme bêta au détriment de l'isoforme alpha provoque une dysfonction cardiaque diastolique

et une insuffisance cardiaque mortelle chez les souris (130). La tropomyosine-alpha peut être phosphorylée et acétylée. Ces modifications post-traductionnelles stabilisent les polymères de tropomyosines et augmentent leur demi-vie (131). De plus la phosphorylation de la tropomyosine augmente les interactions actine-myosine et accélère la vitesse de déplacement des myofilaments. Le niveau de phosphorylation de la tropomyosine semble rester stable de l'ordre de 25 à 30% dans les cardiomyocytes humains (128).

Les 3 troponines I, C et T régulent l'inhibition des interactions actine-myosine par la tropomyosine (132). La troponine I est la sous-unité inhibitrice du complexe, elle maintient la tropomyosine en regard des sites d'interaction de l'actine avec la myosine. La troponine C est la sous-unité qui fixe l'ion calcium. La troponine T lie les troponines I et C à la tropomyosine et maintient la tropomyosine en position inhibitrice (133). Chaque molécule de tropomyosine est fixée à un complexe de 3 molécules de troponines C, I et T.

La troponine I possède trois sites de phosphorylation régulés par la protéine kinase A (PKA), la protéine kinase C (PKC) et la protéine kinase associée à Rho (ROCK, Rho-associated protein kinase) (134–136). D'une manière générale, la phosphorylation de la troponine I diminue la sensibilité des myofilaments au calcium, diminue la force de contraction des myofilaments (137), et améliore leur vitesse de relaxation (135). La relaxation des sarcomères est accélérée au prix d'une diminution de la force contractile (138–140).

La troponine-T possède plusieurs sites de phosphorylation régulés par la PKC et ROCK. La phosphorylation de la troponine T provoque une diminution de la force de contraction et de la sensibilité au calcium des myofilaments (141). Ces effets sont indépendants de l'état de phosphorylation de la troponine I (136).

Les filaments épais du sarcomère sont des polymères constitués d'environ 400 molécules de myosine de type II musculaire (142). Les filaments épais mesurent 1,6 μm de long et 14 nm de diamètre. Chaque filament épais est entouré de 6 filaments fins avec lesquels il peut interagir. Les myosines de type 2 musculaires sont composées de deux chaînes lourdes (MHC, myosin heavy chain), de deux chaînes légères essentielles (MLC1, myosin light chain 1) et de deux chaînes légères régulatrices (MLC2, myosin light chain 2).

Les MHC sont constituées d'une queue et d'une tête. L'activité ATPasique de la myosine est située au niveau des têtes des MHC. Les queues de myosines sont entremêlées en direction du disque M, alors que les têtes pointent de part et d'autre de la ligne M, en direction des disques Z.

Les queues de MHC sont flexibles. La déformation des queues de myosine induite par l'hydrolyse de l'ATP au niveau des têtes est à l'origine de la production de la force mécanique qui permet les mouvements des filaments fins et la contraction des sarcomères. Les deux MLC1 et les deux MLC2 sont fixées aux têtes des MHC et régulent leur activité (**Figure 17**).

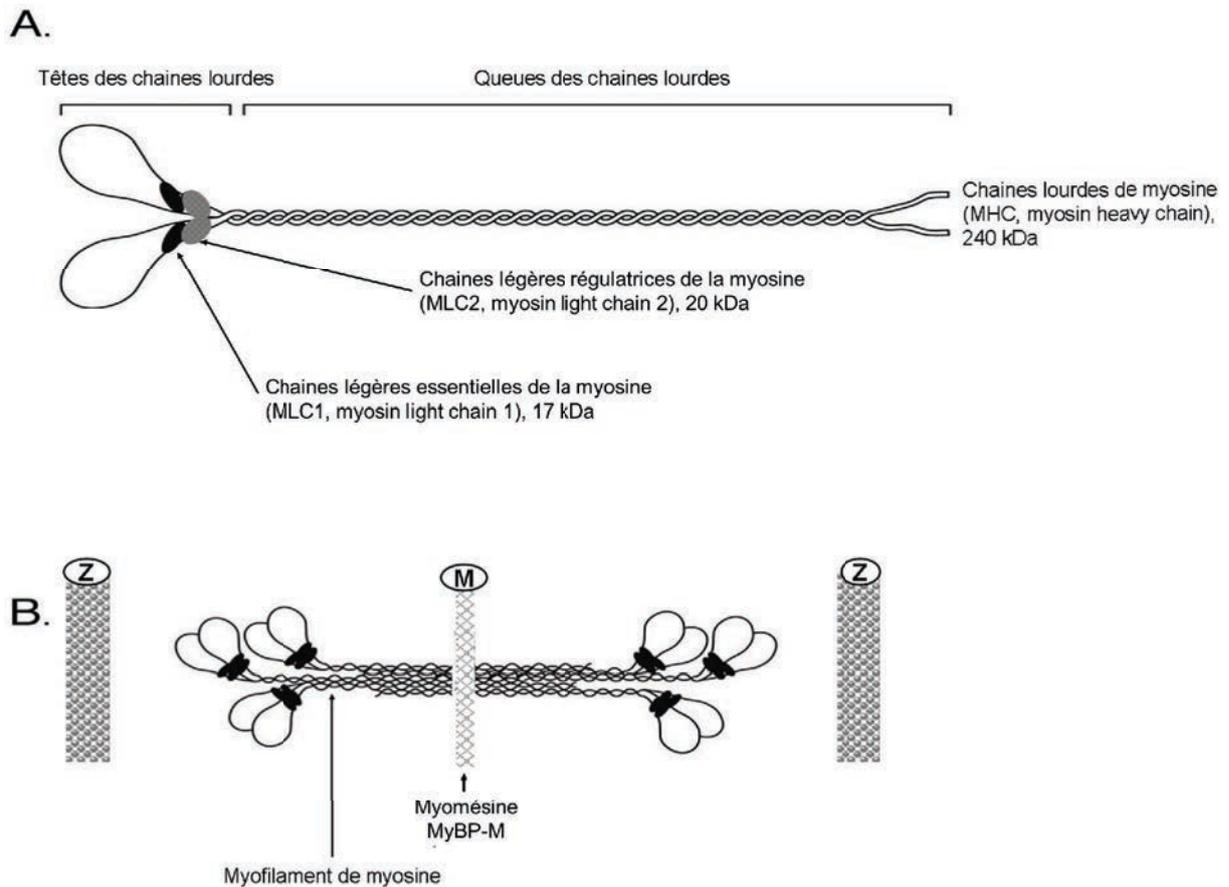


Figure 17. Représentation schématique de la structure des myofilaments de myosine. A/ Structure de la myosine de type II musculaire. B/ Structure d'un myofilament de myosine. MyBP-M, Myosin binding protein M. D'après Ma et al. (143).

Les cardiomyocytes ventriculaires humains contiennent 90% d'isoforme bêta et 10 % d'isoforme alpha de la MHC. Chez les rats ou les souris adultes, l'isoforme alpha prédomine. L'isoforme alpha génère une vitesse de raccourcissement plus rapide que l'isoforme bêta (144). L'isoforme bêta a un meilleur rendement mécano-énergétique. A fréquence et à force de contraction égales, l'isoforme bêta consomme moins d'énergie (145).

Les chaînes légères régulatrices MLC2 favorisent la fixation de la myosine à l'actine (146). La fonction de MLC2 est régulée par son état de phosphorylation (136). Alors que la phosphorylation de MLC2 augmente la force et la vitesse de contraction des myofilaments, elle ralentit leur relaxation (147). Le niveau de phosphorylation de MLC2 dépend de la MLC-kinase et de la MLC-phosphatase.

Parmi les protéines de liaison de la myosine, la MyBP-C (Myosin binding protein C) cardiaque est la principale régulatrice des interactions actine-myosine. La MyBP-C fixe à la fois les filaments de myosine et d'actine dans la bande A de part et d'autre du disque M (**Figure 18**). La MyBP-C favorise la bascule des têtes de myosine et leur fixation à l'actine. La MyBP-C augmente la sensibilité des myofilaments au calcium et la force de contraction des myofilaments mais ralentit la vitesse de glissement de l'actine (148). La phosphorylation de la MyBP-C entraîne une augmentation supplémentaire de la force de contraction et de la sensibilité des myofilaments au calcium (149,150). Elle favorise ainsi le recrutement des têtes de myosines pendant la contraction au détriment de la relaxation.

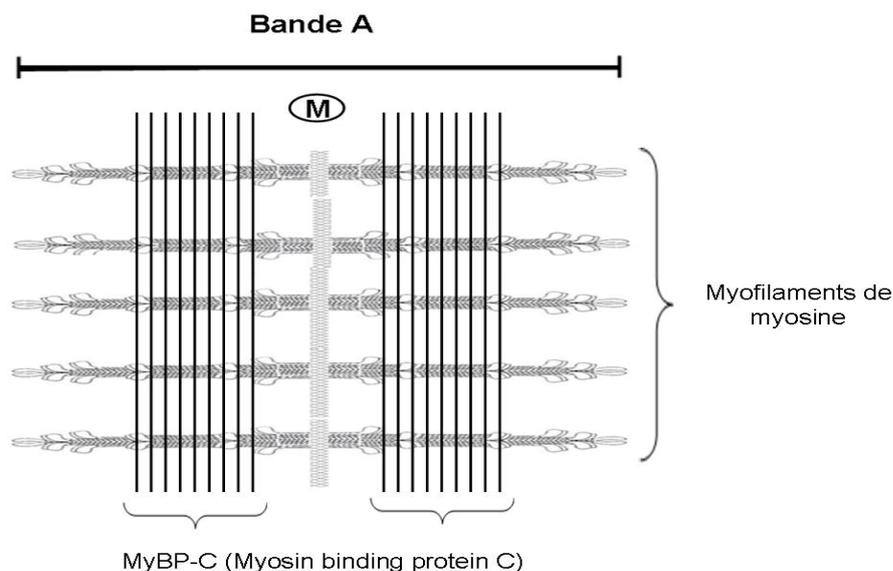


Figure 18. Représentation schématique de la principale protéine de liaison des myofilaments épais de myosine : la MyBP-C (Myosin binding protein C). D'après Opie (120).

Le cycle de contraction d'un sarcomère est déterminé par le cycle d'interaction entre les têtes de myosines et les filaments fins adjacents. Chaque contraction ne mobilise pas toutes les têtes de myosine. Vingt à 80% des molécules de myosine s'activent à chaque contraction selon que la contraction est respectivement isotonique ou isométrique. Le cycle d'interactions actines-

myosines des myofilaments évolue en quatre phases au cours desquelles les concentrations en calcium intracytosolique et la présence d'ATP jouent un rôle majeur (122,149) (**Figure 19**).

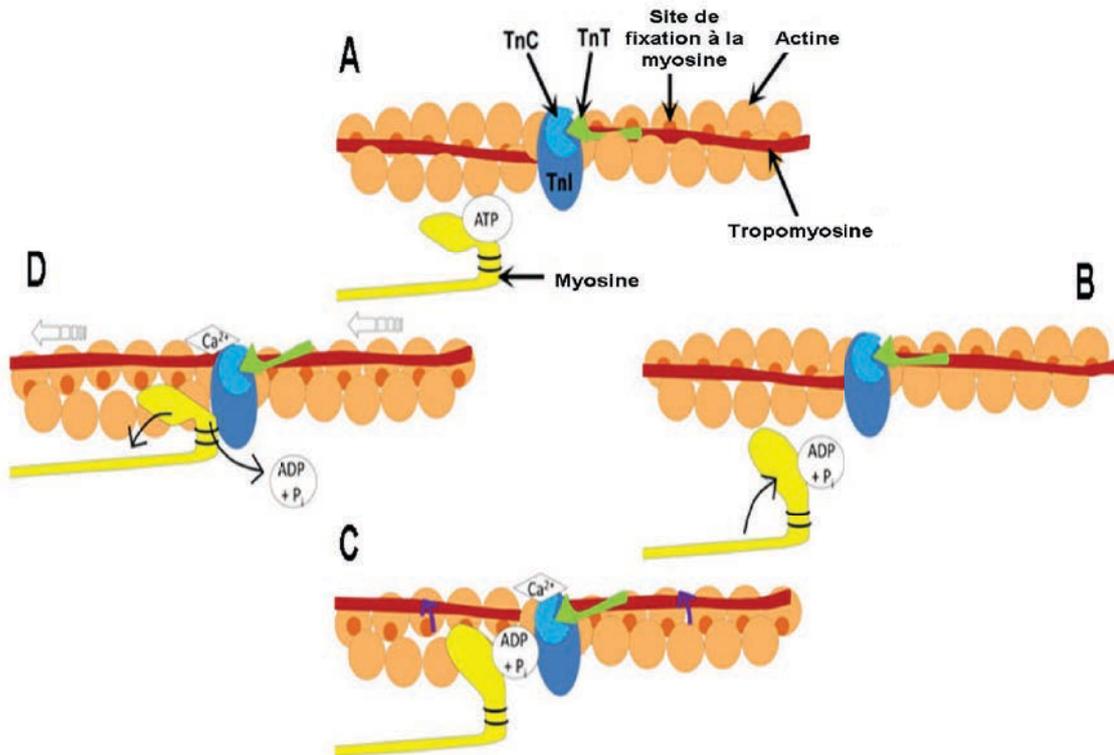


Figure 19. Représentation schématique du cycle d'interactions actines-myosines dans les myofilaments. A/ En présence d'une faible concentration cytosolique en calcium, la fixation d'une molécule d'ATP à une chaîne lourde de myosine provoque son détachement du filament d'actine. Ce phénomène est responsable de la relaxation des sarcomères. B/ L'hydrolyse de l'ATP en ADP+Pi permet la bascule de la tête de myosine en direction du myofilament fin adjacent. C/ L'augmentation de la concentration en calcium dans le cytosol permet la découverte des sites de liaison de l'actine à la myosine et la « fixation faible » des têtes de myosine aux molécules d'actine adjacentes. D/ La libération de l'ion phosphate entraîne une bascule de la myosine, une « fixation forte » à l'actine et un glissement du filament d'actine en direction du disque M au centre du sarcomère. La bascule des têtes de myosine est responsable de la contraction des sarcomères. En présence d'ATP et d'une faible concentration cytosolique en calcium le cycle peut recommencer. TnC, TnT, TnI, troponines C, T et I respectivement. D'après England et al. (151).

II.2. SYSTEMES DE MECANOTRANSMISSION INTRAMYOFIBRILLAIRE.

De nombreuses protéines de liaison sont impliquées dans la stabilisation de la structure des sarcomères et dans la transmission des forces mécaniques tout le long des myofibrilles. L'agencement de ces protéines impliquées dans la mécanotransmission myofibrillaire influence la contraction et les voies de signalisation des cardiomyocytes. Les orientations différentes des protéines de structure au sein des sarcomères permettent aux myofibrilles de percevoir précisément les contraintes mécaniques. La multiplicité des interactions entre les protéines de structures et les protéines de signalisation permet in fine d'adapter la trophicité et le métabolisme du myocarde aux contraintes mécaniques (152).

La titine (ou connectine) est une protéine géante de 3000 kDa qui traverse la moitié de chaque sarcomère, du disque Z (extrémité N-terminale) au disque M (extrémité C-terminale). La titine crée un troisième filament qui parcourt toute la longueur des myofibrilles. Elle est fixée aux disques Z par l'intermédiaire d'une protéine de coiffe, T-cap (ou téléthonine). T-cap est ancrée à l'alpha-actinine des disques Z par l'intermédiaire d'une protéine de liaison MLP (muscle LIM protein). De plus, la titine se fixe directement aux protéines des disques M et aux myofilaments (153). Les disques Z, la titine et les disques M sont les piliers de la mécanotransmission myofibrillaire. Ils transmettent les forces mécaniques et maintiennent les myofilaments en place pendant les contractions.

La titine est composée d'une portion flexible et élastique au niveau de la bande I et d'une portion plus rigide au niveau de la bande A. La portion rigide maintient les filaments épais en place dans le sarcomère. La portion élastique confère à la titine les propriétés d'un ressort bidirectionnel. La titine emmagasine de l'énergie potentielle en télé-relaxation et en télé-contraction et la restitue sous forme d'énergie mécanique pendant les contractions et relaxations suivantes (**Figure 20**).

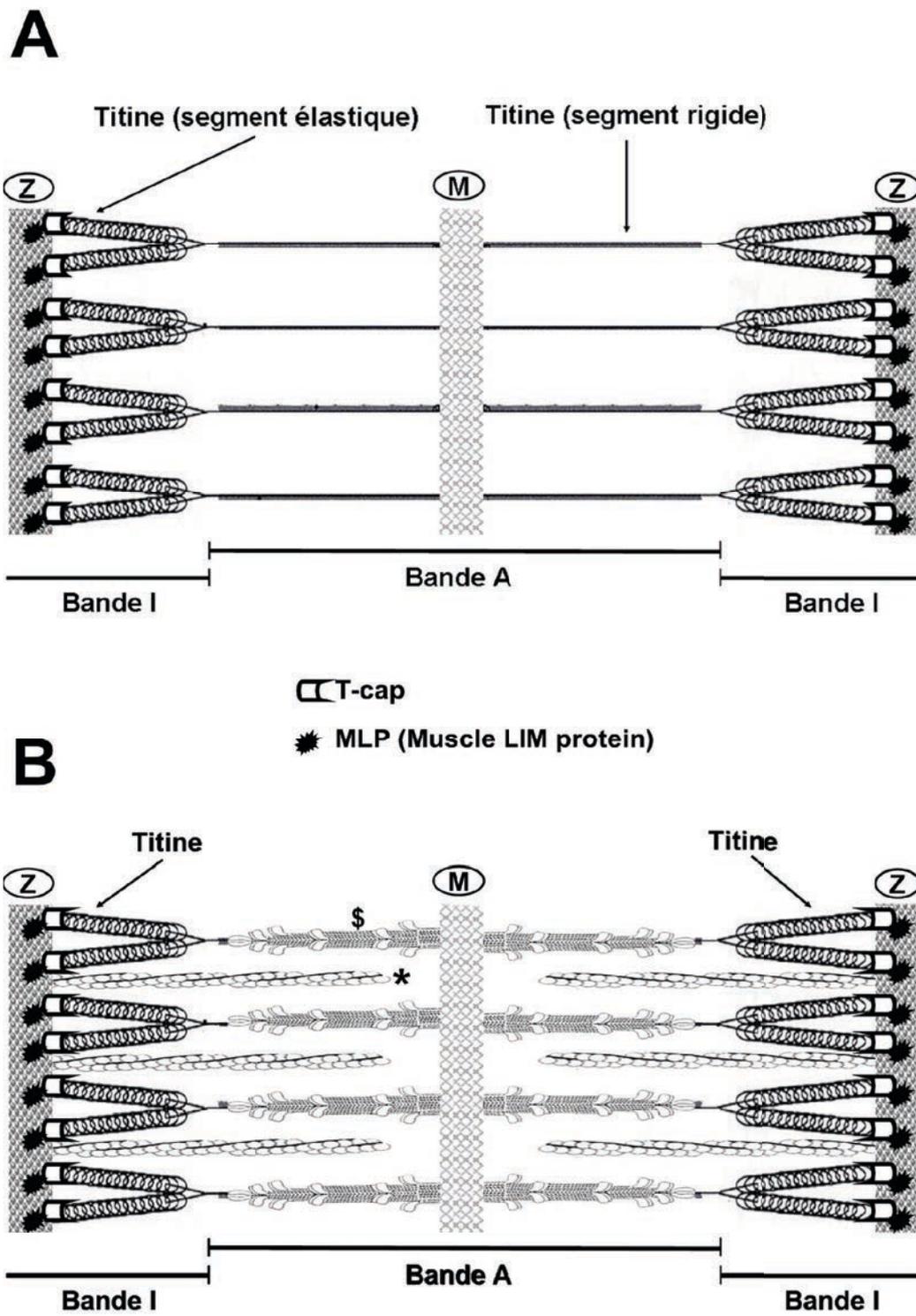


Figure 20. Représentation schématique des structures de mécanotransmission intramyofibrillaire : titine, disques Z et M. A/ Représentation des systèmes de mécanotransmission au sein d'un sarcomère sans les myofilaments. B/ Représentation des systèmes de mécanotransmission au sein d'un sarcomère avec les myofilaments : * filament fin d'actine ; \$ filament épais de myosine. D'après Katz et Opie (1,120).

Il existe deux composantes de la force générée par les myofibrilles : la force dépendante des interactions actine-myosine (« force active ») et la force indépendante de ces interactions (« force passive »). La titine est indispensable au phénomène décrit par la loi dite de Frank-Starling, c'est-à-dire l'augmentation de la force de contraction du cœur induite par l'augmentation de sa précharge (121,123). La titine permet l'augmentation du chevauchement et le rapprochement de l'actine et des têtes de myosine lors de l'étirement des sarcomères et ainsi l'augmentation de la force active développée par les myofilaments (154–156).

La titine et la matrice extracellulaire sont responsables de la majorité de la force passive des cardiomyocytes et du myocarde. La force passive générée en télé-contraction favorise l'initiation de la relaxation (157,158). Les forces générées par la titine permettent également de maintenir la bande A au centre des sarcomères (159). Chez les gros mammifères, la titine est responsable de 90% de la force passive alors que chez les petits mammifères elle n'est responsable que de 50% (160).

Trois segments différents confèrent à la portion élastique de la titine ses propriétés mécaniques : le segment N2B-N2A, le segment PEVK et un segment composé de la répétition de structures analogues aux immunoglobulines. Le muscle cardiaque se compose de deux isoformes de titine. L'isoforme N2B plus courte et plus rigide se compose d'un segment N2B et d'un segment PEVK raccourci. L'isoforme N2BA plus longue et plus compliant se compose d'un segment N2B, d'un segment N2A et d'un segment PEVK allongé. Les ventricules des gros mammifères contiennent les deux isoformes à part égale alors que les ventricules des petits mammifères sont composés essentiellement de titine N2B plus rigide (160). Les propriétés élastiques de la titine sont régulées par la phosphorylation des segments N2B et PEVK. La phosphorylation de PEVK par la PKC augmente la rigidité de la titine (161) alors que la phosphorylation du segment N2B par la PKA ou la PKG la diminue (162,163).

Les formes rigides de la titine favorisent la contraction et la précharge dépendance des myofibrilles au détriment de la relaxation. Les formes plus souples améliorent la relaxation et la compliance (164,165).

Les disques Z sont des structures rigides d'environ 100 nm d'épaisseur localisées de part et d'autre de chaque sarcomère. Les disques Z sont principalement constitués de l'enchevêtrement de molécules d'alpha-actinine 2. Les myofilaments fins sont ancrés aux disques Z par l'intermédiaire de la Cap-Z. La MLP fixe l'alpha-actinine à la titine via la T-cap (166). Les disques Z permettent la transmission des forces mécaniques entre les sarcomères tout le long des

myofibrilles. Les disques Z abritent de nombreuses protéines de liaison qui consolident la structure et qui régulent de nombreuses voies de signalisation. Les déformations mécaniques de protéines comme MLP (166–169), ALP (actinin-associated LIM protein) (170,171), FHL-2 (4,5 LIM protein-2) (172), ZASP et FATZ (6) régulent la croissance et l'architecture cellulaire (**Tableau 7**).

Les disques M se composent essentiellement de myoméline et de MyBP-M. Les disques M maintiennent l'alignement latéral des myofilaments épais pendant la contraction (159). La queue des myosines et la titine sont directement ancrées sur la myoméline et la MyBP-M des disques M (173).

En plus des protéines de structure, les disques M logent différentes enzymes destinées à la production d'ATP ainsi que des protéines de régulation de la signalisation intracellulaire. La production locale d'ATP est assurée principalement par la créatine phosphokinase musculaire (CPK-MM), l'adenylate kinase et la phosphofruktokinase (159). Ces enzymes assurent le renouvellement local de l'ATP indispensable à la contraction des myofilaments (174). Les disques M abritent également des protéines de mécanotransduction comme la FHL-2 et l'obscureine (159) (**Tableau 7**).

Tableau 7. Principales protéines constituant les disques Z et M des myofibrilles.

Fonction	Disque Z	Disque M
Protéines de structure	-Alpha-actinine -Cap-Z -T-cap -Muscle LIM Protein (MLP)	-Myoméline -Myosin binding protein-M (MyBP-M)
Protéines de mécanotransduction	-Muscle LIM Protein (MLP) -4,5 LIM Protein-2 (FHL-2) -Actinin associated LIM Protein (ALP) -Protéines ZASP-P et FATZ	-4,5 LIM Protein-2 (FHL-2) -Obscureine
Enzymes		-Créatine phosphokinase musculaire (CPK-MM) -Adenylate kinase -Phosphofruktokinase

Certains microtubules sont situés à l'intérieur des faisceaux de myofibrilles parallèlement aux myofilaments. Le rôle physiologique de ces microtubules n'est pas encore bien démontré. Ils pourraient d'une part consolider l'architecture des myofibrilles face à certaines contraintes mécaniques mais d'autre part freiner les mouvements des sarcomères en augmentant la viscosité locale (52,175,176). Les microtubules pourraient également participer à la synthèse des myofilaments. Leur localisation intra- et péri-sarcomérique leur permettrait de positionner certaines protéines du sarcomère et de servir de tuteur aux myofibrilles (44,69,177).

Les filaments intermédiaires de desmine sont situés en périphérie des sarcomères et semblent peu impliqués dans le fonctionnement interne des myofibrilles (178).

II.3. SYSTEMES DE MECANOTRANSMISSION EXTRAMYOFIBRILLAIRE.

La contraction des cardiomyocytes nécessite la fixation des myofibrilles entre elles et à l'ensemble des structures intracellulaires. Le cytosquelette cytosolique connecte les myofibrilles au sarcolemme, le sarcolemme latéral à la matrice extracellulaire et le sarcolemme longitudinal aux cardiomyocytes adjacents. Les connexions réalisées par le cytosquelette cytosolique permettent la contraction homogène des cardiomyocytes et du myocarde.

Les disques Z sont les clefs de voute de la transmission des forces générées par les myofibrilles au reste de la cellule. Les disques Z sont fixés au sarcolemme et aux membranes des organites via des protéines du cytosquelette extra-sarcomérique. La transmission des contraintes des myofibrilles aux organites, au sarcolemme, aux cellules adjacentes et à tout le myocarde repose sur des fixations longitudinales et latérales des disques Z.

Trois structures assurent la mécanotransmission cytosolique des cardiomyocytes : les disques intercalaires, les collets de desmine et les costamères. Les disques intercalaires composés d'actine, de desmine et de tubuline fixent l'extrémité des myofibrilles au sarcolemme longitudinal et connectent les cardiomyocytes entre eux. Les collets de desmine assurent les connexions entre les myofibrilles et maintiennent leur organisation en faisceaux parallèles. Les costamères sont des complexes protéiques composés d'actine cytoplasmique qui attachent les faisceaux de myofibrilles au sarcolemme latéral et à la matrice extracellulaire. La fixation du

sarcolemme à la matrice extracellulaire et les connexions entre les cardiomyocytes permettent l'organisation du myocarde en syncytium.

Les disques intercalaires sont des complexes moléculaires transmembranaires qui connectent les cardiomyocytes les uns aux autres. Les disques intercalaires contiennent des jonctions communicantes, des jonctions adhérentes et des desmosomes. Les jonctions communicantes permettent le passage de courants électriques d'un cardiomyocyte à un autre. Les jonctions adhérentes et les desmosomes connectent les extrémités des myofibrilles au sarcolemme longitudinal et à la cellule voisine. Ce sont les jonctions adhérentes et les desmosomes qui permettent la transmission des forces mécaniques entre les cellules contractiles.

Les jonctions adhérentes (*fasciae adherens*) sont des complexes moléculaires situés dans les disques intercalaires qui se composent d'une protéine transmembranaire de la famille des cadhérines (N-cadhérine) et de nombreuses protéines sous membranaires. Les N-cadhérines fixent leurs homologues de la cellule adjacente. Les caténines α , β et γ lient le domaine intracellulaire des cadhérines à l'alpha-actinine et à la vinculine qui s'ancrent aux extrémités des myofilaments d'actine. Les jonctions adhérentes attachent ainsi les extrémités des myofibrilles au sarcolemme longitudinal et au cardiomyocyte adjacent (6). L'allongement des myofibrilles par l'assemblage de nouveaux sarcomères en série a lieu au niveau des jonctions adhérentes (179) (**Figure 21**).

Les desmosomes sont des complexes moléculaires situés dans les disques intercalaires qui se composent de deux protéines transmembranaires de la famille des cadhérines (desmogléine et desmocolline) et de quelques protéines sous membranaires. Les cadhérines fixent leurs homologues de la cellule adjacente. La caténine γ (plakoglobine) et la plakophiline lient le domaine intracellulaire des cadhérines à la desmoplakine qui s'ancre aux extrémités des filaments intermédiaires de desmine (96,98). Les jonctions adhérentes attachent ainsi le réseau de desmine et les costamères au sarcolemme longitudinal et au cardiomyocyte adjacent (**Figure 21**).

Les jonctions communicantes réalisent une connexion chimique entre les cytosols de cardiomyocytes adjacents. La connexion intercellulaire est réalisée par des protéines transmembranaires organisées en cylindres creux, les connexines. Les microtubules se fixe à la connexine-43 au niveau des jonctions communicantes (54). L'intégrité des jonctions communicantes pourrait dépendre des microtubules (180).

Certaines molécules des disques intercalaires consolident la structure et régulent les voies de signalisation intracellulaire. La déformation de protéines comme ZASP ou N-RAP régule la croissance et l'architecture cellulaire (6).

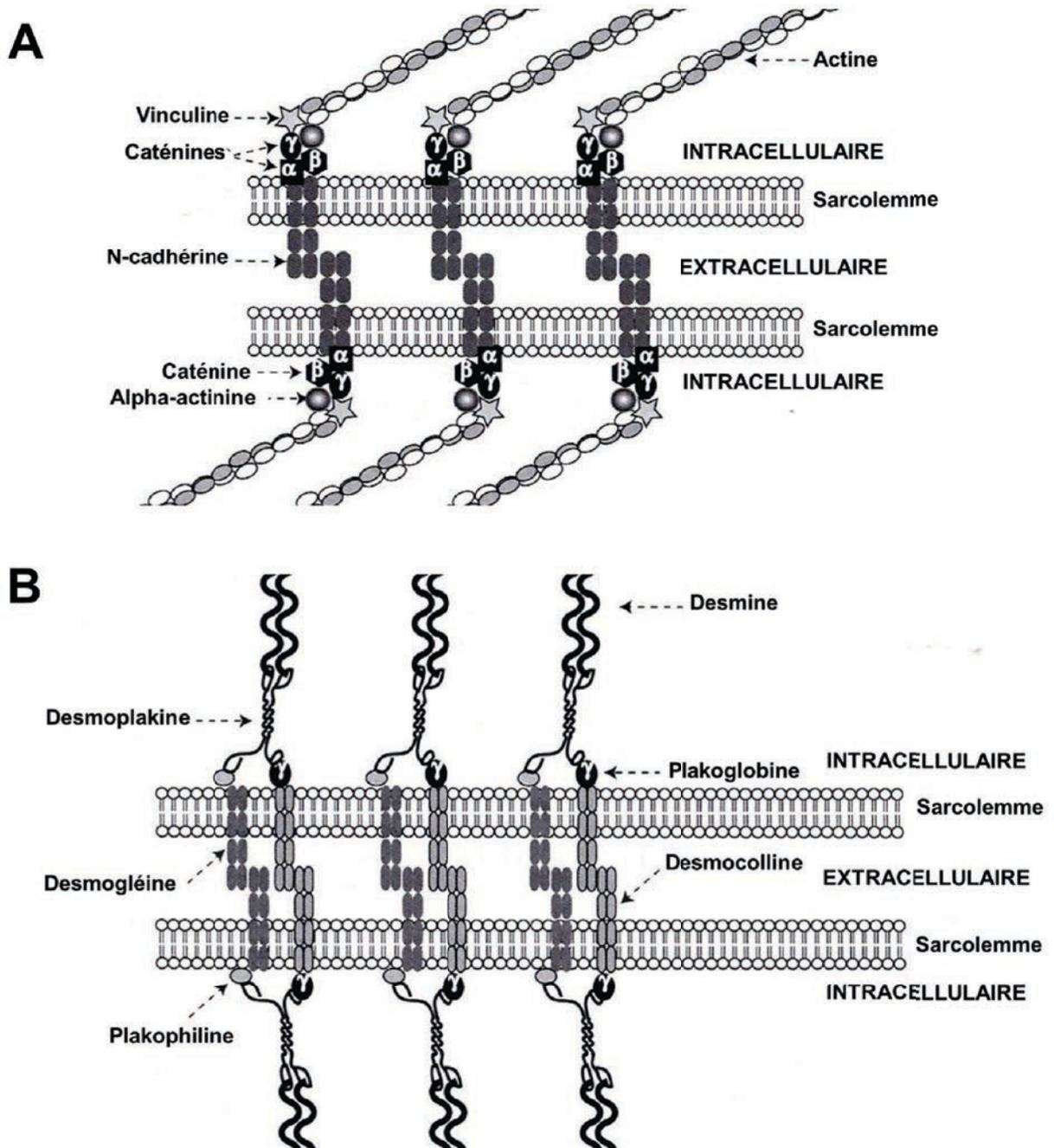


Figure 21. Représentations schématiques des systèmes de mécanotransmission des disques intercalaires. A/ Jonctions adhérentes. B/ Desmosomes. D'après Katz (1).

Les collets de desmine encerclent des groupes de myofibrilles au niveau des disques Z. Ces cerclages lient les myofibrilles adjacentes en faisceaux ou en fagots et transmettent les forces mécaniques entre les myofibrilles. Les collets sont composés de desmine et d'alpha-actinine. Ces anneaux d'alpha-actinine et de desmine sont les points de fixation des costamères aux disques Z (94) (**Figure 22**). Les faisceaux de myofibrilles sont également enveloppés d'un maillage cylindrique de desmine qui maintient leur alignement latéral (95). Le maintien des faisceaux de myofibrilles par la desmine est essentiel à la contraction du myocarde (178).

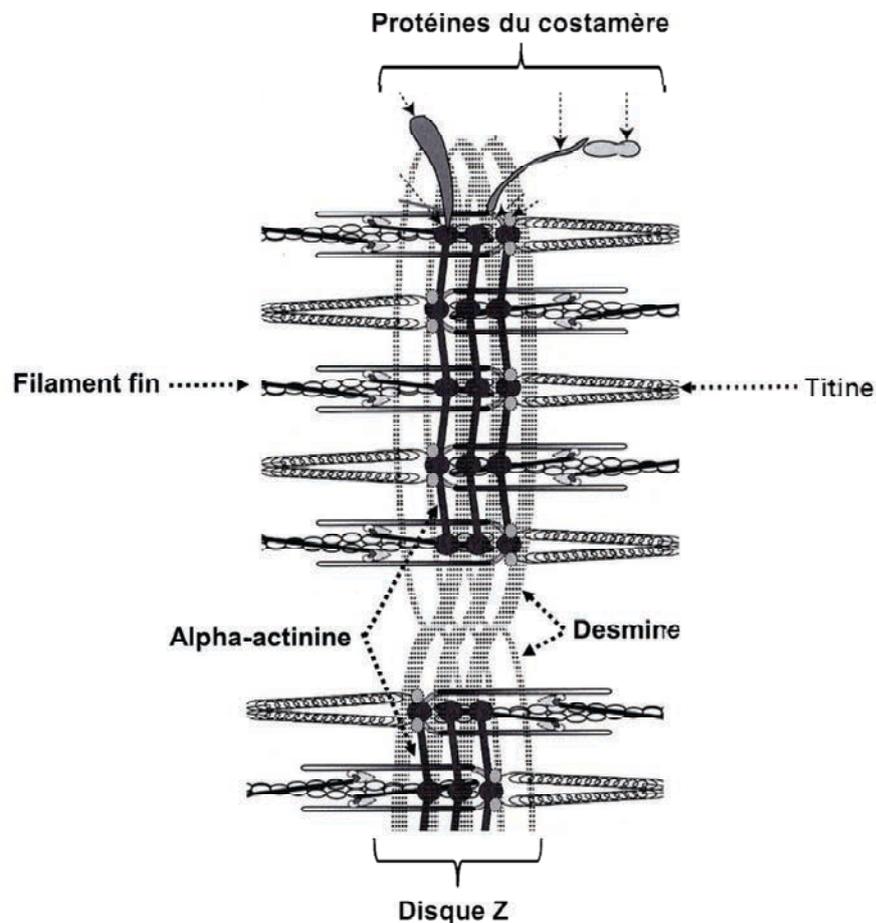


Figure 22. Représentation schématique des connexions latérales des myofibrilles au niveau du disque Z. D'après Katz (1).

Les costamères sont des structures protéiques d'allure striée perpendiculaires au sarcolemme latéral des cardiomyocytes. Les costamères connectent les collets des myofibrilles au sarcolemme latéral. L'actine gamma cytoplasmique est la clé de voute des costamères (35). La plupart des protéines des costamères sont des protéines de liaison de l'actine comme l'alpha-

actinine, la vinculine, la taline, la dystrophine et la spectrine (181–183). L'alpha-actinine et la desmine des collets situés en périphérie des disques Z sont amarrées à l'actine gamma cytoplasmique (**Figure 23**). Les costamères sont constitués de complexes de la dystrophine, de complexes d'adhésion focale et de complexes de la spectrine. La déformation des protéines associées à ces complexes régulent les voies de signalisation des cardiomyocytes, modifient les fonctions cellulaires et l'expression des gènes (183–187).

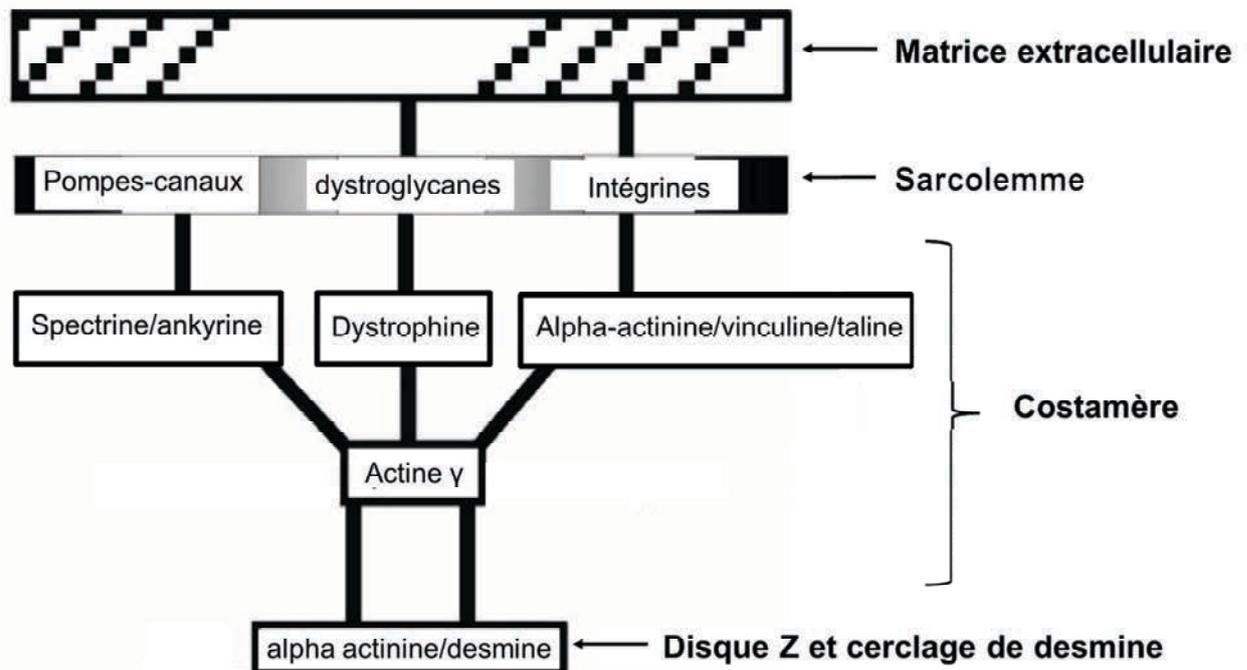


Figure 23. Organisation schématique d'un costamère. D'après Rybakova et al. (35).

Les complexes associés à la dystrophine sont composés d'un complexe glycoprotéique transmembranaire et d'une protéine sous-membranaire la dystrophine. Le complexe glycoprotéique associé à la dystrophine contient des dystroglycanes, des sarcoglycanes, la dystrobrevine, des syntrophines, la cavéoline-3 et le sarcospane (188). Le complexe glycoprotéique lie le sarcolemme latéral des cardiomyocytes à la lame basale de la matrice extracellulaire. La dystrophine lie le complexe glycoprotéique à l'actine gamma. Les complexes glycoprotéiques associés à la dystrophine lient les disques Z au sarcolemme latéral et à la matrice extracellulaire (35) (**Figure 24**).

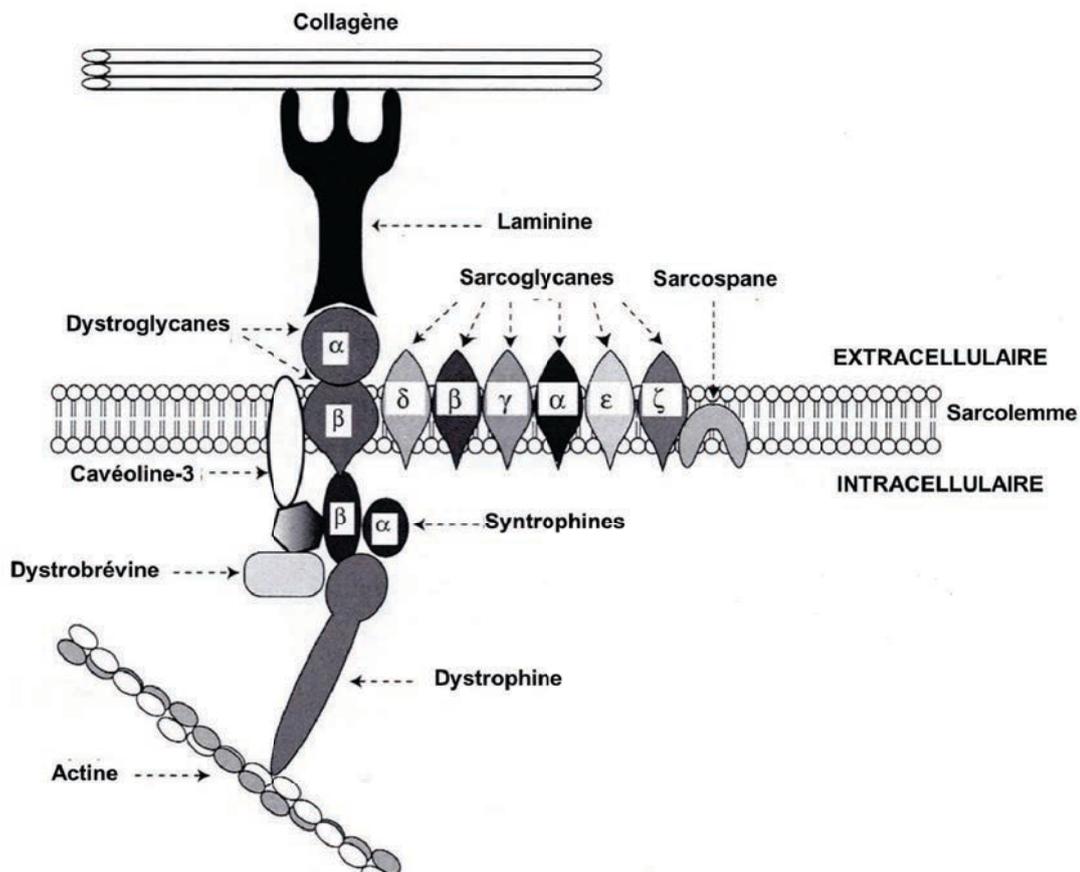


Figure 24. Organisation schématique d'un complexe de la dystrophine. D'après Katz (1).

Les complexes d'adhésion focale sont composés d'hétérodimères transmembranaires de la famille des intégrines et d'un complexe protéique sous membranaire principalement composé de taline, de vinculine et d'alpha-actinine. Les intégrines lient le sarcolemme latéral des cardiomyocyte à la lame basale de la matrice extracellulaire. Ainsi, les complexes d'adhésion focale lient les disques Z au sarcolemme latéral et à la matrice extracellulaire (5) (**Figure 25**).

Les complexes sous-membranaires de la spectrine sont principalement composés de spectrine, d'anhydrines et de protéine 4,1. La spectrine n'est pas localisée exclusivement au niveau des costamères. La spectrine est présente également dans les disques intercalaires, de manière diffuse à la face interne du sarcolemme et à la face externe des organelles (189). Ces protéines sous membranaires lient les récepteurs, les pompes et les canaux ioniques du sarcolemme et des organelles aux microfilaments d'actine et aux microtubules (186,190,191) (**Figure 26**). Les tensions exercées sur le cytosquelette modifient la signalisation, les flux ioniques transmembranaires et le potentiel d'action des cardiomyocytes (186,187,192).

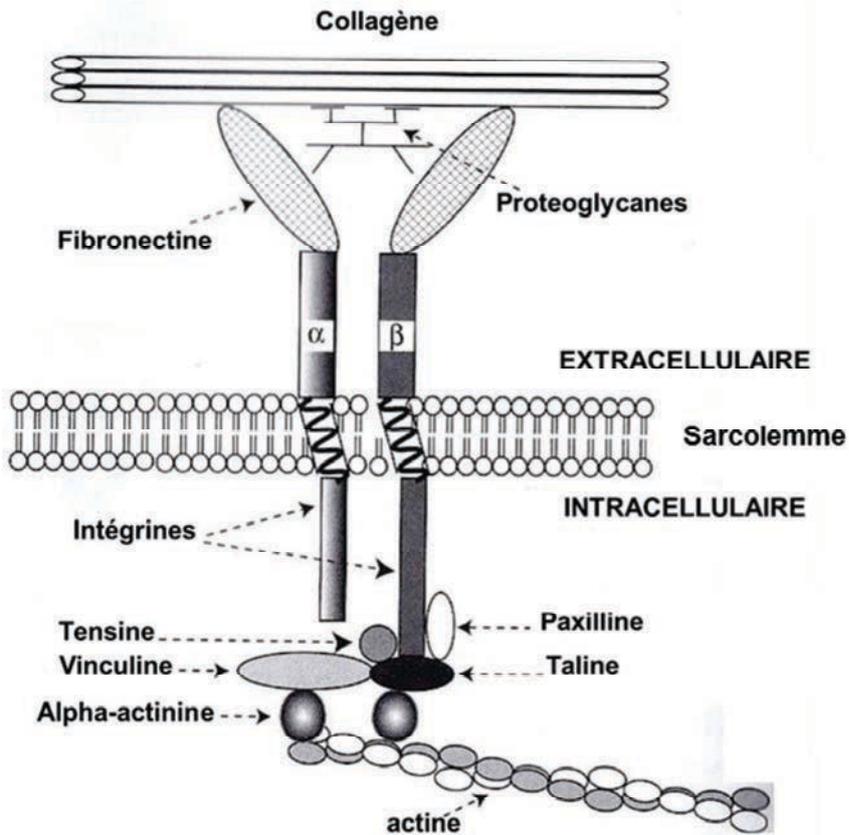


Figure 25. Organisation schématique d'un complexe d'adhésion focale. D'après Katz (1).

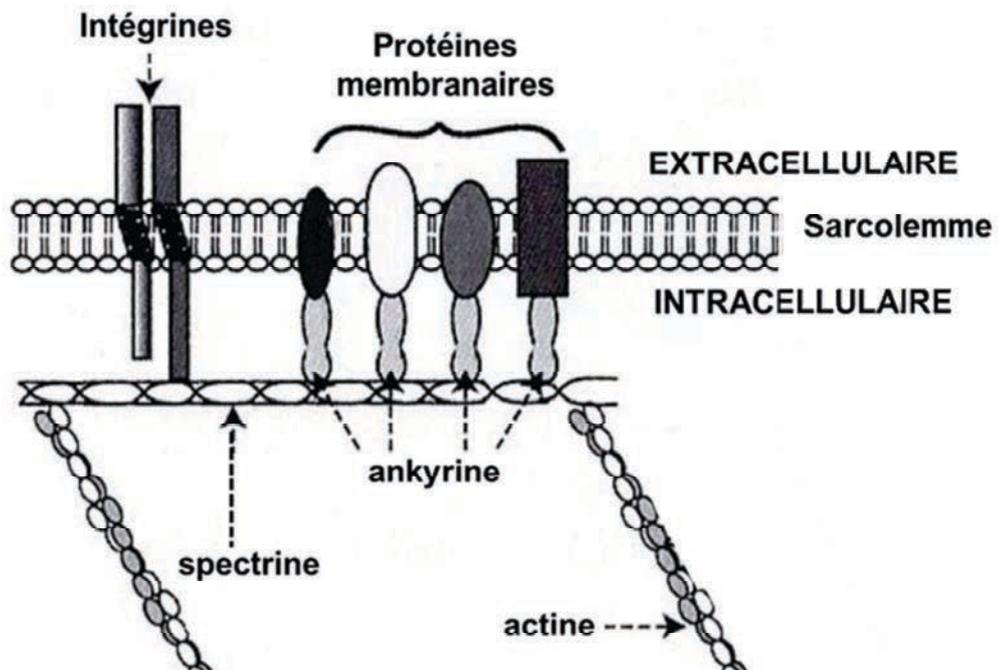


Figure 26. Organisation schématique d'un complexe sous membranaire de la spectrine. D'après Katz (1).

Les noyaux des cardiomyocytes sont entourés d'une enveloppe ancrée au cytosquelette. Cette enveloppe permet de positionner le noyau, de contrôler les mouvements des chromosomes et la division cellulaire. L'enveloppe nucléaire est constituée de deux membranes. La membrane nucléaire externe est en continuité avec la membrane du réticulum endoplasmique. La membrane interne est au contact de la matrice nucléaire et de la chromatine. Les membranes nucléaires interne et externe fusionnent au niveau des pores nucléaires. La matrice nucléaire est située sous la membrane nucléaire interne. Les filaments intermédiaires de lamine sont les principaux constituants de la matrice nucléaire.

Des protéines transmembranaires comme l'émerine les nesprines et les complexes SUN-nesprines relient la matrice nucléaire au cytosquelette cytoplasmique. L'émerine se connecte à la fois aux microfilaments et aux microtubules. Le complexe SUN-nesprine se connecte soit directement aux microfilaments, soit par l'intermédiaire de la plectine aux microtubules et aux filaments de desmine (**Figure 27**). Les filaments intermédiaires relient les disques Z des myofibrilles périnucléaires à la membrane nucléaire (92).

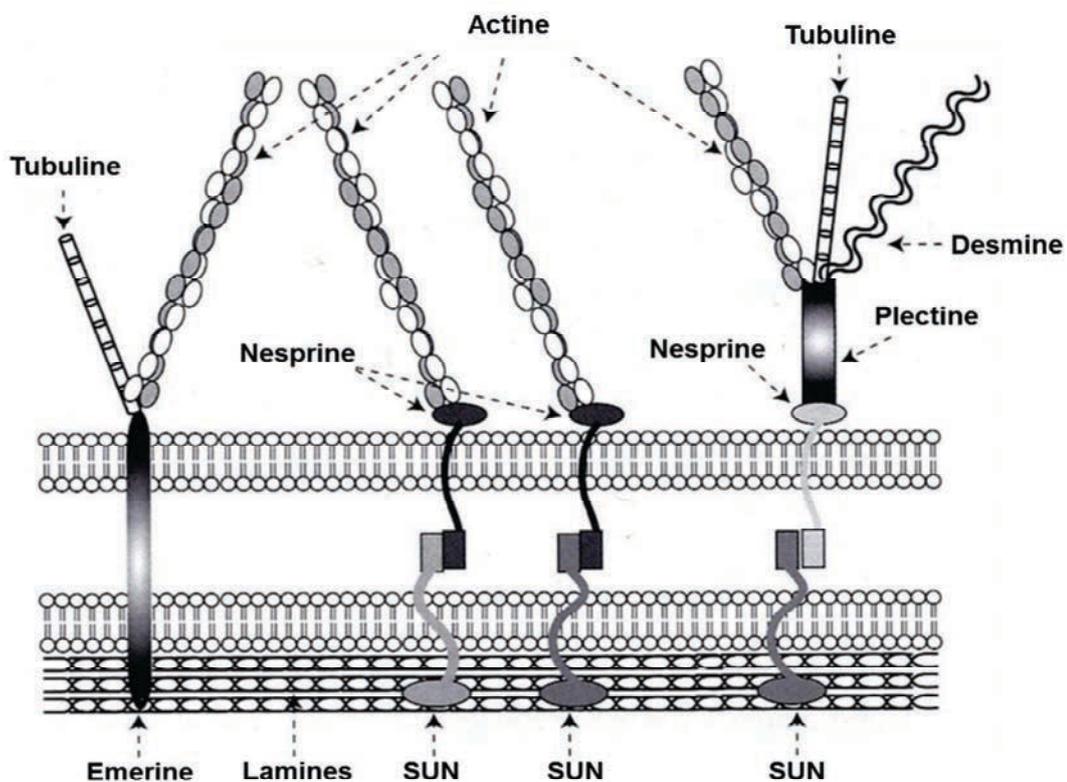


Figure 27. Représentation schématique d'un complexe de fixation nucléo-cytoplasmique. D'après Katz (1).

Les lamines, l'émerine, les nesprines et les complexes SUN-nesprines sont les principaux constituants du complexe de fixation nucléo-cytoplasmique. Les réseaux de desmine et les complexes de fixation nucléo-cytoplasmique forment un continuum intracellulaire qui permet de lier solidement le noyau au sarcolemme et aux myofibrilles (193). Les contraintes mécaniques de toute la cellule sont transmises au noyau tout en préservant l'intégrité de ses enveloppes (116,194). La déformation des protéines nucléaires par les contraintes mécaniques modifie la conformation de la chromatine et l'expression des gènes (195–197). De plus, la transmission des contraintes au réticulum endoplasmique périnucléaire régule l'expression protéique en aval (198,199). Les déformations de la chromatine et du réticulum endoplasmique permettent une adaptation continue de la synthèse protéique aux contraintes mécaniques exercées sur les cardiomyocytes.

II.4. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LE COUPLAGE EXCITATION-CONTRACTION-RESPIRATION DES CARDIOMYOCYTES.

Il existe un couplage entre l'excitation électrique des cardiomyocytes, les flux calciques intracellulaires, la contraction des myofibrilles et la respiration mitochondriale. Ce couplage excitation-contraction-respiration nécessite le rapprochement de certaines portions du sarcolemme avec les myofibrilles, le réticulum sarcoplasmique et les mitochondries. Différents microdomaines assurent la coordination de ces structures. Le cytosquelette maintient l'architecture et la fonction de ces microdomaines malgré les agressions mécaniques répétées induites par les contractions (3).

II.4.a. Implication du cytosquelette dans le couplage excitation-contraction.

L'excitation électrique des cardiomyocytes à l'origine de la contraction des cardiomyocytes est nommée potentiel d'action. Au début du potentiel d'action les canaux sodiques sarcolemmaux s'ouvrent et permettent l'entrée de sodium dans les cardiomyocytes. La dépolarisation induite par le courant sodique entrant active les canaux calciques lents du sarcolemme (DHPR, dihydropyridine receptor) et permet l'entrée de calcium dans les cardiomyocytes. Les tubules

transverses ou tubules-T sont des invaginations du sarcolemme qui pénètrent dans les cardiomyocytes en regard des disques Z et M. Les tubules-T créent des espaces anatomiques de rapprochement entre le sarcolemme et le réticulum sarcoplasmique de 500 à 1000 nm de large (200) (**Figure 28**). Différents domaines fonctionnels de 10 à 50 nm de large existent aux niveaux de ces zones de rapprochement (201). Les DHPR forment ainsi des diades avec les récepteurs à la ryanodine du réticulum sarcoplasmique (RYR, ryanodine receptor).



Figure 28. Zones de contact entre deux tubules-T et le réticulum sarcoplasmique dans l'espace interfibrillaire d'un myocyte de quadriceps de souris. Sr (réticulum sarcoplasmique), t (tubule transverse), z (disque z). D'après Tuvia et al. (202).

La diade DHPR-RYR favorise la sortie brutale de calcium de RYR induite par l'entrée de calcium à travers DHPR au cours de la dépolarisation des cardiomyocytes (203). La diade facilite l'homogénéité de l'entrée du calcium dans le cytosol des cardiomyocytes au cours de la dépolarisation et ainsi l'homogénéité de la contraction des myofibrilles (204–206). Les tubules-T facilitent la coordination spatiale et temporelle de DHPR et RYR (207,208). L'étincelle calcique de très courte durée produite par l'ouverture de RYR 2 à 3 ms après l'ouverture de DHPR entraîne l'augmentation de la concentration de calcium de 10 à 7000 μM au sein de la diade. Malgré les puissants systèmes tampons du cytosol, le calcium diffuse selon un gradient de

concentration dans l'espace sous membranaire, jusqu'au cytosol. Au contact des myofibrilles, la concentration de calcium libre passe ainsi de 0,1-0,2 μM à 0,5-3 μM (209). Environ 29 % du calcium cytosolique provient de DHPR et 70 % de RYR (210). La concentration de calcium nécessaire pour saturer 50% de la troponine C étant de l'ordre de 0,6 μM , le calcium se lie à la troponine C et provoque une contraction des myofibrilles proportionnelle à la concentration en calcium. L'excitation électrique du cardiomyocyte est ainsi couplée à la contraction des myofibrilles (**Figure 29**).

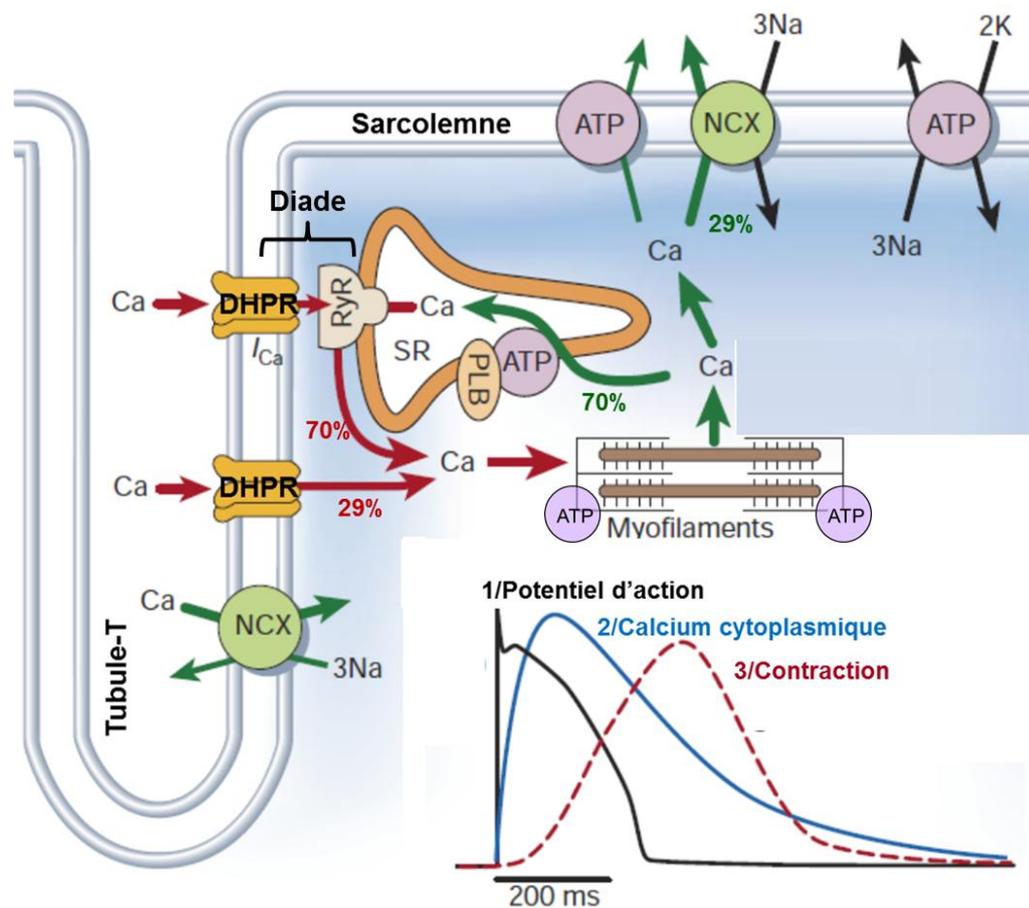


Figure 29. Schéma général simplifié du couplage excitation-contraction dans un cardiomyocyte. DHPR (récepteur aux dihydropyridines), RYR (récepteur à la ryanodine), RS réticulum sarcoplasmique, ATP (ATPase), PLB (phospholamban), NCX (échangeur sodium calcium). D'après Bers (203).

Le couplage excitation-contraction des cardiomyocytes nécessite le maintien dans un espace clos des tubules-T, du réticulum et des myofibrilles. Les microfilaments et les microtubules

fixent les tubules-T au réticulum sarcoplasmique alors que les costamères maintiennent les myofibrilles à proximité.

Les microfilaments sont ancrés aux tubules-T ainsi qu'au réticulum sarcoplasmique et consolident les diades par l'intermédiaire de protéines de liaison de l'actine comme la dystrophine (181,211), l'alpha-actinine (212), la protéine Ahnak (213) et les complexes de la spectrine (186,189–191). L'état de polymérisation de l'actine modifie l'architecture de tubules-T (214,215).

D'une manière générale, ni l'hyperpolymérisation des microfilaments par la phalloïdine ni leur dépolymérisation par la cytochalasine-D n'ont d'effet sur la libération calcique de DHPR dans des cardiomyocytes ventriculaires de rats (216) ou de cochons d'Inde (217). Alors que la polymérisation de l'actine semble avoir peu d'effets directs sur le fonctionnement de DHPR, plusieurs études démontrent son implication dans la modulation des voies de signalisation qui régulent DHPR. La transmission des contraintes mécaniques par les microfilaments modifie la signalisation intracellulaire. Dans différents modèles de cardiomyocytes isolés l'état de polymérisation des microfilaments modifie la régulation de DHPR par les voies de signalisation des systèmes sympathique et parasympathique (218,219). De plus, l'activation de DHPR par la calmoduline kinase est abolie par la dépolymérisation de l'actine (220).

Certaines études suggèrent que l'état de polymérisation de l'actine pourrait modifier l'activité de RYR ou altérer son couplage avec DHPR. Dans un modèle de cardiomyocytes ventriculaires de rats, la dépolymérisation de l'actine entraîne une diminution du transitoire calcique avec un ralentissement de l'augmentation du calcium intracellulaire suggérant une altération du fonctionnement de RYR (216). L'effet de la dépolymérisation pourrait être induit soit par un découplage physique entre le réticulum sarcoplasmique et les tubules-T, soit par une inhibition directe de RYR. Dans un modèle de cardiomyocytes ventriculaires de rats, Davani et al suggèrent que l'hyperpolymérisation de l'actine cytosolique entraîne une inhomogénéité de la libération calcique par RYR et un allongement du transitoire calcique sans modification de la concentration cytosolique en calcium (221) (**Tableau 8**).

Des microtubules sont localisés à proximité des tubules-T et du réticulum sarcoplasmique au niveau des diades. Les microtubules se trouvent à moins de 14 nm de chacune de ces structures (222). Les complexes de la spectrine sont des points d'ancrage potentiels des microtubules au réticulum et aux tubules-T (186).

Il semble que les modifications de la polymérisation des microtubules aient peu (217) ou pas d'effet direct sur le fonctionnement de DHPR ou de RYR (192,223). Comme les microfilaments, les microtubules pourraient agir sur certaines voies de signalisation qui régulent l'activité de DHPR. Dans différents modèles de cardiomyocytes isolés les microtubules modifient la régulation de DHPR par les voies de signalisation des systèmes sympathique et parasympathique (192,224). De plus, l'activation de DHPR par la calmoduline kinase est abolie par le nocodazole (220).

Plusieurs études démontrent que les microtubules sont impliqués dans la transmission des contraintes mécaniques aux tubules-T et au réticulum. L'étirement des cardiomyocytes serait transmis aux diades et faciliterait alors l'ouverture de RYR. Toute modification de l'état de polymérisation des microtubules modifie le couplage entre DHPR et RYR. L'hyperpolymérisation des microtubules par le taxol entraîne une diminution de l'activation de RYR et une réduction du transitoire calcique (225). Leur dépolymérisation par la colchicine abolie l'augmentation de la fréquence des étincelles calciques induite par l'étirement des cardiomyocytes (222) (**Tableau 8**).

La relaxation des myofibrilles commence par la séparation du calcium de la troponine-C et son retour dans le cytosol. L'ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA, sarco-endoplasmic réticulum calcium ATPase) et l'échangeur sodium/calcium du sarcolemme (NCX) font sortir le calcium du cytosol jusqu'à une concentration de l'ordre de 0,1-0,2 μM (209). Le calcium cytosolique entre à 70% dans le réticulum sarcoplasmique par SERCA-2 et sort à 29 % dans le milieu extracellulaire par NCX-1 (210) (**Figure 29**).

SERCA est localisé tout le long du réseau du réticulum sarcoplasmique en dehors des zones où se trouve RYR. SERCA et son inhibiteur le phospholamban sont particulièrement denses à la surface du réticulum en regard des bandes A des sarcomères (226). Le duo obscurine-petite ankyrine attache les disques M des myofibrilles au réticulum sarcoplasmique. L'obscurine se fixe à la titine et à la nébulette alors que l'ankyrine se fixe à la membrane du réticulum sarcoplasmique. Ceci permet de maintenir le réticulum sarcoplasmique au contact des myofibrilles, de faciliter l'accès des myofilaments au calcium et de faciliter le pompage calcique par le réticulum (227). Les microfilaments d'actine-gamma participent également à l'amarrage du réticulum sarcoplasmique aux myofibrilles. L'actine-gamma connecte l'alpha-actinine des disques Z à la petite ankyrine par l'intermédiaire de la tropomoduline cytosolique (227). Aucun élément ne semble connecter directement SERCA aux filaments du cytosquelette (**Figure 30**).

NCX est situé sur toute la surface du sarcolemme et au sein des tubules-T. Les NCX sont connectés aux microfilaments cytosoliques par l'intermédiaire du complexe de la spectrine (228) (Figure 26).

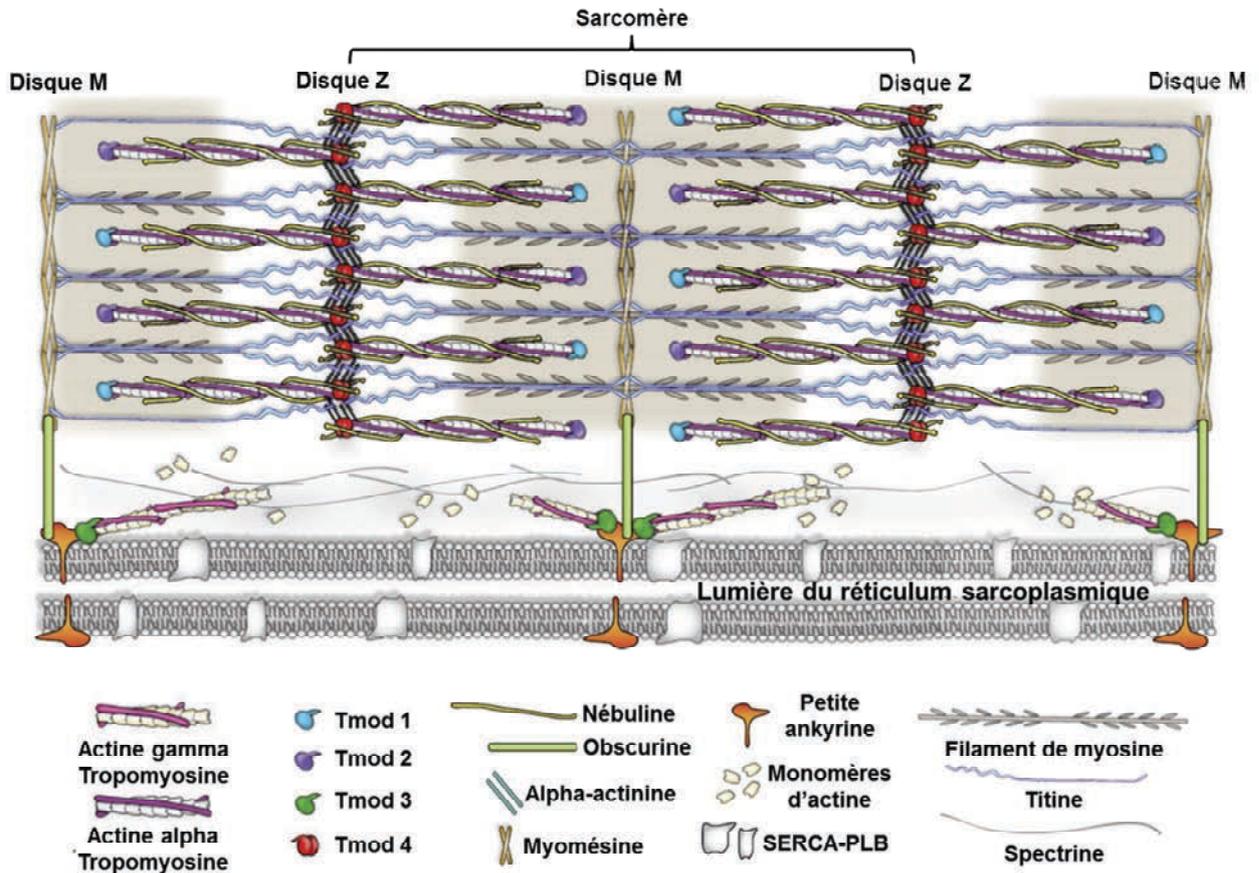


Figure 30. Schéma général de la fixation d'une myofibrille au réticulum sarcoplasmique dans un myocyte squelettique. Tmod (tropomoduline), SERCA-PLB (sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase-phospholamban). D'après Gokhin et al. (227).

Dans un modèle de cardiomyocytes ventriculaires de rats, la dépolymérisation de l'actine entraîne une diminution du transitoire calcique avec un ralentissement de la diminution du calcium intracellulaire suggérant une altération du fonctionnement de SERCA ou du NCX (216). L'effet de la dépolymérisation pourrait être induit soit par un découplage physique entre le réticulum sarcoplasmique, les tubules-T et les myofibrilles, soit par une inhibition directe de SERCA ou du NCX (Tableau 8).

Tableau 8. Implication du cytosquelette dans la régulation du couplage excitation-contraction.

	Microfilaments	Microtubules
Régulation de la localisation et de l'architecture des tubules-T	+	?
Régulation directe de DHPR	-	-
Modulation des voies de régulation de DHPR	+	+
Régulation de RYR ou du couplage DHPR-RYR	+	+
Régulation de la recapture calcique par SERCA ou NCX	+	?

DHPR (récepteur aux dihydropyridines), RYR (récepteur à la ryanodine), SERCA (ATPase du réticulum sarcoplasmique), NCX (échangeur sodium/calcium du sarcolemme).

II.4.b. Implication du cytosquelette dans la respiration mitochondriale et la production énergétique.

Lorsque le corps est au repos les battements cardiaques nécessitent la production et le transport d'une grande quantité d'énergie sous forme d'ATP. Les réserves en ATP sont faibles et la production énergétique doit être continue. De plus, la production d'ATP s'adapte en permanence au travail cardiaque (229). Les mitochondries produisent 90% de l'ATP et sont localisées au contact des principaux sites de consommation : les myofilaments (myosine ATPase), les tubules-T (Na/K ATPase) et le réticulum sarcoplasmique (SERCA) (**Figure 31**).

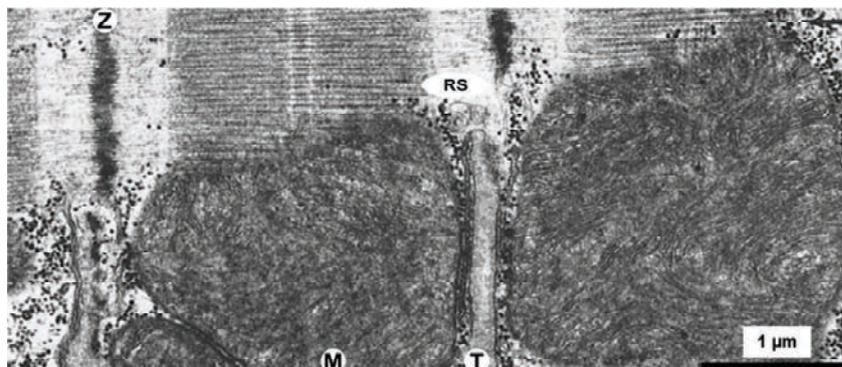


Figure 31. Mitochondries interfibrillaires au contact des myofilaments, des tubules-T et du réticulum sarcoplasmique dans un cardiomyocyte canin. RS (réticulum sarcoplasmique), T (tubule transverse), Z (disque Z), M (mitochondrie). D'après Goldstein et al. (44).

L'énergie issue des mitochondries est acheminée jusqu'aux sites consommateurs : 2/3 sous forme de créatine-phosphate et 1/3 directement sous forme d'ATP (230). Les deux modes de transfert d'énergie sont concurrents en situation physiologique et complémentaires en situation pathologique (174). La présence de Créatine-Kinase mitochondriale (CKm) à la face externe de la membrane interne des mitochondries permet le transfert du phosphore de l'ATP à la créatine. La présence de CK-MM au niveau des disques M des sarcomères permet le transfert de phosphore de la phosphocréatine à l'ADP. Les mitochondries doivent être fonctionnelles et présentes en quantité suffisante au contact des myofilaments et du réticulum pour permettre à l'ATP d'acheminer directement l'énergie jusqu'aux ATPases (**Figure 32**).

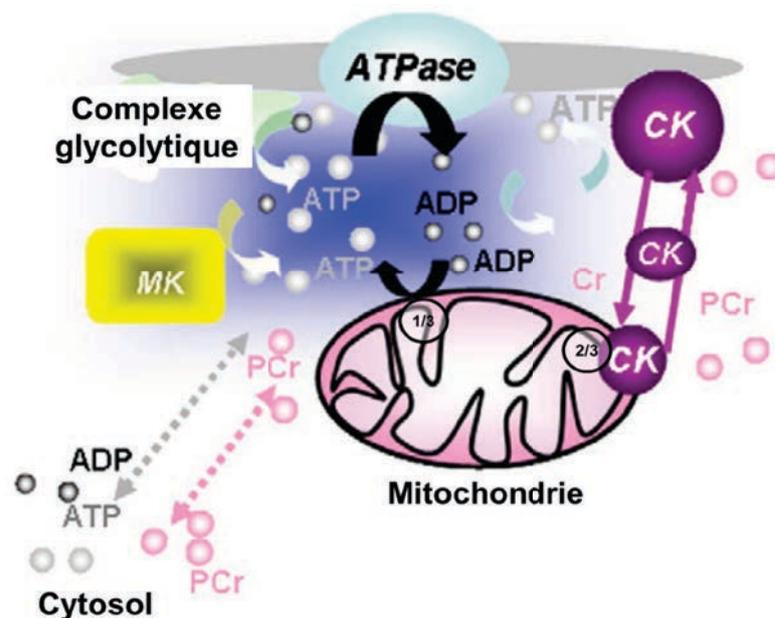


Figure 32. Représentation schématique de l'acheminement de l'énergie des mitochondries vers les ATPases d'un cardiomyocyte. MK, myokinase. D'après Ventura-Clapier et al. (231).

Les deux principaux facteurs qui régulent la production d'ATP battement par battement sont l'ADP et le calcium intramitochondriaux (232,233). L'activité de l'ATP synthase (F1/F0) est stimulée quasi instantanément par l'augmentation de l'ADP intramitochondriale. Dans des conditions physiologiques, la membrane externe des mitochondries est peu perméable aux nucléotides. La créatine phospho-kinase CKm est couplée au transporteur de nucléotides de la membrane interne des mitochondries (ANT, adényl-nucléotide transporter) et maintient la concentration d'ADP intramitochondriale élevée. La faible perméabilité de la membrane externe

des mitochondries à l'ADP et l'activité de la CKm permettent de maintenir une concentration d'ADP suffisante dans les mitochondries et ainsi de maintenir la stimulation de F1/F0 (230).

L'activité de 3 deshydrogénases clés du cycle de Krebs (Pyruvate, Isocitrate et α -cétoglutarate deshydrogénases), la production de NADH (nicotinamide dinucléotide réduit) et la production d'ATP sont stimulées en moins de 100 ms par l'augmentation du calcium mitochondrial (234,235). Le calcium pénètre principalement dans la matrice mitochondriale par l'unipore calcique (MCU, mitochondria calcium uniport) (236) et en sort par un échangeur sodium calcium (NCXm) (233,237,238). Les entrées et les sorties de calcium dépendent du potentiel de membrane des mitochondries et du gradient de concentration entre le milieu extra-mitochondrial et la matrice (239).

Des microtubules et de grandes quantités de tubuline bêta 2 sont localisés au niveau des mitochondries et suivent leur arrangement architectural dans les cardiomyocytes adultes (240) (241). Dans le cerveau, des protéines de liaison de la tubuline connectent les microtubules à la membrane externe des mitochondries (55). In-vitro, MAP2 est capable de se fixer à VDAC (voltage dependent anion channel), une porine de la membrane mitochondriales externe (56,242). Toute modification de la polymérisation des microtubules altère la position et la forme des mitochondries (64,243).

Il existe très peu d'études sur le retentissement direct de la polymérisation des microtubules sur le fonctionnement mitochondrial. L'hyperpolymérisation des microtubules pourrait induire une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par le complexe IV de la chaîne respiratoire (244) mais l'état de polymérisation de la tubuline ne modifie pas la perméabilité de VDAC à l'ADP (245). En revanche, la tubuline libre diminue la perméabilité à l'ADP de mitochondries isolées de cardiomyocytes en interagissant avec VDAC (246). La tubuline bêta-2 colocalise avec les mitochondries et est responsable au moins en partie de la faible perméabilité des mitochondries des cardiomyocytes adultes pour l'ADP (240) (**Tableau 9**).

Des filaments intermédiaires sont localisés en périphérie des mitochondries interfibrillaires des cardiomyocytes (95,241). Le mode de fixation entre la desmine et la membrane externe des mitochondries est actuellement inconnu (240). Une coopération entre les filaments intermédiaires et les microtubules est possible (55). La plectine interconnecte directement les trois types de filaments du cytosquelette cytoplasmique (101,247). La plectine est localisée essentiellement au niveau des disques Z et des disques intercalaires. Elle est également retrouvée

dans le cytoplasme au contact des organelles des cardiomyocytes (248). Dans les fibroblastes la plectine-1b est fixée à la membrane externe des mitochondries et pourrait ainsi servir de point d'amarrage au cytosquelette (249). La même isoforme 1b est impliquée dans la connexion du réseau de desmine aux mitochondries des cellules musculaires striées. Dans un modèle murin de KO-/- conditionnel pour la plectine les mitochondries musculaires sont désorganisées avec une altération de l'activité enzymatique des complexes de la chaîne respiratoire (94) (**Tableau 9**).

L'absence de desmine entraîne une ballonnisation et un transfert sous-sarcolemnal des mitochondries (250). Toute anomalie significative de la desmine altère non seulement la localisation et la forme des mitochondries mais également leurs capacités respiratoires (251–253). La respiration mitochondriale est abaissée et la perméabilité des mitochondries à l'ADP est augmentée dans des fibres perméabilisées de myocarde KO-/- pour la desmine (250) (**Tableau 9**).

Les microfilaments d'actine ne semblent pas impliqués directement dans le positionnement et la fonction des mitochondries (241).

Tableau 9. Implication du cytosquelette dans la régulation des mitochondries.

	Microtubules	Filaments intermédiaires	Plectine
Régulation de la localisation et de l'architecture des mitochondries	+	+	+
Régulation de la respiration mitochondriale	?	+	+
Régulation de la production d'espèces réactive de l'oxygène	+	?	?
Régulation de la perméabilité des mitochondries à l'ADP	- (régulation par la tubuline libre)	+	?

II.4.c. Implication du cytosquelette dans le couplage excitation-respiration.

L'entrée cyclique de calcium dans la matrice mitochondriale permet une adaptation battement par battement de la production d'ATP en fonction de l'intensité du transitoire calcique (233,234,237,254). L'élévation du calcium intramitochondrial de 0,1-0,2 μM à 0,5-0,7 μM

(238,255) précède d'environ 10 ms l'augmentation du calcium intracytoplasmique au cours du transitoire calcique (233,237,254,256). L'unipore calcique mitochondrial (MCU, mitochondrial calcium uniporter) permet l'entrée de calcium extramitochondrial dans la matrice mais sa sensibilité au calcium est très faible avec une concentration correspondant à la moitié de la vitesse maximale de transport de l'ordre de 20 μM (239,257). Seules des concentrations en calcium de l'ordre de 30 μM au niveau du MCU permettent une entrée suffisamment rapide de calcium dans les mitochondries (239). Les faibles concentrations de calcium cytosolique du transitoire calcique (0,5 à 3 μM) ne permettent pas d'expliquer l'adaptation métabolique des mitochondries aux concentrations intracellulaires de calcium.

Le réseau du réticulum sarcoplasmique enveloppe les mitochondries interfibrillaires des cardiomyocytes (234) et des zones de contact sont visualisées entre les deux organelles (**Figure 33**). Le rapprochement des mitochondries au contact du réticulum sarcoplasmique, là où les concentrations en calcium sont très élevées permet le couplage battement par battement de la production d'ATP à la quantité de calcium libéré par le réticulum.

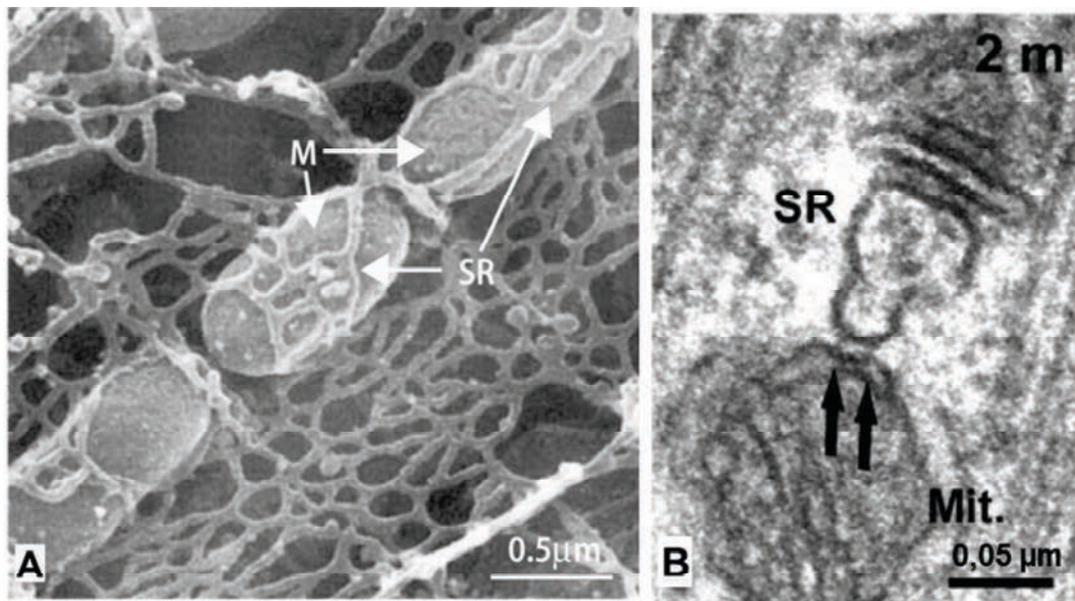


Figure 33. Zones de contact entre les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique. A/ Réseau de réticulum sarcoplasmique (SR) enveloppant des mitochondries (M) dans un cardiomyocyte porcine. D'après Territo et al. (234). B/ Liens entre le réticulum sarcoplasmique (SR) et une mitochondrie (Mit) dans un myocyte squelettique de souris. D'après Boncompagni et al. (258).

Environ 26 % du calcium sortant du réticulum sarcoplasmique via RYR est capté par les mitochondries au cours de chaque transitoire calcique (259). Cette entrée de calcium dans la mitochondrie est indépendante de la concentration de calcium cytoplasmique et dépendante du MCU (239). Au cours de la relaxation des myofibrilles, la diminution du calcium cytosolique entraîne la sortie du calcium des mitochondries par le NCXm. La cinétique de sortie du calcium par le NCXm est plus lente que l'entrée par le MCU mais la concentration intramitochondriale en calcium reste stable pour des fréquences de contraction lentes (233,237,238). L'augmentation de la fréquence des contractions ou la stimulation β -adrénergique provoque un déséquilibre du bilan entrée/sortie du calcium mitochondrial et entraîne une augmentation du calcium matriciel (237,255).

Dans des conditions physiologiques, l'augmentation de la concentration de calcium dans la matrice mitochondriale active certaines enzymes du cycle de Krebs comme la pyruvate, l'isocitrate et l'oxoglutarate deshydrogénases (260). La production énergétique par les mitochondries est ainsi couplée à l'intensité du potentiel d'action et du transitoire calcique, c'est le couplage excitation-respiration (**Figure 34**).

Etant donné qu'il existe un couplage entre le transitoire calcique et l'activité contractile des myofibrilles (cf chapitre II.4.a), la production énergétique est indirectement couplée à l'activité contractile et aux besoins en ATP des cardiomyocytes. Il existe ainsi un couplage complet entre l'excitation électrique, la force de contraction et la production d'énergie par la respiration mitochondriale.

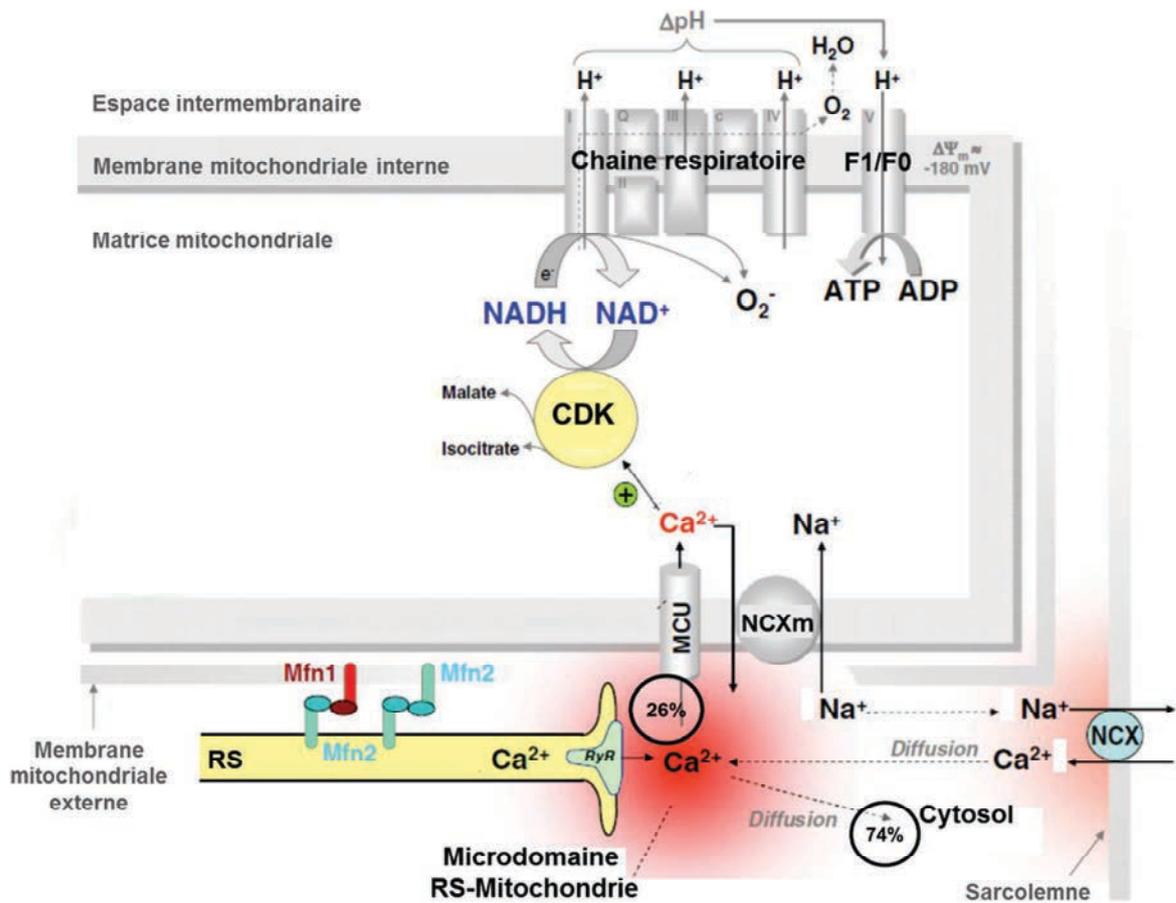


Figure 34. Représentation schématique des mécanismes du couplage excitation-respiration. F1/F0 (ATP synthase), CDK (cycle de Krebs), MCU (unipore calcique mitochondrial), NCXm (échangeur sodium/calcium mitochondrial), NCX (échangeur sodium/calcium sarcolemnal), RyR (récepteur à la ryanodine), Mfn (mitofusine), RS (réticulum sarcoplasmique). D'après Dorn et al. (261).

La fixation des mitochondries au réticulum sarcoplasmique des cardiomyocytes est au moins en partie indépendante du cytosquelette (262). Il semble exister une connexion directe entre les deux organelles. La mitofusine-2, une petite GTPase impliquée dans les phénomènes de fusion mitochondriale, a été récemment identifiée comme un acteur majeur de l'amarrage des mitochondries au réticulum sarcoplasmique (263). Dans un modèle de souris KO/- pour la mitofusine-2 cardiaque, les mitochondries ont une diminution de 30% des zones de contact avec le réticulum sarcoplasmique. De plus l'absence de mitofusine inhibe l'augmentation du calcium mitochondrial induite par une accélération de la fréquence de contraction ou par une stimulation bêta-adrénergique (254) (**Tableau 10**).

Certaines données expérimentales suggèrent toute de même l'implication du cytosquelette dans la fixation des mitochondries au réticulum sarcoplasmique. Tout d'abord, des connexions indépendante de la mitofusine amarrent les mitochondries au réticulum endoplasmique à des distances allant de 9 à 30 nm (264,265). Ces distances sont compatibles avec l'interposition de microtubules ou de filaments intermédiaires. De plus, dans des modèles murins KO/- pour la desmine ou la MLP, de profondes altérations de l'ensemble du cytosquelette provoquent un éloignement des mitochondries du réticulum sarcoplasmique (266). Enfin, une étude récente sur des cardiomyocytes isolés de rats démontre l'implication des microtubules dans le maintien structurel et fonctionnel du couplage entre les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique (75). L'exposition des cardiomyocytes à 1 μ M de colchicine pendant 20 minutes altère la superposition des marqueurs fluorescents du réticulum et des mitochondries et inhibe le couplage fonctionnel entre les deux organelles (**Tableau 10**).

Alors que les filaments intermédiaires semblent impliqués dans les connexions entre les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique, leur rôle dans le couplage excitation-respiration n'est pas démontré (266). L'éloignement des mitochondries du réticulum et la faible adaptation métabolique à la stimulation adrénérgique pourraient expliquer en partie le taux de décès élevé (50%) des souris KO/- de desmine au cours d'un effort physique (267) (**Tableau 10**).

Tableau 10. Implication du cytosquelette et de la mitofusine dans le couplage excitation-respiration.

	Microtubules	Filaments intermédiaires	Mitofusine
Régulation des connexions entre le réticulum sarcoplasmique et les mitochondries	+	+	+
Régulation du couplage excitation-respiration	+	?	+

En plus d'un couplage excitation-respiration il existe un couplage entre la production d'ATP, la diminution de la concentration cytosolique en calcium et la relaxation des myofibrilles. Le duo obscurine-petite ankyrine, les microfilaments d'actine gamma-cytoplasmique, les microtubules

et la desmine maintiennent les mitochondries à proximité du réticulum sarcoplasmique et des myofibrilles (75,227). Le maintien de la proximité entre les sites producteurs d'énergie et les sites consommateurs assure le renouvellement de l'ATP à proximité de SERCA et de la myosine ATPase. En cas d'éloignement des organelles, le transfert direct de l'ATP vers SERCA est altéré et l'inhibition du système CK provoque une altération majeure du pompage calcique par le réticulum (266).

En conclusion, les microfilaments, les microtubules et les filaments intermédiaires maintiennent à proximité les mitochondries, le réticulum sarcoplasmique, les myofibrilles et les tubules-T. La présence de plectine au sein de ce réseau suggère l'existence d'interconnexions entre les différents polymères du cytosquelette. Le cytosquelette permet ainsi le fonctionnement optimal du couplage excitation-contraction-respiration des cardiomyocytes.

II.5. SYSTEMES DE NETTOYAGE ET DE RECYCLAGE DU CYTOSQUELETTE DES CARDIOMYOCYTES.

Même dans des conditions physiologiques le cœur est soumis à des contraintes mécaniques intenses induites par les contractions des cardiomyocytes. Les protéines qui le constituent sont soumises à des déformations brutales. Les déformations répétées des protéines dénaturent leurs structures tridimensionnelles et altèrent leurs fonctions. Les déformations excessives de l'actine des microfilaments, de la tubuline des microtubules et de la desmine des filaments intermédiaires altèrent la structure et la fonction du cytosquelette. Des systèmes de nettoyage préservent les cardiomyocytes de l'accumulation de polymères altérés. L'équilibre entre synthèse et dégradation du cytosquelette est indispensable au fonctionnement des cardiomyocytes (39,107).

Lorsque des microfilaments sont endommagés, ils perdent leurs protéines de liaison stabilisatrices et s'exposent aux systèmes de dépolymérisation et de dégradation. Dans le cœur, la gelsoline et la cofiline sont responsables de la dépolymérisation des filaments d'actine abimés et non protégés par des molécules stabilisatrices (39,268,269). La cofiline et la gelsoline dépolymérisent spécifiquement les microfilaments sans dénaturer l'actine.

Inversement, les filaments intermédiaires sont très stables et leur dépolymérisation nécessite le clivage des protéines élémentaires par des protéases. La dégradation physiologique de la desmine

dans les cardiomyocytes est principalement sous le contrôle de la calpaïne-1 (107). La calpaïne n'est pas spécifique de la desmine et peut également cliver la MyBP-C déphosphorylée (148), la titine, la troponine I et MLC1 (270,271).

A l'opposé, les microtubules sont des structures tellement instables que la simple absence de protéines de stabilisation suffit à dépolymériser le réseau. La phosphorylation de MAP-4 (73,272), l'absence de glutamination et l'absence d'acétylation de la tubuline (49,51) favorisent la dépolymérisation des microtubules et permet le nettoyage des polymères (**Tableau 11**).

Le nettoyage physiologique du cytosquelette endommagé restaure la fonction des polymères et évite l'hyperviscosité du cytoplasme des cardiomyocytes (52).

Une fois les microfilaments, les filaments intermédiaires ou les microtubules dépolymérisés les protéines intactes sont réintégrées dans de nouveaux polymères ou stockées en attente d'une polymérisation ultérieure. Les protéines endommagées sont soit réparées soit présentées aux deux principaux systèmes de recyclage, le système ubiquitine-protéasome (UPS ; ubiquitin-proteasome system) et l'autophagosome. Ces systèmes de dégradation des protéines dénaturées protègent de l'accumulation de déchets toxiques intracellulaires.

Les molécules chaperonnes favorisent la réparation et le recyclage des protéines dénaturées. La plupart des protéines de choc thermique sont des molécules chaperonnes. Certaines protéines de choc thermique protègent le cytosquelette de l'activation pathologique des protéases (273). La cristalline alpha-B est la protéine de choc thermique la plus abondante dans les cardiomyocytes (274). La cristalline alpha-B joue un rôle clef dans la stabilisation des filaments du cytosquelette. Sa fixation à la desmine, à l'actine et à la tubuline (275) permet la réparation des protéines dénaturées. Lorsque des protéines sont trop endommagées pour être réparées la cristalline alpha-B les présente à UPS (276,277) (**Tableau 11**).

UPS prend en charge la dégradation des protéines mono- ou oligomériques (276). La section des filaments du cytosquelette par la cofiline, la gelsoline ou les calpaïnes permet aux molécules chaperonnes de présenter les molécules d'actine et de desmine à UPS et d'activer sa fonction protéolytique (107). L'ubiquitine fixe les protéines et permet leur dégradation par le protéasome. Le protéasome est un complexe moléculaire composé de 26 protéines. L'activité protéolytique est assurée par le composé 20S. Les composés 19S et 11S sont les principaux activateurs de 20S dans les cardiomyocytes. UPS évite l'accumulation des protéines anormales sous forme d'agrégats insolubles dans le cytoplasme (**Tableau 11**).

Le système des autophagosomes est capable de dégrader aussi bien de simples protéines (micro-autophagie dépendante des chaperonnes) que des complexes multiprotéiques ou des organelles (macro-autophagie). Le système séquestre les structures cellulaires sous forme de protophagosome et les transportent jusqu'aux lysosomes pour y être dégradées (278). Le transport des protophagosomes est sous la dépendance des microtubules. Les dynéines transportent de manière rétrograde les vésicules vers les lysosomes (279). Dans les cardiomyocytes, les protophagosomes sont transportés le long des microtubules et les autophagosomes sont visibles dans la région périnucléaire sous forme d'agrégats amyloïdes (42). Les agrégats contiennent de nombreuses molécules dont l'actine et la desmine (280,281). L'activité physiologique de l'autophagosome est indispensable au maintien d'une activité myocardique normale (282) (**Tableau 11**).

Tableau 11. Systèmes de nettoyage et de recyclage du cytosquelette des cardiomyocytes.

	Microtubules	Filaments intermédiaires	Mitofusine
Nettoyage des polymères anormaux	(Spontané)	-Calpaine-1	-Cofiline -Gelsoline
Réparation et amorce du recyclage		-Crystalline alpha-B et autres protéines de choc thermique	
Recyclage des déchets protéiques		-Système ubiquitine-protéasome et autophagosome	

Malgré leurs fonctionnalités différentes UPS et le système des autophagosomes sont complémentaires. L'inactivation d'UPS augmente l'activité des autophagosomes (283,284) et l'inactivation des autophagosomes augmente l'activité d'UPS (282). Dans des conditions physiologiques, les deux systèmes sont complémentaires et leur altération transgénique ne conduit à aucune cardiopathie (276,282). Les systèmes de synthèse et de recyclage des protéines du cytosquelette sont en équilibre pour maintenir l'homéostasie des cardiomyocytes. Le contrôle de la quantité et de la qualité des polymères du cytosquelette (107) et des protéines de structure (276) est indispensable au fonctionnement physiologique du myocarde.

III. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES DYSFONCTIONS MYOCARDIQUES.

L'insuffisance cardiaque est une maladie mortelle très fréquente dans les pays industrialisés (285). L'infarctus du myocarde, l'athérosclérose, l'hypertension artérielle, le diabète, l'obésité, les valvulopathies, le vieillissement, les infections, les intoxications et les cardiomyopathies génétiques sont les principales étiologies de l'insuffisance cardiaque aiguë ou chronique.

La plupart des pathologies myocardiques sont induites ou aggravées par une inadaptation du génome aux contraintes myocardiques. Les contraintes myocardiques entraînent des modifications post-traductionnelles et des modifications de la synthèse protéique. Lorsque l'adaptation myocardique est insuffisante ou excessive la pathologie survient. L'inadaptation du myocarde aux contraintes initiales provoque une insuffisance cardiaque aiguë. Lorsque les contraintes sont modérées et/ou d'apparition progressive, l'adaptation myocardique initiale évite l'apparition d'une insuffisance cardiaque. Les modifications myocardiques se caractérisent généralement par une hypertrophie réactionnelle des cardiomyocytes. L'hypertrophie initialement bénéfique évolue vers une hypertrophie pathologique et une dysfonction myocardique. L'évolution de la dysfonction myocardique mène à l'insuffisance cardiaque en l'absence de traitement approprié.

Certaines pathologies surviennent en raison d'un terrain génétique inadapté, ce sont les cardiomyopathies dites primitives. Certaines pathologies surviennent en raison de contraintes excessives, ce sont les cardiopathies secondaires. Le cytosquelette est impliqué dans de très nombreuses pathologies du myocarde. Premièrement, les anomalies génétiques des protéines du cytosquelette sont responsables de la majorité des cardiomyopathies primitives. Deuxièmement, des altérations du cytosquelette sont identifiées dans toutes les cardiopathies secondaires. Finalement, l'évolution des cardiopathies vers l'insuffisance cardiaque terminale implique la plupart des composants du cytosquelette sarcomérique ou cytosolique.

III.1. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOMYOPATHIES PRIMITIVES.

Les cardiomyopathies primitives, génétiques ou idiopathiques, familiales ou sporadiques, forment un groupe hétérogène de maladies dont les plus fréquentes sont les cardiomyopathies hypertrophiques et les cardiomyopathies dilatées.

III.1.a. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies hypertrophiques.

Les cardiomyopathies hypertrophiques touchent 0,2% des individus et forment un groupe hétérogène de maladies aussi bien sur le plan des génotypes que des phénotypes. Le phénotype principal se caractérise par une hypertrophie concentrique du ventricule gauche. Des anomalies génétiques sont retrouvées chez 30 à 65 % des patients (286). Le mode de transmission principal de ces cardiomyopathies est autosomique dominant. Les anomalies de la bêta-MHC et de la MyBP-C représentent environ 80% des anomalies génétiques connues (287). Les autres gènes responsables sont ceux des troponines T, I et C, de la tropomyosine 1-alpha, de la MLC1, de la MLC2, de l'actine-alpha cardiaque et de l'alpha-actinine 2. Bien que l'actine joue un rôle centrale dans le fonctionnement des cardiomyocytes, ses mutations sont très rares dans les cardiomyopathies hypertrophiques humaines (288). La mort in utero des sujets atteints pourrait expliquer la faible représentation de ces mutations chez l'homme (289,290). Etant donné que les mutations des protéines associées aux myofilaments ne sont retrouvées que chez la moitié des malades, d'autres structures pourraient être impliquées dans la physiopathologie des myocardiopathies hypertrophiques. Des mutations des gènes de mécano-transmission intramyofibrillaire comme ceux de la titine et de T-cap sont associées à certaines formes de cardiomyopathies hypertrophiques humaines (291,292). Ces mutations augmentent l'affinité de la titine pour T-cap et de T-cap pour l'alpha-actinine. Il est possible que le renforcement des structures responsables de la mécano-transmission soit un mécanisme physiopathologique de certaines cardiomyopathies hypertrophiques. Lorsque la mécano-transmission est renforcée au sein des sarcomères, les contraintes exercées sur le disque Z pourraient favoriser la translocation nucléaire de MLP et activer le programme d'hypertrophie cardiaque (168,169,293) (**Tableau 12**).

L'hypertrophie concentrique du ventricule gauche caractérisant les cardiomyopathies hypertrophiques est associée à une hypertrophie transversale des cardiomyocytes, une augmentation de l'apoptose, une fibrose interstitielle, des altérations de la perfusion myocardique, une dérégulation neuro-humorale et une dysfonction de la relaxation du myocarde en l'absence d'élévation de la postcharge cardiaque (294). Les ventricules sont dilatés avec un épaississement significatif des parois et une réduction du volume des cavités. Le sang étant quasiment incompressible, une faible diminution du volume des ventricules entraîne une forte augmentation des pressions de remplissage. A court terme, les contraintes systoliques diminuent au prix d'une élévation des contraintes diastoliques. La baisse des contraintes systoliques permet le maintien d'un volume d'éjection systolique optimal malgré l'anomalie génétique initiale (295). Le remodelage myocardique bénéfique dans un premier temps entraîne une dysfonction diastolique caractéristique des cardiomyopathies hypertrophiques. L'aggravation de la dysfonction cardiaque conduit à des troubles du rythme et à une insuffisance cardiaque congestive.

L'hypertrophie transversale des cardiomyocytes se caractérise par une altération de la relaxation associée à une augmentation de la sensibilité des myofilaments au calcium, des remaniements du cytosquelette, une activation des gènes de l'hypertrophie et une réactivation des gènes fœtaux (296). L'hypertrophie des cardiomyocytes diminue les contraintes mécaniques induites par les anomalies génétiques (295) et permet le maintien de la force de contraction dans un premier temps. A long terme, le remodelage cellulaire entraîne une augmentation de la consommation d'ATP et une altération de la relaxation (145).

Certaines modifications du cytosquelette participent au remodelage des cardiomyocytes et jouent un rôle majeur dans l'évolution de la maladie (**Tableau 12**). L'activation des gènes de l'hypertrophie entraîne la surexpression de protéines des myofilaments comme la bêta-MHC et l'actine alpha squelettique. L'expression préférentielle de ces isoformes entraîne une augmentation de la sensibilité des myofilaments au calcium et favorise les interactions actine-myosine (cf chapitre II.1). L'augmentation du recrutement des têtes de myosine à chaque contraction semble être une adaptation bénéfique dans le développement des cardiomyopathies hypertrophiques. La perte de la surexpression de l'actine alpha squelettique entraîne une hypertrophie longitudinale des cardiomyocytes (297,298) et pourrait favoriser l'évolution vers une hypertrophie excentrique et une insuffisance cardiaque congestive.

Les formes les plus graves des cardiomyopathies hypertrophiques, qui représentent 10 à 15% des patients, évoluent vers une cardiomyopathie dilatée et une insuffisance cardiaque systolique. La présence d'une mutation homozygote ou de plusieurs mutations hétérozygotes est probablement responsable d'une évolution plus grave de la maladie (299). La sévérité des anomalies génétiques responsables de la maladie conditionnent non seulement la rapidité de l'évolution mais également le phénotype initial de la cardiomyopathie. Alors qu'une mutation hétérozygote de la myosine est responsable d'une cardiomyopathie hypertrophique, la même mutation homozygote peut provoquer une cardiomyopathie dilatée extrêmement sévère (300–302). De la même manière, certaines doubles mutations hétérozygotes provoquent des cardiomyopathies dilatées rapidement évolutives alors que chaque mutation hétérozygote isolée entraîne une cardiomyopathie hypertrophique d'évolution lente (303). Enfin, de nombreuses mutations de gènes non sarcomériques peuvent moduler la gravité de la maladie et sa vitesse d'évolution (296).

Tableau 12. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies hypertrophiques.

Anomalies génétiques	Conséquences générales
-Anomalies modérément sévères des myofilaments (béta-MHC et MyBP-C) : ≈80% des cas. -Renforcement de la mécanotransmission intra-myofibrillaire (titine, T-cap).	-Expression ↑ de la béta-MHC et de l'actine alpha squelettique -Sensibilité des myofilaments au calcium ↑

Béta-MHC (isoforme béta de la chaîne lourde de myosine, beta-myosin heavy chain), MyBP-C (protéines de liaison de la myosine de type C, myosin binding protein-C)

III.1.b. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies dilatées.

Les cardiomyopathies dilatées forment un groupe extrêmement hétérogène de maladies qui touchent environ 0,04% de la population. Le phénotype principal est une hypertrophie biventriculaire excentrique. Environ 20 à 50 % des cardiomyopathies dilatées sont familiales (304) et parmi elles des anomalies génétiques du sarcomère sont retrouvées dans 35 à 40 % des cas (305,306). En dehors des mutations de la dystrophine et de l'émerine, le mode transmission principal des cardiopathies familiales est de type autosomique dominant à pénétrance incomplète et à expression variable.

En plus des anomalies des myofilaments, l'altération de la mécanotransmission intramyofibrillaire est une cause fréquente de cardiomyopathies dilatées (307). Pour les mêmes raisons qui font que les mutations de l'actine sont très rares dans les cardiomyopathies hypertrophiques, ces mutations sont également peu courantes dans les cardiomyopathies dilatées humaines (308). Les anomalies de la titine, de la bêta-MHC et des troponines T et I représentent plus de 90% des anomalies génétiques connues. Des mutations du gène de la titine sont associées à 25% des cardiomyopathies dilatées familiales et à 18% des cardiomyopathies sporadiques humaines (305). Etant donné le rôle essentiel de la titine dans la maturation des cardiomyocytes au cours de l'embryogénèse et la forte probabilité de décès in-utero aucun modèle KO viable de titine n'est disponible actuellement. In-vitro l'ablation du gène de la titine provoque une désorganisation majeure de l'architecture des sarcomères (309). Chez la souris, la délétion des segments élastiques de la bande I (N2B et PEVK) n'entraîne qu'une dysfonction diastolique sans insuffisance cardiaque à l'âge adulte (164,165). En revanche la délétion de protéines de fixation de la titine au disque Z comme la MLP entraîne une cardiomyopathie dilatée d'évolution fatale à l'âge adulte (167). La délétion de la MLP altère la liaison de la T-cap à l'alpha-actinine et altère ainsi une part de la transmission de contraintes mécaniques des myofilaments aux disques Z (cf chapitre II.2). De manière concordante, des mutations de MLP, de T-cap et de l'alpha-actinine 2 sont associées à certaines formes humaines de cardiomyopathies dilatées (292,310).

L'altération de la mécanotransmission extra-myofibrillaire est également en cause dans certaines cardiomyopathies dilatées connues sous le nom de dystrophies musculaires. Les dystrophies musculaires sont des pathologies génétiques qui touchent l'ensemble des muscles du corps. L'atteinte myocardique est constante, soit au premier plan soit secondaire en fonction du type de mutation. Des maladies des costamères (311,312), des disques intercalaires (313,314) et des complexes de liaison nucléo-cytoplasmique (115,195,315,316) sont responsables de cardiomyopathies dilatées chez l'homme et chez les rongeurs. De manière concordante, la fragilisation des microtubules (317) et des mutations de la desmine (102,266,318) entraînent une désorganisation des structures de mécanotransmission extramyofibrillaires et une insuffisance cardiaque par cardiomyopathie dilatée.

Enfin, de rares anomalies d'une molécule chaperonne du cytosquelette, la cristalline alpha-B, sont également la cause de cardiomyopathies dilatées chez l'homme (89) et chez la souris (280). L'absence de cristalline alpha-B fonctionnelle altère le fonctionnement des systèmes de recyclages protéiques et entraîne l'accumulation d'agrégats amyloïdes toxiques dans les

cardiomyocytes (42). La respiration mitochondriale est altérée, les caspases et l'apoptose sont activées (253,319) (**Tableau 13**).

L'hypertrophie excentrique des ventricules caractérisant les cardiomyopathies dilatées s'accompagne d'une hypertrophie longitudinale des cardiomyocytes, d'une augmentation de l'apoptose, d'une fibrose interstitielle, d'altérations de la perfusion myocardique, d'une dérégulation neuro-humorale et d'une diminution de la force de contraction du myocarde en l'absence de pathologie ischémique ou de surcharge volumétrique (306). La faible augmentation du volume des ventricules en réaction à l'anomalie génétique initiale entraîne une forte diminution des pressions de remplissage. A court terme, cette hypertrophie excentrique diminue les contraintes diastoliques et permet le maintien de pressions de remplissage optimales (295). A long terme, l'augmentation chronique des pressions de remplissage induite par l'anomalie génétique et l'augmentation réactionnelle du diamètre des ventricules aboutissent à une augmentation des contraintes myocardiques systolo-diastoliques et à la dilatation continue des ventricules. Le remodelage myocardique, bénéfique dans un premier temps entraîne une dysfonction systolo-diastolique caractéristique des cardiomyopathies dilatées. L'aggravation de la dysfonction cardiaque conduit à des troubles du rythme et à une insuffisance cardiaque terminale.

L'hypertrophie longitudinale des cardiomyocytes se caractérise par une diminution de la force contractile associée à une diminution de la sensibilité des myofilaments au calcium, des remaniements du cytosquelette, une faible activation des gènes de l'hypertrophie et une réactivation sélective des gènes fœtaux (31,320,321).

Certaines modifications du cytosquelette participent au remodelage des cardiomyocytes et sont impliquées dans l'évolution délétère de la maladie (**Tableau 13**). Au niveau des myofilaments, la perte de la surexpression de l'actine alpha squelettique est un mécanisme clé de l'hypertrophie longitudinale des cardiomyocytes (297,298). L'absence d'élévation de l'actine alpha squelettique myocardique est caractéristique des cardiomyopathies dilatées chez l'homme (31) et contribue à la dysfonction systolique. Des modifications des structures de mécano-transmission participent également à l'aggravation de la dysfonction myocardique. Alors que des modifications de la titine sont retrouvées de manière constante dans les cardiomyopathies dilatées humaines, la baisse du rapport N2BA/N2B (322) et la déphosphorylation du segment N2B-N2A (163,323) augmentent la rigidité de la titine et aggravent la dysfonction diastolique des malades les plus

graves. De plus, l'augmentation des pressions de remplissage au cours des cardiomyopathies dilatées provoque un étirement excessif des titines, une dénaturation de leur portion élastique et une rigidification supplémentaire de leur structure tridimensionnelle (159). Des altérations de l'architecture des costamères et des tubules-T sont également retrouvées chez les patients les plus graves (211,324).

L'accumulation de filaments du cytosquelette et d'agrégats de protéines anormales est retrouvée chez l'homme et dans de nombreux modèles d'animaux atteints de cardiomyopathies (180,280,325). Premièrement, un défaut de nettoyage des filaments anormaux pourrait être responsable d'une hyperdensité du cytosquelette, d'une hyperviscosité cellulaire et d'une aggravation de la fonction contractile (38,52,180). Deuxièmement, la dégradation excessive des filaments normaux et une défaillance des systèmes de recyclage des protéines pourraient être responsables de la destruction des costamères (324) et de l'accumulation d'agrégats amyloïdes toxiques (42,253).

En plus de participer à la fixation de la titine aux disques Z (cf chapitre II.2), la MLP régule l'activité de la cofiline (268). Un rapport MLP/cofiline de 2/1 permet une activité optimale de la cofiline dans les cardiomyocytes. Toute modification de ce rapport entraîne une inhibition de l'activité de nettoyage des filaments d'actine par la cofiline. La diminution de l'expression de la MLP mise en évidence chez des patients atteints de cardiomyopathies dilatées suggère l'existence d'une modification du rapport MLP/cofiline et une probable inhibition de la cofiline (326).

De nombreuses protéases comme les métalloprotéases de la matrice extracellulaire, les caspases et les calpaïnes sont suractivées au cours des cardiomyopathies (327). Les métalloprotéases de la matrice extracellulaire ciblent des protéines des myofilaments et l'alpha-actinine (328). Les caspases dégradent des protéines des myofilaments, des disques intercalaires et des costamères ainsi que l'actine-béata, la tubuline, l'alpha-actinine, la plectine, l'émerine et les lamines A/C (329). Ajoutées à l'action de la calpaïne sur la desmine (107), ces protéases altèrent les myofilaments et l'ensemble du cytosquelette impliqué dans la mécanotransmission des cardiomyocytes. De plus, la production d'espèces réactives de l'oxygène est augmentée dans le myocarde des souris (330) et des patients (331) atteints d'insuffisance cardiaque. La surproduction d'espèces réactives de l'oxygène aggrave la dysfonction myocardique (332) en

oxydant et en dénaturant de nombreuses protéines dont la tubuline (333), l'actine et la desmine (334).

Alors que la dénaturation des protéines du cytosquelette est augmentée dans les cardiomyopathies dilatées, les systèmes de recyclage des déchets protéiques sont inefficaces. Tout d'abord, UPS est inhibé chez les patients atteints de cardiomyopathies dilatées (335). L'activation pathologique de certaines protéases comme les caspases inhibent UPS et entraînent une insuffisance absolue de ses fonctions de recyclage (336). Ensuite la surproduction de déchets protéiques entraîne une saturation et une insuffisance relative d'UPS et de l'autophagosome (107,337). L'insuffisance d'UPS (276,336,338) et l'inefficacité de l'autophagosome (282) aggravent la défaillance myocardique et la dilatation des ventricules dans différents modèles murins de cardiomyopathies.

Tableau 13. Implication du cytosquelette dans les cardiomyopathies dilatées.

Anomalies génétiques	Conséquences générales
-Anomalies sévères des myofilaments (béta-MHC, TnT, TnI) et de la titine : >90% des cas.	-Sensibilité des myofilaments au calcium ↓
-Dégradation des systèmes de mécanotransmission intramyofibrillaires (titine, T-cap, MLP, alpha-actinine)	-Dégradation et ↑ de la rigidité de la titine
- Dégradation des systèmes de mécanotransmission extramyofibrillaires (costamères, disques intercalaires, complexes nucléo-cytoplasmiques, microtubules, filaments intermédiaires)	-Dégradation des costamères et des tubules-T
	-Activation chronique des protéases et surproduction d'espèces réactives de l'Oxygène
	-Insuffisance des systèmes de recyclage des déchets protéiques

Béta-MHC (isoforme béta de la chaîne lourde de myosine, beta-myosin heavy chain), TnT (troponine T), TnI (troponine I), MLP (Muscle-LIM protein).

III.2. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOMYOPATHIES ISCHEMIQUES.

L'ischémie et l'infarctus du myocarde sont parmi les premières causes de choc cardiogénique et d'insuffisance cardiaque. L'incidence annuelle de l'infarctus du myocarde est d'environ 0,3% entre 35 et 75 ans (339). La mortalité aigüe est de l'ordre de 5 à 10% mais reste supérieure à

35% en cas de choc cardiogénique (340–342). L'ischémie et la reperfusion brutale du myocarde conditionnent la taille de l'infarctus. La nécrose myocardique initiale et son remodelage secondaire entraînent une dysfonction cardiaque dans plus de 60% des cas et une insuffisance cardiaque dans plus de 40% des cas (343).

III.2.a. Implication du cytosquelette dans l'ischémie-reperfusion myocardique.

L'ischémie aiguë du myocarde provoque une carence aiguë en ATP, une contracture des myofilaments et une surcharge calcique dans les cardiomyocytes. De nombreuses protéases sont activées et dégradent les structures intracellulaires (344). Lorsque l'ischémie se prolonge, les dégâts sont irréversibles et aboutissent à une nécrose myocardique.

La reperfusion coronaire est une urgence thérapeutique mais la réoxygénation tissulaire brutale aggrave la surcharge calcique intracellulaire (344) et entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène qui limitent la récupération du myocarde (345). Les lésions induites par l'ischémie et la reperfusion sont responsables d'une dysfonction mitochondriale (346) et conditionnent la taille de l'infarctus. De profonds remaniements du cytosquelette sont impliqués dans l'évolution vers cette nécrose myocardique.

Les protéases et les espèces réactives de l'oxygène sont responsables de la dénaturation de la plupart des protéines du cytosquelette. Des agrégats protéiques toxiques s'accumulent dans les cardiomyocytes (347). La surcharge calcique intracellulaire liée à l'ischémie et la reperfusion brutale active les calpaïnes (273) et les métalloprotéases intracellulaires (328) qui sont responsables d'une dégradation des myofilaments, de l'alpha-actinine et de la desmine. L'activation des caspases altère l'ensemble du cytosquelette (348,349) et inhibe le recyclage des déchets protéiques par UPS (336). La surproduction d'espèces réactives de l'oxygène dénature les microtubules (333), l'actine et la desmine au cours de la reperfusion (334).

Les systèmes de nettoyage des filaments, de réparation et de recyclage des protéines anormales sont dépassés par la dégradation protéique excessive. L'insuffisance relative ou absolue de ces différents systèmes conduit à l'accumulation de cytosquelette non fonctionnel et de déchets protéiques toxiques. L'inhibition du renouvellement physiologique des filaments d'actine par la cofiline pourrait être un mécanisme délétère de l'ischémie-reperfusion myocardique. D'une part, l'élévation de l'expression de MLP, susceptible d'inhiber la cofiline (268), est corrélée à

l'altération de la fonction cardiaque (350). D'autre part, l'inhibition de la Rho-kinase, un inhibiteur de la cofiline, diminue la taille des infarctus dans un modèle murin d'ischémie-reperfusion (351). L'activation des molécules chaperonnes protège le cytosquelette au cours de l'ischémie-reperfusion (273,275). L'insuffisance relative des chaperonnes liée à l'activation excessive des systèmes de dégradation aboutit à l'accumulation intracellulaire de protéines dénaturées. L'augmentation de la dégradation protéique, l'absence de fixation des protéines dénaturées aux chaperonnes et l'activation des caspases entraînent une insuffisance relative et absolue du protéasome (336). De plus, l'inactivation du protéasome au cours de l'ischémie-reperfusion est délétère (352). L'inefficacité du protéasome conduit à une surcharge de l'autophagosome et favorise l'accumulation d'agrégats protéiques.

L'ischémie myocardique provoque une destruction brutale des myofibrilles (353). Les myofilaments sont les structures les plus sensibles à l'ischémie. Des altérations de l'actine sarcomérique, de la myosine, de la tropomyosine et de la troponine-T apparaissent après moins de 30 minutes d'ischémie (354).

Les systèmes de mécanotransmission intra- et extra-sarcomériques sont plus résistants à l'ischémie. Des altérations de la myoméline (disque M), des microtubules (355), de la desmine et de la vinculine apparaissent dans les deux heures qui suivent le début de l'ischémie (354). L'actine cytoplasmique (356), l'alpha-actinine (357) et la dystrophine (358) sont également touchées. De plus les altérations des microtubules (359) et de la dystrophine (358) sont corrélées au degré de rupture du sarcolemme et à l'irréversibilité de l'atteinte myocardique.

La reperfusion du myocarde empêche l'évolution vers la nécrose mais provoque des altérations du cytosquelette qui pourraient limiter son efficacité (360).

Différentes méthodes de préconditionnement du myocarde à l'ischémie diminuent la nécrose tissulaire induite par la réoxygénation brutale du myocarde. Le préconditionnement à l'ischémie réduit les altérations de la dystrophine (361), de la vinculine et de la desmine, et favorise la récupération fonctionnelle du myocarde.

La préservation de la polymérisation des microtubules au cours de l'ischémie-reperfusion est un élément clef de la protection myocardique. La dépolymérisation des microtubules induite par la colchicine inhibe la protection myocardique induite par le préconditionnement (362) et l'hyperpolymérisation induite par les taxanes à un effet protecteur (363,364). En revanche, lorsque les microtubules sont dépolymérisés par l'ischémie, une repolymérisation trop rapide au

cours de la réoxygénation est délétère. Le maintien de la dépolymérisation des microtubules par l'administration de nocodazol au moment de la réoxygénation améliore la respiration mitochondriale, diminue l'activité de la NADPH oxydase et la production d'espèces réactives de l'oxygène (61).

En conclusion, la destruction brutale du cytosquelette par les protéases dans l'ischémie est un mécanisme central du dysfonctionnement des cardiomyocytes qui conduit à la rupture du sarcolemme et à la nécrose myocardique. La physiopathologie des lésions de réoxygénation est plus complexe. La reperfusion trop brutale du myocarde provoque une repolymérisation délétère des microtubules, l'activation de la protéolyse pathologiques et une altération des systèmes de recyclage des déchets intracellulaires. L'accumulation de protéines anormales induite par ces mécanismes altère le fonctionnement myocardique et atténue les bénéfices de la réoxygénation (**Tableau 14**).

Tableau 14. Implication du cytosquelette dans la physiopathologie des lésions d'ischémie-reperfusion.

-Activation aiguë des protéases et surproduction d'espèces réactives de l'oxygène

-Destruction aiguë des myofilaments, des systèmes de mécano-transmission intra- (myoméline, alpha-actinine) et extramyofibrillaires (costamères, disques intercalaires, filaments intermédiaires, microtubules, microfilaments)

-Insuffisance des systèmes de nettoyage, de réparation et de recyclage du cytosquelette (cofiline, molécules chaperonnes, UPS, autophagosome)

UPS (ubiquitin-proteasome system).

III.2.b. Implication du cytosquelette dans la dysfonction myocardique post-infarctus.

La nécrose myocardique ischémique provoque l'immobilité des ventricules dans la zone infarctée. La réaction inflammatoire, la fibrose interstitielle, l'adaptation neuro-humorale et les contraintes mécaniques induites par la zone infarctée au myocarde non nécrosé entraînent un remodelage de toutes les cavités cardiaques (353). Ce remodelage diminue essentiellement les contraintes diastoliques au détriment de la fonction systolique (295). Cela permet le maintien de pressions de remplissage optimales dans un premier temps. Ce remodelage se caractérise par une dilatation des ventricules, une hypertrophie des cardiomyocytes, une augmentation de l'apoptose

et une aggravation de la dysfonction contractile. La dysfonction cardiaque évolue en insuffisance cardiaque congestive en l'absence de traitement.

Le remodelage des cardiomyocytes se caractérise par des anomalies de la contraction associées à une surcharge calcique, une augmentation de la sensibilité des myofilaments au calcium, des remaniements du cytosquelette, une activation des gènes de l'hypertrophie et une réactivation des gènes fœtaux (285,365).

Comme dans l'ischémie reperfusion, l'hyperactivation de certains systèmes de dégradation aggrave la dysfonction des cardiomyocytes après un infarctus du myocarde. La surproduction d'espèce réactives de l'oxygène (366) et l'hyperactivation chronique des calpaïnes (367), des métalloprotéases (368), des caspases (369) et de la gelsoline (370) favorisent l'évolution vers l'insuffisance cardiaque congestive. Inversement, l'inhibition de l'action physiologique de la cofiline pourrait être un mécanisme délétère du remodelage post-infarctus. Premièrement la Rho-kinase, un inhibiteur de la cofiline, est activée dans le post-infarctus et son inhibition atténue le remodelage cardiaque dans un modèle murin (371). Deuxièmement, l'expression protéique de MLP est diminuée d'environ 50% dans le myocarde des patients atteints d'insuffisance cardiaque congestive ischémique (372). Chez la souris, la diminution de l'expression de MLP est un facteur aggravant de la dysfonction myocardique post infarctus (373). Une altération du rapport MLP/cofiline pourrait favoriser l'inhibition de la cofiline au cours du remodelage post infarctus du myocarde.

L'implication des systèmes de réparation et de recyclage des protéines dans le post-infarctus est encore incertaine. Chez le rat, la cristalline alpha-B est surexprimée dans les ventricules au décours d'un infarctus du myocarde (374,375). Inversement, la cristalline alpha-B est diminuée dans le myocarde des patients atteints d'insuffisance cardiaque terminale ischémique (376). L'élévation initiale de la cristalline alpha-B pourrait avoir un effet protecteur sur le cytosquelette et la diminution secondaire de son expression pourrait favoriser la dégradation de la desmine lors de l'évolution vers l'insuffisance cardiaque. Les rôles du protéasome et de l'autophagosome dans le remodelage post-infarctus sont encore indéterminés. L'inefficacité de l'autophagosome et la suractivation du protéasome pourraient être délétères et favoriser l'évolution vers l'insuffisance cardiaque. L'activation de l'autophagie et la diminution de l'activité du protéasome diminuent le remodelage post-infarctus chez le rat (377).

L'altération diffuse de la structure des myofibrilles est un des mécanismes de la dysfonction systolique dans la cardiomyopathie post-infarctus. L'infarctus du myocarde entraîne une destruction rapide des myofibrilles dans le myocarde non ischémié (353). De plus, les contraintes diastoliques induites par la zone infarctée à l'ensemble du ventricule gauche pourraient favoriser la lyse de la troponine I et aggraver la dysfonction systolique (378,379).

De nombreux arguments sont en faveur de l'implication des mécanismes de mécanotransmission intra- et extra-sarcomériques dans le développement d'une insuffisance cardiaque post-infarctus. Certaines anomalies marquent la transition entre cardiopathie compensée et insuffisance cardiaque congestive.

Les patients les plus graves qui développent une insuffisance cardiaque ont une augmentation du rapport titine N2BA/N2B et une diminution de la rigidité myocardique induite par la titine (380) alors que la rigidité myocardique totale est augmentée par le développement d'une fibrose. L'assouplissement de la titine favoriserait la dilatation ventriculaire et altérerait la précharge dépendance des sarcomères. De plus, l'étirement excessif de la titine pourrait dénaturer son architecture tridimensionnelle et aggraver la dysfonction systolique (159).

L'altération de la fonction des mitochondries et du réticulum sarcoplasmique (285) ainsi que l'altération des tubules transverses après un infarctus du myocarde (381,382) sont des arguments indirects en faveur de la détérioration du cytosquelette extra-sarcomérique. De plus, une altération de l'architecture des costamères est retrouvée dans le myocarde de patients atteints d'insuffisance cardiaque post infarctus (211). Certaines anomalies du cytosquelette cytosolique sont corrélées à la gravité de la dysfonction myocardique. Alors qu'il existe une augmentation de la présence de desmine sur les disques Z des malades atteints d'infarctus du myocarde minime sans insuffisance cardiaque (380), les filaments de desmine sont fortement dégradés chez des malades au stade d'insuffisance cardiaque terminale (383). Bien qu'aucune relation causale ne soit établie, il est vraisemblable que la dégradation des systèmes de mécanotransmission aggrave la dysfonction myocardique.

En conclusion, la destruction des myofibrilles dans le myocarde viable et l'altération des structures de mécanotransmission par une hyperactivation des systèmes de dégradation protéique sont des mécanismes clés du remodelage post infarctus. En revanche, le rôle des systèmes de réparation et de recyclage des déchets intracellulaires est encore incertain (**Tableau 15**).

Tableau 15. Implication du cytosquelette des cardiomyocytes dans le remodelage post-infarctus du myocarde.

-
- Activation subaiguë et chronique des protéases avec surproduction d'espèces réactives de l'oxygène.
 - Destruction des myofilaments
 - Expression ↑ de la bêta-MHC et de l'actine alpha squelettique
 - Sensibilité des myofilaments au calcium ↑
 - Assouplissement et dégradation de la titine
 - Dégradation des systèmes de mécanotransmission extramyofibrillaires (costamères et filaments intermédiaires)
 - Activation de la gelsoline, inhibition de la cofiline
 - Implication incertaine des systèmes de réparation et de recyclage du cytosquelette (molécules chaperonnes, UPS, autophagosome)

Bêta-MHC (isoforme bêta de la myosine, bêta-myosin heavy chain), UPS (ubiquitin-proteasome system).

III.3. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOPATHIES PAR SURCHARGE BAROMETRIQUE.

Les principales causes d'élévation chronique de la postcharge des ventricules sont l'hypertension artérielle systémique (384), l'hypertension pulmonaire (385) et le rétrécissement aortique (386). Quelque-soit le ventricule atteint, les cardiopathies par surcharge barométrique peuvent évoluer vers l'insuffisance cardiaque en l'absence de traitement approprié (387,388).

L'augmentation chronique de la postcharge entraîne une hypertrophie concentrique des ventricules cardiaques. Les ventricules sont dilatés avec un épaississement significatif des parois et une réduction du volume des cavités (295). A court terme, les contraintes systoliques diminuent au prix d'une élévation des contraintes diastoliques. L'hypertrophie concentrique diminue les contraintes systoliques (295) et permet le maintien d'un volume d'éjection systolique optimal dans un premier temps. Le remodelage myocardique, bénéfique dans un premier temps entraîne une dysfonction diastolique caractéristique des cardiopathies

barométriques. L'aggravation de la dysfonction diastolique conduit dans plus de 50% des cas à une insuffisance cardiaque congestive associée dans certains cas à une dysfonction systolique (389). La dysfonction cardiaque se caractérise par une hypertrophie des cardiomyocytes, une fibrose interstitielle, des altérations de la perfusion myocardique et une dérégulation neuro-humorale (390).

L'hypertrophie des cardiomyocytes se caractérise par des altérations de l'homéostasie calcique, une altération de la sensibilité des myofilaments au calcium, une modification du métabolisme énergétique, des remaniements du cytosquelette, une activation des gènes de l'hypertrophie cellulaire et une réactivation des gènes fœtaux (152,389).

Une augmentation de la synthèse des myofibrilles est caractéristique de la cardiopathie hypertensive (390). Les myofibrilles sont plus longues mais surtout plus nombreuses et désorganisées (174). Les nouveaux sarcomères s'accumulent essentiellement en parallèle des anciens. Les modifications des myofilaments favorisent la contraction au détriment de la relaxation. La réactivation des gènes fœtaux entraîne une surexpression de l'actine alpha-squelettique (391) et de la bêta-MHC (392). Le rendement mécano-énergétique est amélioré (29,145) et l'hypertrophie des cardiomyocytes est atténuée (391).

Dans des conditions physiologiques, l'augmentation de la fréquence de contraction des myofibrilles est associée à une augmentation de la phosphorylation de la troponine-I et une désensibilisation des myofilaments au calcium. Ces modifications permettent d'améliorer la relaxation à l'effort. Ce mécanisme d'adaptation à l'effort est altéré au cours de l'hypertrophie barométrique (393). La dysfonction diastolique de repos pourrait être aggravée à l'effort chez les patients atteints de cardiopathie hypertensive.

Alors que la fonction systolique est généralement conservée dans les dysfonctions myocardiques par surcharge barométrique, certains patients développent une cardiopathie dilatée avec une dysfonction systolo-diastolique (297,298). Comme pour les cardiomyopathies hypertrophiques, la surcharge en pression active des voies de signalisation favorisant la perte de l'actine alpha squelettique et le développement d'une hypertrophie excentrique. La suractivation des voies de l'hypertrophie excentrique et la perte de l'actine alpha squelettique pourraient favoriser l'évolution de certaines cardiopathies concentriques en cardiopathies excentriques avec dysfonction systolique (297,298).

Des modifications de la mécanotransmission intra-sarcomérique entraînent une augmentation de la rigidité des sarcomères au cours de la cardiopathie hypertensive. Cette augmentation de la

rigidité des sarcomères améliore la précharge-dépendance des myofilaments au détriment de la relaxation. Dans différents modèles animaux de constriction aortique la phosphorylation du segment PEVK, la déphosphorylation du segment N2B et l'augmentation de l'isoforme rigide N2B augmentent la rigidité de la titine et aggravent la dysfonction diastolique (323,394–396) (cf chapitre II.2). En revanche, dans des cardiomyocytes isolés de ventricules gauches de patients atteints de rétrécissement aortique serré sans insuffisance cardiaque, la forme compliant de la titine est augmentée sans modification du degré de phosphorylation (323). Il est probable que la rigidification de la titine augmente l'activation des voies de signalisation de l'hypertrophie qui favorisent la fonction systolique au détriment de la diastole (168,169). De manière concordante, la diminution de l'expression de la titine au cours de la cardiopathie barométrique est associée au développement d'une insuffisance cardiaque congestive avec dysfonction systolique chez le cochon d'inde (397).

Le remodelage des tubules transverses (208) et l'altération de la structure des mitochondries (174) suggèrent un remaniement de la mécanotransmission extra-myofibrillaire au cours de l'hypertension artérielle. L'élévation des contraintes barométriques provoque une densification des réseaux de desmine et de tubuline. Cette densification est corrélée avec l'aggravation de la dysfonction myocardique chez le cochon d'Inde (397). L'élévation des contraintes systoliques des ventricules provoque la déphosphorylation et l'activation de MAP4, une protéine de stabilisation des microtubules. La stabilisation des microtubules par la déphosphorylation de MAP4 favorise l'hyperpolymérisation de la tubuline chez l'homme ou chez les animaux soumis à des contraintes systoliques excessives (73,272). L'acétylation (49), la détyrosination et la déglutamination (51) de la tubuline renforcent la stabilisation des microtubules. La dépolymérisation des microtubules par la colchicine améliore la dysfonction contractile chez l'animal (60) mais cet effet peut s'avérer inconstant. Dans un modèle de rats hypertendus, la stabilisation des microtubules par l'acétylation de la tubuline inhibe la dépolymérisation par la colchicine (49). Alors que la stabilisation des microtubules pourrait stabiliser la mécanotransmission cellulaire soumise à des contraintes mécaniques excessives, elle a des conséquences délétères sur le fonctionnement des sarcomères. L'accumulation de tubuline polymérisée entrave les mouvements des sarcomères par une augmentation de la viscosité intracellulaire (176). De plus, les remaniements de la desmine et de la tubuline pourraient être directement responsables d'un découplage excitation-contraction-respiration (174) et de l'altération de l'architecture des disques intercalaires (398,399).

La consolidation des costamères est un facteur protecteur de la fonction systolique au cours de l'hypertrophie myocardique par surcharge en pression. Elle se caractérise par une densification des complexes de la dystrophine et une hyperpolymérisation de l'actine cytoplasmique (211) (187). Le maintien de l'architecture des intégrines dans les costamères est un élément essentiel de la stimulation des voies de l'hypertrophie compensatrice. Les souris sous-exprimant l'intégrine bêta-1 ont une diminution de l'hypertrophie cardiaque en réponse à une augmentation de la postcharge (400). Cette diminution de la réponse hypertrophique s'accompagne d'une diminution immédiate de la fraction de raccourcissement du ventricule gauche.

En plus des anomalies des myofibrilles et de la mécanotransmission, l'hypertrophie myocardique par surcharge barométrique se caractérise par un dérèglement du renouvellement des filaments du cytosquelette. L'inhibition des systèmes de nettoyage pourrait conduire à la densification du cytosquelette et à l'hyperviscosité cellulaire. En revanche, leur activation excessive pourrait fragiliser l'architecture des cardiomyocytes et accélérer l'évolution vers l'insuffisance cardiaque congestive. L'activation précoce de ROCK au décours d'une élévation de la postcharge ventriculaire gauche est en faveur d'une inhibition de la cofiline (401). L'accumulation de filaments d'actine anormaux induit par l'inhibition de la cofiline pourrait aggraver la dysfonction diastolique. La probable réactivation de la cofiline par un inhibiteur de ROCK améliore la dysfonction diastolique (402).

De manière attendue, la crystalline alpha-B a un rôle protecteur dans la surcharge barométrique des ventricules. Les souris KO-/- pour la crystalline alpha-B développent une dysfonction myocardique plus marquée que les souris sauvages (403).

Les systèmes de dégradation des protéines anormales sont activés en réponse à une surcharge en pression. De nombreuses études sont en faveur d'un effet délétère de l'hyperactivation d'UPS (404). De manière concordante, l'hyperactivation de l'autophagosome au cours de l'hypertrophie cardiaque aggrave la dysfonction myocardique (282,405). L'hyperactivation des systèmes de dégradation des protéines est donc délétère pour le fonctionnement des cardiomyocytes. Les mécanismes par lesquels ces systèmes sont délétères ne sont pas encore élucidés.

En conclusion, le remodelage des myofibrilles et le renforcement de la mécanotransmission sont nécessaires à la préservation la fonction myocardique face à une augmentation des contraintes systoliques. La persistance des contraintes et leurs conséquences sur le cytosquelette entraînent une dysfonction diastolique susceptible d'évoluer vers l'insuffisance cardiaque congestive. La perte de la surexpression de l'alpha actine squelettique, l'hyperpolymérisation des

microtubules, la perte de la mécanotransduction et l'hyperactivation des systèmes de dégradation protéique favorisent l'évolution vers la décompensation cardiaque (**Tableau 16**).

Tableau 16. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies barométriques.

-
- Expression ↑ de la bêta-MHC et de l'actine alpha squelettique
 - Sensibilité des myofilaments au calcium ↑
 - Rigidification de la titine
 - Renforcement des systèmes de mécanotransmission extramyofibrillaires (costamères, actine cytoplasmique, microtubules, filaments de desmine)
 - Inhibition probable de la cofiline et activation des systèmes de recyclage du cytosquelette (UPS, autophagosome)
-

Bêta-MHC (isoforme bêta de la myosine, bêta-myosin heavy chain), UPS (ubiquitin-proteasome system).

III.4. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LES CARDIOPATHIES PAR SURCHARGE VOLUMETRIQUE.

Les principales causes d'élévation chronique de la précharge des ventricules sont l'insuffisance aortique, l'insuffisance mitrale, les shunts artério-veineux, les carences en vitamine B1 et la grossesse. Les cardiopathies par surcharge volumétrique peuvent évoluer vers l'insuffisance cardiaque en l'absence de traitement approprié. Le traitement de la cause est souvent possible. Le traitement approprié de l'étiologie normalise la dysfonction myocardique dans la majorité des cas (33,406).

L'augmentation de la précharge entraîne une hypertrophie excentrique des ventricules cardiaques. Les ventricules sont dilatés sans épaissement significatif des parois avec une augmentation du volume des cavités. A court terme, les contraintes diastoliques diminuent au prix d'une élévation des contraintes systoliques. L'hypertrophie excentrique permet le maintien de pressions de remplissage optimales dans un premier temps (295). A long terme, la persistance de pressions de remplissage élevées et l'augmentation du diamètre des ventricules aboutit à une augmentation des contraintes myocardiques systolo-diastoliques et à la dilatation continue des ventricules. Le remodelage myocardique, bénéfique dans un premier temps entraîne une

dysfonction systolo-diastolique caractéristique des cardiopathies volumétriques (407). L'aggravation de la dysfonction cardiaque conduit à une insuffisance cardiaque congestive en l'absence de traitement approprié de la cause. La dysfonction cardiaque se caractérise par une hypertrophie longitudinale des cardiomyocytes, l'absence de fibrose interstitielle (408), une inflammation myocardique (409) et une dérégulation neuro-humorale (33).

L'hypertrophie des cardiomyocytes se caractérise par des altérations de l'homéostasie calcique (410), des remaniements du cytosquelette, l'absence d'activation des gènes de l'hypertrophie cellulaire et une réactivation sélective des gènes fœtaux (152).

Une augmentation de la longueur des myofibrilles sans désorganisation initiale de leur architecture est caractéristique de la cardiopathie volumétrique. Les myofilaments interagissent normalement *in vitro* (411). Les nouveaux sarcomères s'accumulent en série au niveau des disques intercalaires (179).

De manière surprenante, l'augmentation de la longueur des myofibrilles n'est pas associée à une augmentation de la synthèse d'actine alpha (412) ou de bêta-MHC à court (392) et à long terme (97,413,414). Cela suggère que l'accumulation de matériel sarcomérique est induite par une diminution de la dégradation protéique. L'absence d'hyperactivation du gène de l'actine alpha squelettique pourrait être responsable d'une partie de la dysfonction systolique (297,298). L'augmentation chronique des contraintes diastoliques aboutit à une dégradation tardive des myofibrilles qui génère une dégradation supplémentaire des performances contractiles (415).

Alors que les myofilaments interagissent normalement *in vitro*, il existe une diminution de leur vitesse de glissement *ex vivo* (416). L'altération du fonctionnement des myofilaments *ex vivo* est due à une augmentation de la rigidité myocardique. L'augmentation de la rigidité myocardique en l'absence de fibrose (415) est en faveur d'une augmentation de la rigidité des cardiomyocytes. L'augmentation de l'expression de la forme rigide de la titine (415) et la consolidation des costamères (417) sont probablement responsables de cette augmentation de la rigidité cellulaire. Les modifications du cytosquelette cytosolique s'accompagnent de modifications des mitochondries et des microcompartiments cellulaires (418).

De manière attendue, les systèmes de dégradation des protéines sont peu activés à la phase précoce des cardiopathies par surcharge volumétrique. Leur activation tardive pourrait être responsable de la dégradation des myofibrilles et de l'aggravation de la dysfonction myocardique.

Malgré l'augmentation de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires (409), l'absence d'augmentation de l'apoptose des cardiomyocytes suggère l'absence d'activation significative des caspases ou de production d'espèces réactives de l'oxygène au cours des surcharge volumétriques (415). De manière concordante, l'expression des calpaïnes n'est pas modifiée (417). L'activation prolongée des métalloprotéases pourrait être impliquée dans la dégradation tardive des myofibrilles et dans la dilatation des cavités ventriculaires. L'augmentation de l'expression des ARNm de collagène et l'absence de fibrose suggèrent une augmentation de l'activité des métalloprotéases cardiaques (408). L'altération tardive des myofilaments est associée à une dégradation du collagène myocardique et l'inhibition des métalloprotéases protège les myofibrilles (415). Enfin, l'augmentation de l'expression cardiaque des métalloprotéases est associée à une augmentation du remodelage ventriculaire chez les patients atteints d'insuffisance mitrale (419).

L'implication des systèmes de recyclage des protéines dans les cardiopathies par surcharge volumétrique est encore indéterminée. Il est possible que l'absence de dégradation des filaments du cytosquelette s'accompagne d'une relative inhibition de ces systèmes (107).

En conclusion, le remodelage myocardique au cours d'une élévation prolongée de la précharge favorise la diminution des pressions de remplissage au prix d'une dysfonction systolo-diastolique d'apparition progressive. La persistance des contraintes mécaniques et la dégradation tardive des myofibrilles favorisent l'évolution vers l'insuffisance cardiaque congestive (**Tableau 17**).

Tableau 17. Implication du cytosquelette dans les cardiopathies volumétriques.

-
- Dégradation minimale et tardive des myofilaments
 - Rigidification de la titine
 - Renforcement des systèmes de mécanotransmission extramyofibrillaires (costamères)
 - Activation minimale et tardive des protéases
-

III.5. IMPLICATION DU CYTOSQUELETTE DANS LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE.

Le sepsis est une maladie fréquente et grave (420). La dysfonction cardio-circulatoire au cours du sepsis est responsable d'un état de choc. L'apparition d'un état de choc est associé à une augmentation du taux de mortalité chez les patients septiques (421).

La réponse excessive du système immunitaire face à une infection entraîne une inflammation excessive généralisée qui définit le sepsis. L'hyperactivation du système immunitaire en réponse à l'infection (422) provoque la libération de nombreuses substances vaso-actives et pro-inflammatoires comme les cytokines (423,424), le monoxyde d'azote (425) et certains débris cellulaires (426). Ces substances en partie nécessaires au système immunitaire pour lutter contre l'infection sont responsables d'une augmentation du débit sanguin coronaire, d'une coagulation intravasculaire disséminée et de défaillances d'organes dont la dysfonction cardiaque. Malgré l'hypotension artérielle systémique caractéristique du choc septique, le débit de perfusion coronaire est augmenté et il n'existe pas d'ischémie myocardique (427,428). La défaillance cardiaque apparaît dans les premières heures du choc septique, persiste plusieurs jours et disparaît en moins de 2 semaines (429). La dysfonction cardiaque septique se caractérise par une dilatation mono ou biventriculaire (430) entraînant une dysfonction diastolique ou systolo-diastolique (431–433). Il n'y a pas d'argument pour une réelle hypertrophie myocardique avec augmentation de la masse des ventricules. Les ventricules sont dilatés avec une augmentation du volume des cavités sans épaissement significatif des parois (434). Les contraintes mécaniques exercées sur les ventricules sont complexes. Il existe une surcharge volumétrique des deux ventricules associée à une surcharge barométrique du ventricule droit en cas d'atteinte pulmonaire sévère (430).

Alors que pendant longtemps la cardiomyopathie septique était considérée comme une dysfonction fonctionnelle des cardiomyocytes, il est actuellement bien reconnu qu'une destruction majeure de l'architecture myocardique est parfois présente (435). La cardiomyopathie septique se caractérise par un remodelage des cardiomyocytes (436), l'absence de fibrose (408,437), une inflammation myocardique (409), une fuite capillaire (438), un œdème interstitiel (436), une dysfonction métabolique (439) et une dérégulation neuro-humorale (440).

L'hypertrophie des cardiomyocytes est inconstante chez l'homme et chez l'animal. La taille des cardiomyocytes n'est pas modifiée dans la plupart des études (436,441,442).

Les performances contractiles des cardiomyocytes sont altérées au cours du sepsis (442). La dysfonction des cardiomyocytes se caractérise par des anomalies de l'homéostasie calcique (410) (443), une diminution de la sensibilité des myofilaments au calcium (444,445), une dysfonction mitochondriale (446–448), une activation de l'apoptose (449), un stress oxydant (450), des remaniements du cytosquelette, l'absence d'activation des gènes de l'hypertrophie cellulaire et une réactivation sélective des gènes fœtaux (451).

L'activation des gènes des protéines des myofilaments est variable dans le temps. Il existe une augmentation précoce des ARNm de beta- et d'alpha-MHC alors que les taux d'ARN d'actine alpha ne changent pas. Alors que les ARNm de myosine continuent d'augmenter au cours du temps, l'ARNm d'actine alpha cardiaque baisse légèrement sans modification de l'actine alpha squelettique (452). Les cytokines ont des effets différents sur la synthèse des protéines des myofilaments. Alors que l'IL1-béata (interleukine-1-béata) augmente la synthèse des ARNm d'actine et de myosine, TNF-alpha (tumor necrosis factor-alpha) les diminue. L'interféron-gamma active la synthèse des myosines et inhibe celle de l'actine alpha-cardiaque (453). L'évolution relative des taux de chaque cytokine au cours du temps pourrait être en partie responsable des variations complexes de l'expression des protéines des myofilaments (454).

Il existe une activation de nombreux systèmes de dégradation des protéines dans les cardiomyocytes au cours du sepsis. La production d'espèces réactives de l'oxygène est augmentée (450). La calpaïne (455), les caspases (442,449) et les métalloprotéases (456) sont surexprimées et activées. L'augmentation des espèces réactives de l'oxygène ainsi que l'activation des caspases, de la calpaïne et des métalloprotéases sont délétères. Leur inhibition améliore la fonction contractile des cardiomyocytes. En revanche l'augmentation de l'expression de la gelsoline semble bénéfique. Une production faible de gelsoline est associée à une aggravation de la fonction contractile (457). Il n'existe pas de donnée directe sur l'implication de la cofiline dans la dysfonction myocardique septique.

La plupart des protéines de choc thermique dont la crystalline alpha-B sont surexprimées dans les cardiomyocytes au cours du sepsis (458). La baisse de certaines protéines de choc thermique ou leur insuffisance relative par rapport au niveau d'agression protéique favorise la dysfonction

contractile. L'augmentation de l'expression de la plupart des protéines de choc thermique protège de la dysfonction myocardique (458,459).

Il existe peu de données sur l'implication des systèmes de recyclage des déchets protéiques dans la myocardopathie septique. UPS est activé dans le myocarde des patients décédés de choc septique (460) mais l'activation massive des caspases pourrait inhiber en partie son activité (336). Alors que l'autophagosome est activé dans modèle murin de myocardopathie septique (461), celui-ci est inactif dans les cardiomyocytes de patients décédés de choc septique (462). L'implication exacte des systèmes de recyclage des protéines au cours de la myocardopathie septique est encore indéterminée.

Le contenu des cardiomyocytes en protéines sarcomériques est inchangé ou faiblement abaissé à 72 heures (453). La persistance de la synthèse des protéines des myofilaments et l'activation des systèmes de dégradation conduit à une désorganisation des myofibrilles (442) et à l'accumulation d'amas sarcomériques non fonctionnels (436).

Certains remaniements des troponines diminuent la sensibilité des myofilaments au calcium. Cette diminution de l'activation de la contraction par le calcium aggrave la dysfonction contractile des myofibrilles. La phosphorylation de la troponine I diminue la sensibilité des myofilaments au calcium et son inhibition atténue la dysfonction contractile des cardiomyocytes (444,445). Le clivage de la troponine T par les caspases altère également la sensibilité des myofilaments au calcium et son inhibition atténue la dysfonction contractile des cardiomyocytes (442).

L'hyperactivation des protéases entraîne une destruction de l'ensemble des structures des myofibrilles. Les disques Z sont déformés et perdent leur alignement (442) mais l'implication exacte des structures responsables de la mécanotransmission intrasarcomérique dans la myocardopathie septique est indéterminée. Les structures responsables de la mécanotransmission cytosolique sont modifiées au cours de la myocardopathie septique. L'altération des structures du cytosquelette cytosolique entraîne un remaniement des disques intercalaires (463,464) ainsi qu'une déformation (465) et des ruptures du sarcolemme (466). Les complexes de la dystrophine sont détruits et l'inhibition du stress oxydant atténue cette dégradation (465). L'implication de l'actine cytosolique, de la desmine et des microtubules dans la myocardopathie septique est inconnue.

En conclusion, la dysfonction myocardique septique est la résultante d'une cardiopathie secondaire à l'atteinte circulatoire et d'une véritable cardiomyopathie induite par la réaction inflammatoire systémique. La cardiopathie septique est due à une surcharge volumétrique globale et dans certains cas une surcharge barométrique du ventricule droit. La cardiomyopathie septique se caractérise par une destruction et une dysfonction des myofilaments, une dysfonction mitochondriale et une activation des systèmes de dégradation des protéines. L'implication des systèmes de mécano-transmission et des systèmes de recyclage des déchets cellulaires est encore peu connue (**Tableau 18**).

Tableau 18. Implication du cytosquelette dans la cardiomyopathie septique.

- Activation aiguë des protéases et surproduction d'espèces réactives de l'oxygène
 - Désorganisation majeure et précoce des myofilaments
 - Diminution de la sensibilité des myofilaments au calcium
 - Déformation des disques Z
 - Dégradation des costamères et remaniement des disques intercalaires
 - Expression de protéines de choc thermique ↑
-

OBJECTIFS DU TRAVAIL

Des altérations du cytosquelette sont impliquées dans la physiopathologie de nombreuses cardiomyopathies. L'activation massive des systèmes de dégradation protéique au cours de la cardiomyopathie septique est responsable de lésions des myofilaments et de certaines structures responsables de la mécano-transmission dans les cardiomyocytes. L'implication de l'actine cytosolique et des microtubules au cours des cardiomyopathies inflammatoires et septiques est encore inconnue.

Le but de ce travail était d'étudier l'implication des microtubules et des microfilaments dans des modèles d'inflammation aigüe de muscles cardiaques. Dans un premier temps, nous avons étudié l'implication des microtubules dans un modèle de dysfonction inflammatoire de muscle pectiné humain induite par la chimiokine macrophage migration inhibitory factor (MIF). Dans un second temps, nous avons analysé l'implication des microfilaments dans un modèle murin de dysfonction cardiaque induite par une endotoxine, le lipopolysaccharide (LPS).

RESULTATS

Article 1. Macrophage Migration Inhibitory Factor Induces Contractile and Mitochondria Dysfunction by Altering Cytoskeleton Network in the Human Heart.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) est une chimiokine pro-inflammatoire synthétisée et sécrétée par de nombreuses cellules comme les macrophages, les cellules de l'antéhypophyse et les cardiomyocytes. Des taux élevés de MIF sont retrouvés dans le sérum des patients septiques et leur augmentation est corrélée avec une mortalité élevée. MIF induit une dysfonction cardiaque chez les rongeurs mais les mécanismes d'action ne sont pas complètement élucidés. Certains effets de MIF sur la migration des macrophages sont dus à un remodelage du cytosquelette. Le but de ce travail a consisté à évaluer l'implication de l'architecture des microtubules dans la dysfonction myocardique induite par MIF.

Pour cela, nous avons testé l'effet de 60 minutes d'exposition à MIF (100 ng/mL) sur la contraction isométrique de trabécules auriculaires droites humaines en l'absence et en présence de colchicine (10 μ M), un agent dépolymérisant les microtubules, ou de taxol (10 μ M), un agent stabilisateur des microtubules. Des fibres musculaires issues des trabécules exposées étaient ensuite perméabilisées pour une analyse de la respiration mitochondriale. L'architecture des myofibrilles, la morphologie des mitochondries et l'état de polymérisation de microtubules étaient analysés en microscopie électronique et en microscopie confocale.

En comparaison au groupe contrôle, MIF induisait une diminution des capacités contractiles des trabécules et une altération de la respiration mitochondriale. L'altération des fonctions mitochondriales impliquait particulièrement le complexe I de la chaîne respiratoire et s'accompagnait d'une augmentation de la perméabilité de la membrane externe à l'ADP. Un préconditionnement par la colchicine atténuait la dysfonction contractile et la diminution de la respiration par le complexe I de la chaîne respiratoire alors que le taxol était sans effet.

La colchicine diminuait la désorganisation des myofibrilles, la fragmentation mitochondriale et l'hyperpolymérisation des microtubules induites par MIF.

En conclusion, ces résultats suggèrent que MIF induit une dysfonction contractile et une dysfonction mitochondriale dans le muscle cardiaque humain. L'hyperpolymérisation des microtubules induite par MIF pourrait être responsable d'une désorganisation de l'architecture des mitochondries et d'une hyperviscosité du cytosquelette des cardiomyocytes.

Résultats non publiés.

La cardiomyopathie septique se caractérise par une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène et par une activation de nombreuses protéases comme la calpaïne, les caspases et les métalloprotéases. Les espèces réactives de l'oxygène et les protéases sont responsables de la dénaturation de nombreuses protéines du cytosquelette. L'absence d'augmentation de la synthèse protéique et l'absence d'hypotrophie des cardiomyocytes suggère l'accumulation de structures protéiques anormales dans le cytosol et les myofibrilles. ROCK est une enzyme inhibitrice de la cofiline et stabilisatrice des microfilaments. Rho est une petite GTPases soluble activatrice de ROCK dont la synthèse est augmentée dans le myocarde septique murin (467). Certaines données suggèrent leur activation au cours du sepsis. ROCK est activée par l'activation des polynucléaires neutrophiles dans le myocarde murin (221). De plus, l'activation des caspases provoque le clivage et l'activation de ROCK (329,468). Le but de ce travail a consisté à évaluer l'implication de l'accumulation de microfilaments d'actine et l'implication de ROCK dans la dysfonction myocardique précoce induite par une endotoxine bactérienne, le lipopolysaccharide (LPS).

Pour cela, nous avons testé l'effet à 4 heures de l'injection intrapéritonéale de LPS (20 mg/Kg) chez des souris males IOPS-NMRI avec ou sans préconditionnement par le fasudil (20 mg/Kg), un inhibiteur de ROCK. La fonction contractile du myocarde était évaluée par la technique de cœur isolé perfusé sur colonne de Langendorff et la fonction mitochondriale était évaluée par l'analyse de la respiration de fibres ventriculaires gauches perméabilisées. La polymérisation et la distribution des microfilaments d'actine était analysée en microscopie confocale.

En comparaison au groupe contrôle, le LPS induisait une diminution des capacités contractiles du myocarde et une altération de la respiration mitochondriale. L'altération des fonctions mitochondriales impliquait particulièrement le complexe I de la chaîne respiratoire et ne s'accompagnait pas d'une augmentation de la perméabilité de la membrane externe à l'ADP. Un préconditionnement par le fasudil atténuait la dysfonction contractile, la dysfonction mitochondriale, la désorganisation et l'hyperpolymérisation des microfilaments induites par le LPS.

MANUSCRIPT IN PROCESS :

METHODS.

Animals and Chemicals.

Six- to 8-week-old male IOPS-NMRI mice (Charles Rivers Laboratories, Lyon France) were housed for 6 days before manipulation. All experiments were conducted in accordance with the National and European Institutes of Health guidelines for the use of laboratory animals and were approved by the Lille University. The investigation conforms to the Guide and Use of Laboratory Animals published by the U.S. National Institutes of Health (NIH Publication N° 85-23, revised 1996).

All chemicals were purchased from Sigma Aldrich (St. Quentin Fallavier, France), except Fasudil that was purchased from Cayman Chemicals (Ann Arbor, USA) and HEPES from Euromedex (Souffelweyersheim, France).

Experimental Design.

Lipopolysaccharide (LPS) exposition was induced by a single intraperitoneally (i.p.) injection of LPS (20 mg/Kg). The control group received the same i.p. injection of 0.9% saline.

Every mice was randomized to receive either fasudil (20 mg/Kg) or vehicle i.p. 30 min prior to LPS or saline injection.

Four hours after LPS or saline injection, mice were sacrificed with cervical dislocation. The heart was rapidly excised and used for the following experiments.

Isolated Perfused Heart Preparation.

The heart was placed into ice-cold Krebs-Henseleit buffer solution. Then the heart was mounted onto a Langendorff apparatus and perfused in a retrograde fashion via the aorta at either a constant flow rate of 2 mL/min or a constant perfusion pressure of 95 mmHg with aerated (95% O₂, 5% CO₂) Krebs-Henseleit buffer (37°C; pH 7.35-7.40).

Cardiac contractile function was assessed using a metal hook inserted into the heart apex to control and record tension and heart rate. Tension was recorded continuously with a force transducer (5mg-25g MT0201; ADInstruments Ltd., Paris, France), digitized online at a sampling frequency of 400 Hz and stored for analysis (Chart version 7 Pro; ADInstruments Ltd., Paris, France). Transducers were calibrated and connected to a ML224 bridge amplifier which fed into a powerlab 8SP high-performance data acquisition system (ADInstruments

Ltd, Paris, France). Heart were stretched to 1 gram-tension and paced at 9 Hz with 5 ms square pulses at a voltage of 10 volts. The resting tension was then increased in increments of 0.25 g until optimal mechanical performance of the length-active isometric tension curve. Heart was allowed to equilibrate for 20 min before recordings. Developed tension, i.e., the difference between resting and total tension was calculated and averaged over 50 consecutive isometric contractions for statistical analysis.

High-Resolution Respirometry.

Thin left ventricle bundles (approximately 300 μm length and 60 μm width) were separated under stereomicroscopic control in ice-cold BIOPS relaxing solution containing 2.77 mM CaK_2EGTA , 7.23 mM K_2EGTA , 6.56 mM MgCl_2 , 0.5 mM dithiothreitol, 50 mM K-MES, 20 mM imidazole, 20 mM taurine, 5.3 mM Na_2ATP , 15 mM phosphocreatine, pH 7.1. Fibers were separated with sharp forceps and then placed into 2mL of ice-cold BIOPS, and 20 μL of saponin (freshly-prepared stock solution 5mg/mL) are added to obtain final concentration of 50 μM . Bundles were maintained for 30 min with saponin solution, and then washed for 5 min three times in ice-cold respiration medium MiRO5 containing 110 mM sucrose, 20 mM HEPES, 10 mM KH_2PO_4 , 20 mM taurine, 3 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 60 mM MES-K, 0.5 mM EGTA and 0.1 % bovine serum albumin; pH 7.1. Two to 4 mg of wet cardiomyocyte bundles from each experimental group were incubated into respirometer chambers. Respiration rates were measured (O_2k oxygraph, Oroboros, Innsbruck, Austria; gain for O_2 sensor 4; polarization voltage 800 mV; stirrer speed 750 rpm; data recording interval 2 seconds; chamber temperature 25°C) and expressed in picomoles O_2 per second per milligram wet weight. Data acquisition and analysis were performed with Datlab4 software (Oroboros, Innsbruck, Austria). Substrate and / or inhibitors for respiratory experiments were added within MiRO₅ in a step-by-step manner using micro syringes. Chemical agents were sequentially prepared according to Oroboros manufacturer data sheet and administered as described (1). In brief, the following steps were completed:

- Complex I-dependent state 2 respiration (State2_{C1}) was determined as the respiration rate in the presence of 5 mM pyruvate and 2 mM L-malate dissolved in H_2O , which activate the Krebs cycle providing NADH to complex I of the respiratory chain.
- K_m of mitochondrial respiratory chain for ADP (gradual increases of ADP concentration needed to achieve a half-maximum respiration rate) was used as an estimate of the mitochondria permeability for ADP.

- Complex I-dependent state 3 respiration (State3_{CI}) was determined as a phosphorylation-stimulated respiration rate in the presence of 3 mM ADP added to the State2_{CI} medium providing ADP to F₁-F₀ ATP synthase. The coupling of phosphorylation to oxidation was estimated by calculating the respiratory control ratio (RCR) as the ratio State3_{CI} / State2_{CI}.
- Intactness of mitochondrial outer membrane was evaluated by the mean of cytochrome c. In brief, respiration in the presence of 10 μM cytochrome c dissolved in H₂O (horse heart cytochrome c, Sigma Aldrich, France) was determined (State3_{CI+cytC}). (State3_{CI+cytC} - State3_{CI}) / State3_{CI} ratio was used as a permeability index of the outer mitochondrial membrane.
- Complex II-dependent state 3 respiration in presence of cytochrome C (State3_{CII+cytC}) was determined as a phosphorylation-stimulated respiration rate in the presence of 10 mM succinate dissolved in H₂O, 0.5 μM of complex I inhibitor rotenone dissolved in ethanol and added to the State3_{CI} medium. Succinate activated the Krebs cycle enzyme succinate dehydrogenase providing FADH₂ for complex II (succinate dehydrogenase) of the respiratory chain.
- At the end of each experiment, chambers were calibrated for zero O₂ content with dithionite.

Confocal Immunofluorescence Imaging.

Hearts were fixed in 4% paraformaldehyde at 4°C overnight. After paraffin embedding, hearts were sliced in 4μm width samples and polymerized actin fibers were visualized by the use of Texas Red-phalloidin (Molecular Probes) staining. Samples were imaged using x40 and ×63/1.4 oil immersion Plan Apo objectives, 561 nm diode-pumped solid-state laser and 405 nm ultraviolet laser of LSM710NLO confocal microscope (Carl Zeiss, Jena, Germany). Microscope parameters were kept constant between x40 magnification images in order to compare fluorescence intensity. Parameters were optimized for each x63 magnification image to analyse microfilament locations.

Statistical Analysis.

Results were analyzed with the SPSS for Windows software, version 15.0 (SPSS, Paris-la-Defense, France). Qualitative variables are reported as number and percentage and were compared between groups using a Fisher test. Numerical data are given as mean ± SEM. The Shapiro-Wilk test was used to test for normal distribution of numerical data. Comparison of

two means between was performed using a Student t test or a Mann–Whitney U test, as appropriate. Comparison of the means between greater than or equal to three groups was performed using a one-factor repeated-measures analysis of variance (ANOVA). A p value of less than 0.05 was considered statistically significant. When a significant difference was found, we identified specific differences within and between groups using a Bonferroni post hoc analysis.

RESULTS.

1. Fasudil treatment improved cardiac dysfunction in LPS-exposed mice.

Compared with controls, LPS consistently reduced isometric force (1.30 ± 0.12 g vs. 0.73 ± 0.1 g ; $p < 0.05$) when hearts were studied at constant coronary flow of 2 mL/min (**Fig. 1A-B**). Fasudil prevented contractile dysfunction whereas colchicine (2 mg/Kg) a microtubule-depolymerizing agent, and taxol (25 mg/Kg) a microtubule-stabilizing agent did not (**Fig. 1A-B**). Compared with controls, coronary pressure was lower in LPS, fasudil and colchicine groups, whereas it was higher in taxol group (**Fig. 1C**). Fasudil prevention of LPS-induced contractile dysfunction was maintained when hearts were studied at constant coronary pressure of 95 ± 5 mm Hg (**Fig. 2A-B**). Compared with controls, coronary flow was higher in LPS and fasudil groups (**Fig. 2C**).

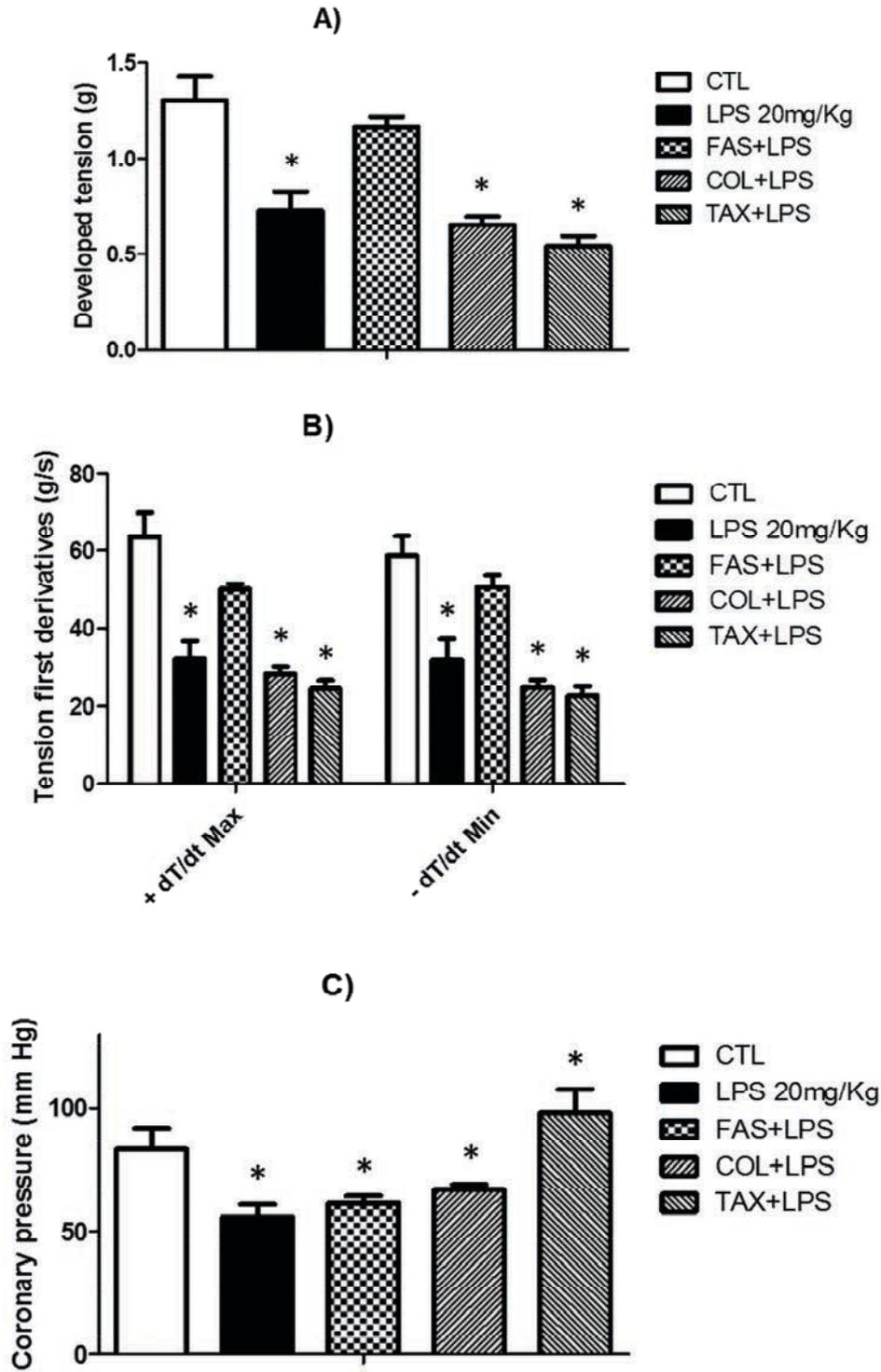


Figure 1. Effects of fasudil (20 mg/Kg) (FAS+LPS), colchicine (2 mg/Kg) (COL+LPS) and taxol (25 mg/Kg) (TAX+LPS) on LPS-induced cardiac contractile dysfunction. Developed tension (A), tension first derivatives (B), and coronary pressure (C) levels during isometric contraction of isolated perfused hearts with constant coronary flow (2 mL/min). Data are mean \pm SEM; n = 5 to 7 in each group. *p < 0.05 vs. controls.

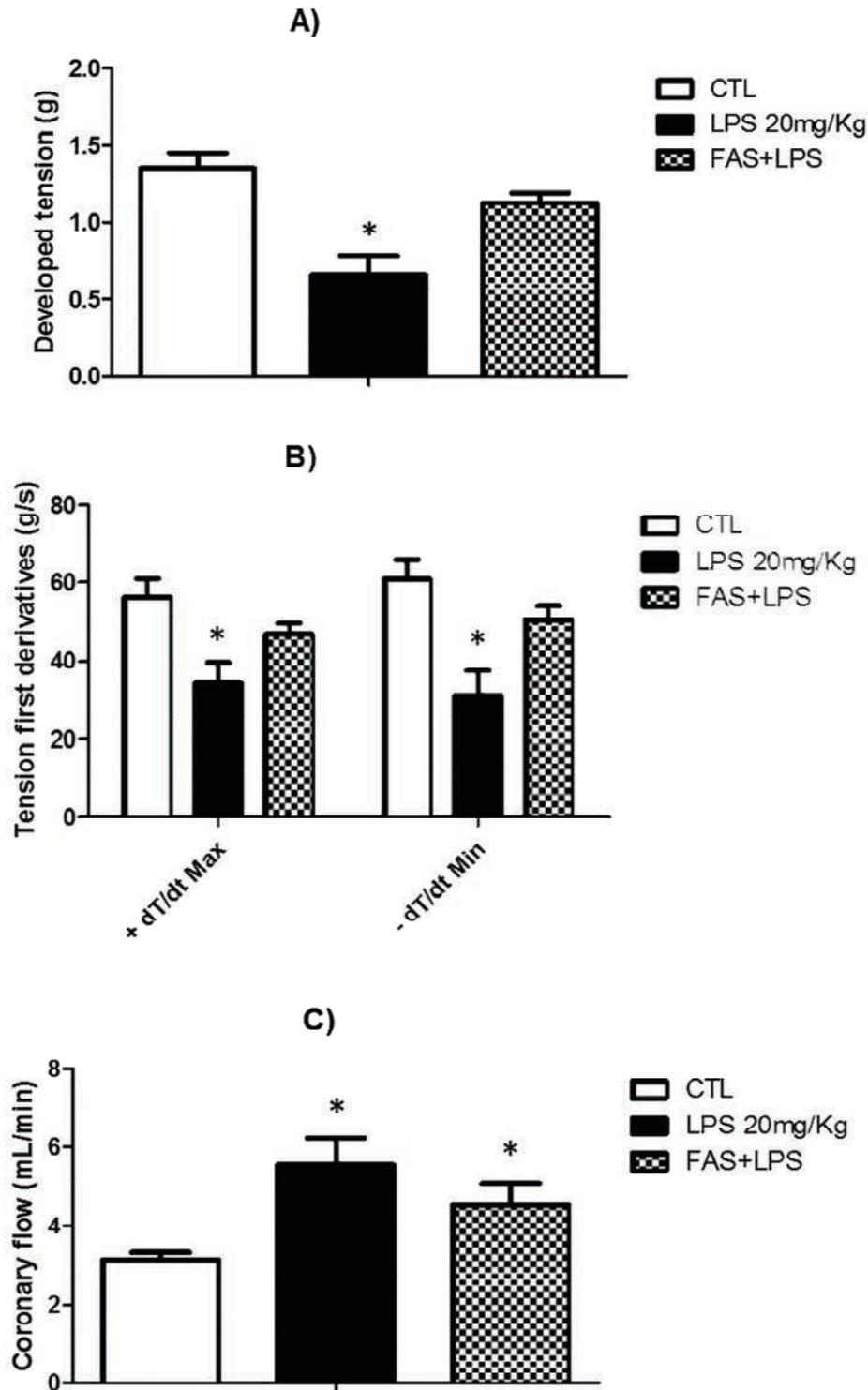


Figure 2. Effects of fasudil (20 mg/Kg) (FAS+LPS) on LPS-induced cardiac contractile dysfunction. Developed tension (A), tension first derivatives (B), and coronary flow (C) levels during isometric contraction of isolated perfused hearts with constant coronary pressure (95 mm Hg). Data are mean \pm SEM; n = 5 to 7 in each group. *p < 0.05 vs. controls.

2. Fasudil treatment prevented mitochondrial dysfunction in myocardial fibers of LPS-exposed mice.

Myocardial fibers from LPS-treated mice exhibited reduced State3_{CI} and State3_{CI+II}, which was accompanied with reduction of the RCR ($8,1 \pm 0,4$ in CTL vs. $7,2 \pm 0,5$ LPS group ; $p < 0.05$). Fasudil prevented LPS-induced decrease in State3_{CI}, State3_{CI+cytC} and RCR (**Fig 3**). Exogenous cytochrome c had minor effects on respiration rates ($6 \pm 2\%$ in control and $2.8 \pm 1.4\%$ in LPS group), suggesting that outer mitochondrial membrane was intact. In a separate series of experiments, we evaluated the effects of LPS on the apparent mitochondrial respiratory chain K_m for ADP (K_{mADP}). K_{mADP} was not statistically different in LPS compared with control mice ($263 \pm 23 \mu\text{M}$ in CTL vs. 285 ± 39 in LPS group), demonstrating the intactness of diffusion barriers for ADP into the intermembrane space.

3. Fasudil treatment prevented actin hyperpolymerization in myocardium of LPS-exposed mice.

Strong polymerized F-actin staining visualized by immunofluorescence confocal microscopy was associated with LPS treatment in fixed left ventricle myocardium (**Fig. 4**). F-actin staining was more heterogeneous and particularly distributed in subsarcolemnal area in LPS compared with control group (**Fig. 5**). Fasudil prevented LPS-induced hyperpolymerization and mislocalization of microfilaments in mice myocardium (**Fig. 4 and 5**).

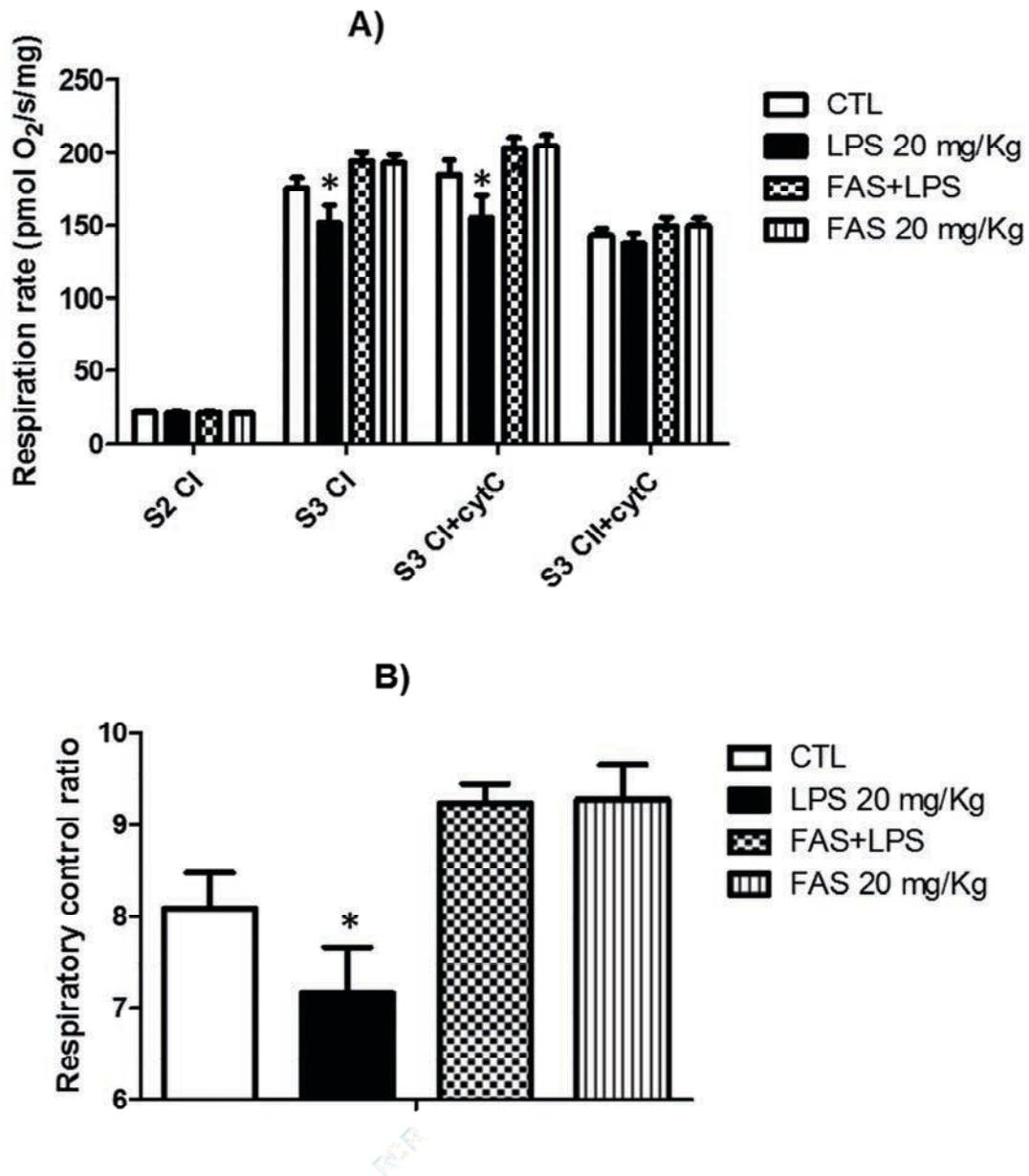


Figure 3. Effects of fasudil (20 mg/Kg) (FAS+LPS) on LPS-induced mitochondrial dysfunction. Respiration rates of permeabilized left ventricle myocardium are given in picomoles O₂ per second per milligram wet weight (pmol/O₂/sec/mg). See Materials and Methods for detailed description. State2_{CI} complex I-dependent state 2 respiration; State3_{CI} complex I-dependent state 3 respiration; State3_{CI+cytC} complex I-dependent state 3 respiration in presence of cytochrome C; State3_{CII+cytC} complex II-dependent state 3 respiration in presence of cytochrome C. Data are mean ± SEM; n = 7 in each group. *p < 0.05 vs. controls.

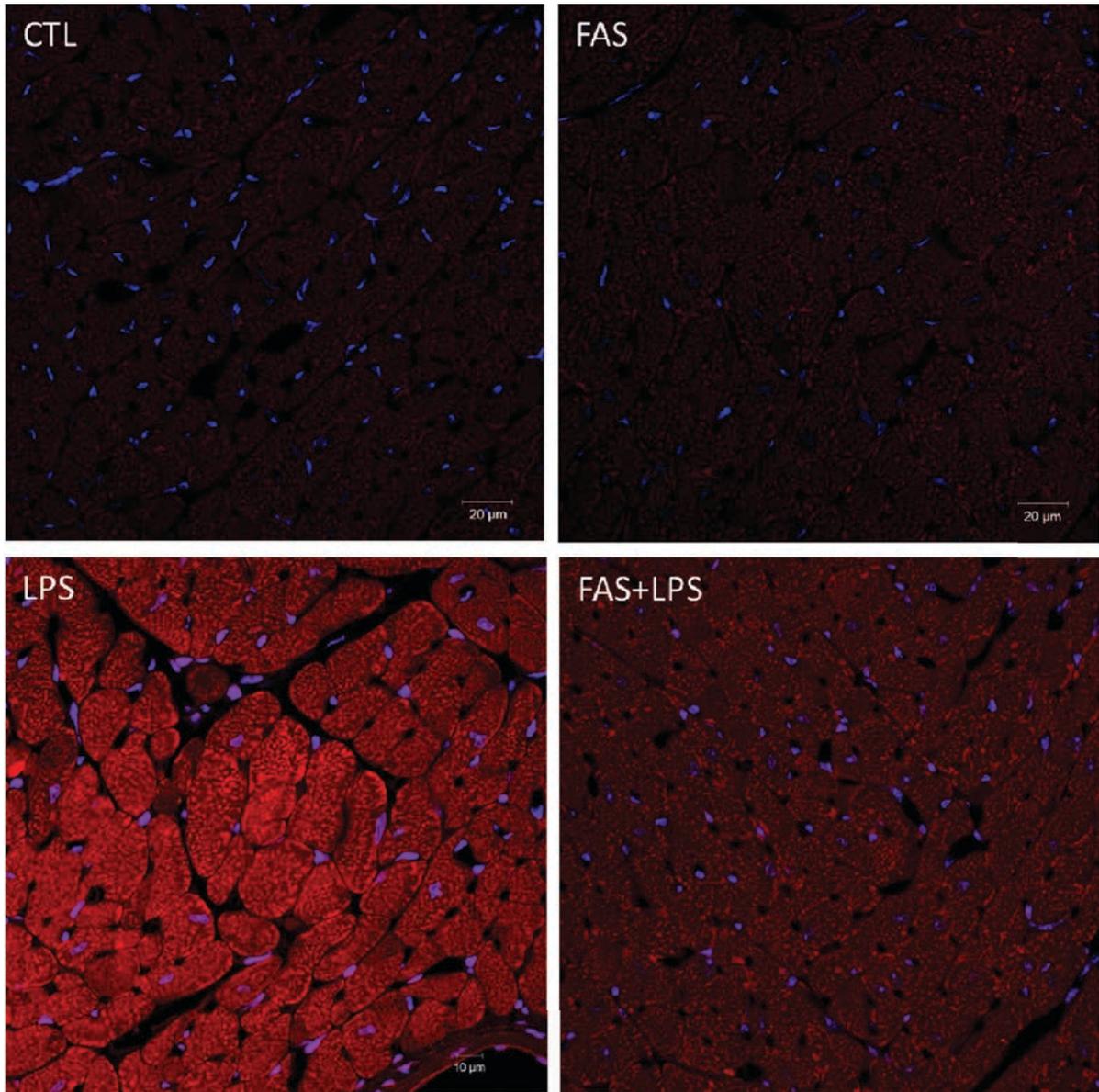


Figure 4. Effects of LPS (20 mg/Kg) and/or fasudil (20 mg/Kg) on polymerized actin staining of left ventricle myocardium. Representative x40 magnification pictures of transversal sectional views from control (CTL), LPS (LPS), fasudil (FAS) and fasudil+LPS (FAS+LPS) groups. Microscope parameters were kept constant between pictures to compare fluorescence intensity.

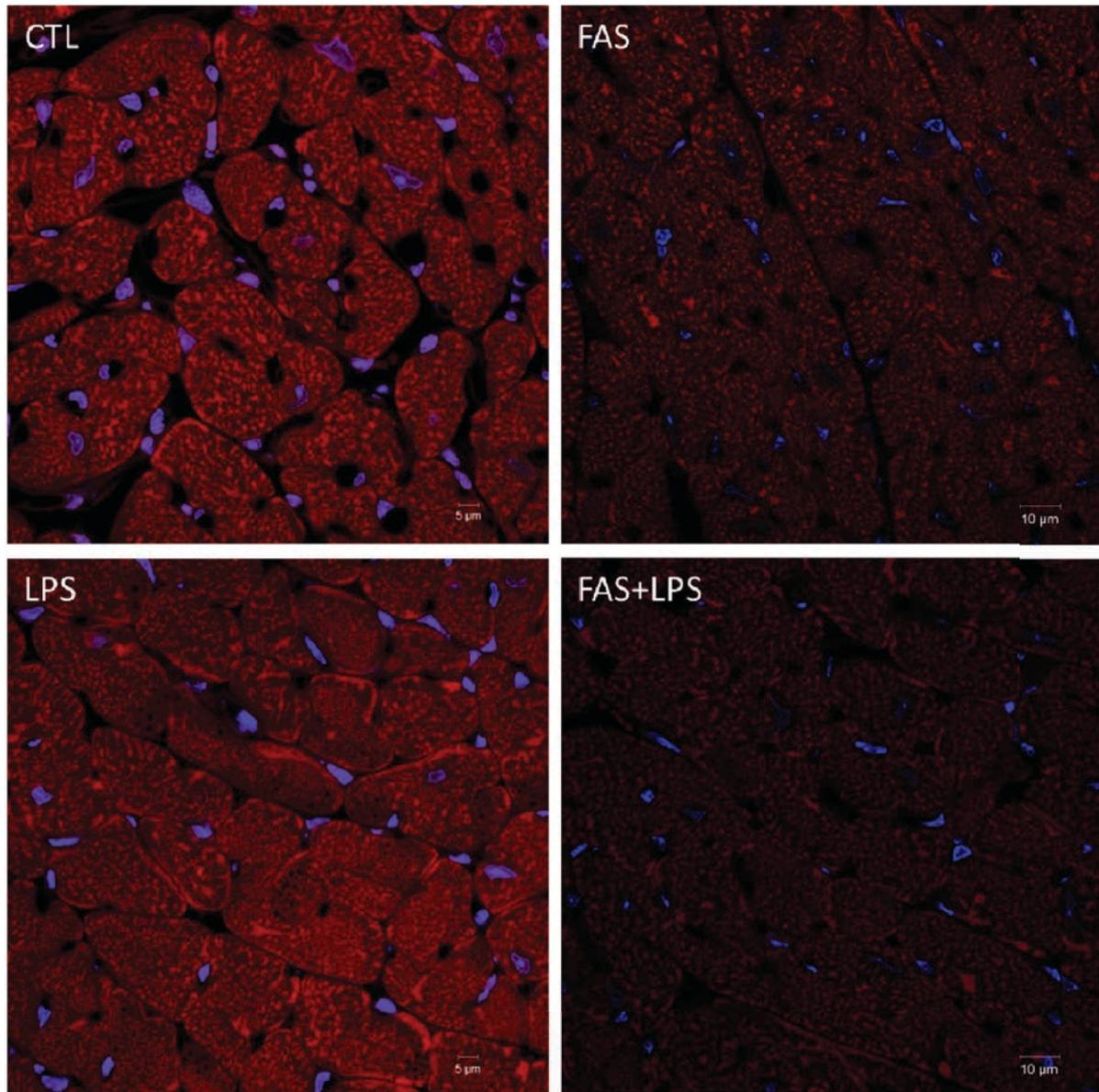


Figure 5. Effects of LPS (20 mg/Kg) and / or fasudil (20 mg/Kg) on polymerized actin staining of left ventricle myocardium. Representative x63 magnification pictures of transversal sectional views from control (CTL), LPS (LPS), fasudil (FAS) and fasudil+LPS (FAS+LPS) groups. Microscope parameters were optimized for each picture to analyse microfilament locations.

References

- (1) Kuznetsov AV, Veksler V, Gellerich FN, et al: Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. *Nat Protoc* 2008; 3:965-976.

DISCUSSION

I. IMPLICATION DES MICROTUBULES DANS LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE.

La première partie de ce travail met en évidence que MIF, une chimiokine synthétisée en excès au cours du sepsis provoque une hyperpolymérisation rapide (60 min) des microtubules des cardiomyocytes responsable d'une dysfonction contractile et mitochondriale dans un modèle de trabécules auriculaires droites humaines. La colchicine, un agent dépolymérisant les microtubules n'ayant pas subits de modification post-traductionnelle (61), prévient les dysfonctions contractile et mitochondriale induites par MIF. L'effet bénéfique de la colchicine suggère que la stabilisation des microtubules induite par MIF ne s'accompagne pas de modifications post-traductionnelles significatives.

Ces résultats confirment que certaines cytokines pro-inflammatoires entraînent une augmentation de la polymérisation de la tubuline dans les cardiomyocytes. Une étude récente démontre que l'IL6 (interleukine 6) provoque une hyperpolymérisation des microtubules dans un modèle de cardiomyocytes néonataux de rats (469). Contrairement à MIF, l'IL6 entraîne une stabilisation tardive des microtubules (24 H) accompagnée de modifications post-traductionnelles de la tubuline sous forme de glutaminations et d'acétylations.

L'action rapide de MIF sur la fonction contractile dans notre modèle de trabécules auriculaires confirme les données issues des modèles animaux. L'exposition de cœurs isolés de souris à 20 ng/mL de MIF provoque une dysfonction contractile en 20 minutes (470). De plus la rapidité de l'action délétère de MIF sur le myocarde est compatible avec la dynamique des microtubules. Le taxol, un agent stabilisant des microtubules, entraîne une hyperpolymérisation de la tubuline dans des cardiomyocytes félins dès 30 à 60 minutes (52).

En revanche, les mécanismes par lesquels MIF entraîne une hyperpolymérisation des microtubules ne sont encore connus. De plus, l'existence de nombreuses cellules non musculaires dans les trabécules auriculaires ne permet pas de conclure à une action directe de MIF sur les cardiomyocytes. L'hyperpolymérisation des microtubules des cardiomyocytes pourrait dépendre des effets de MIF sur les fibroblastes, les macrophages ou les cellules endothéliales (471).

L'accumulation de tubuline dans les cardiomyocytes est retrouvée dans de nombreuses pathologies comme les cardiomyopathies dilatées (180), les cardiopathies hypertensives (52) et l'insuffisance cardiaque terminale (472). L'accumulation de microtubules provoquent une

hyperviscosité du cytosol et une gêne aux mouvements des cardiomyocytes (176,473). Dans certaines situations pathologiques où les microtubules sont hyperpolymérisés mais ne sont pas protégés par des modifications post-traductionnelles, la colchicine permet une correction de la viscosité et une normalisation des propriétés contractiles des cardiomyocytes (474). Bien que non mesurée dans ce travail, l'hyperviscosité des cardiomyocytes induite par l'hyperpolymérisation des microtubules est un mécanisme probable de la dysfonction myocardique induite par MIF.

Nos travaux mettent en évidence que MIF induit une dysfonction mitochondriale aiguë dans le muscle pectiné humain. La dysfonction mitochondriale induite par MIF se décompose en deux anomalies distinctes : une diminution de la capacité maximale de la chaîne respiratoire prédominant sur le complexe I et une augmentation de la perméabilité des mitochondries à l'ADP. La prévention de la dysfonction de la chaîne respiratoire par la colchicine suggère que l'état de polymérisation de la tubuline des cardiomyocytes est un élément clef de la dysfonction mitochondriale induite par MIF. Dans des modèles d'insuffisance cardiaque ou d'ischémie-reperfusion, la densification des microtubules des cardiomyocytes peut entraîner une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène en moins de 60 minutes (244) et activer la voie mitochondriale de l'apoptose en 6 à 24 heures (65,475). Bien que non vérifié dans nos travaux, la polymérisation excessive des microtubules induite par MIF pourrait entraîner une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène responsable des anomalies de la respiration mitochondriale.

L'absence de prévention de l'augmentation de la perméabilité des mitochondries à l'ADP par la colchicine suggère que cet effet de MIF est indépendant de l'état de polymérisation de la tubuline des cardiomyocytes. Dans des modèles de desminopathies, une altération de la respiration mitochondriale prédominant sur le complexe I est associée à une augmentation de la sensibilité des mitochondries à l'ADP (250,253). Des anomalies du réseau de desmine pourraient être associées aux modifications des microtubules induites par MIF et induire une hyperperméabilité de la membrane mitochondriale. Par ailleurs, la phosphorylation de VDAC, une porine de la membrane mitochondriale externe, augmente son affinité pour la tubuline libre et entraîne une diminution de sa perméabilité à l'ADP (246,476,477). La déphosphorylation de VDAC et une diminution de son affinité pour la tubuline libre est un autre mécanisme possible de l'augmentation de la perméabilité des mitochondries à l'ADP induite par MIF.

Bien entendu, les résultats de ce travail sur trabécules auriculaires droites humaines sont plus des preuves de concepts que la preuve d'une réelle implication physiopathologique de l'hyperpolymérisation de la tubuline au cours de la cardiomyopathie septique humaine. La localisation auriculaire ou ventriculaire et la chronologie de la densification du réseau de microtubules au cours de la dysfonction myocardique septique devront être précisées dans des modèles expérimentaux plus intégrés reflétant mieux la complexité de cette pathologie (478).

La seconde partie de ce travail met en évidence que la colchicine est sans effet sur la dysfonction cardiaque précoce (4 heures) induite par l'injection intrapéritonéale de LPS dans un modèle murin. Même si ce résultat peut paraître surprenant il n'est pas incompatible avec l'hypothèse d'une hyperpolymérisation délétère des microtubules au cours de la cardiomyopathie inflammatoire ou septique. Tout d'abord, MIF et l'IL6 sont deux cytokines sécrétées en excès au cours du sepsis capables d'entraîner une hyperpolymérisation des microtubules et une dysfonction myocardique (424,470,479,480). Ensuite, l'inflammation favorise la synthèse de tubuline dans les cardiomyocytes (467). Enfin il existe des signes indirects en faveur d'un remaniement des jonctions communicantes et des connexines-43 sous la dépendance des microtubules au cours du syndrome septique grave. Dans une étude récente, il a été mis en évidence une désorganisation et une délocalisation des connexines-43 dans le myocarde ventriculaire de patients décédés de choc septique (462).

Alors qu'une hyperpolymérisation délétère des microtubules est probable au cours de la dysfonction myocardique induite par le LPS, plusieurs hypothèses pourraient expliquer l'absence de prévention de la dysfonction contractile par la colchicine dans notre modèle.

Premièrement, certaines modifications post-traductionnelles des microtubules les protègent de la dépolymérisation induite par la colchicine (49,61). La synthèse et l'excrétion d'IL6 dans notre modèle pourrait induire une glutamination et une acétylation de la tubuline responsables d'une résistance des microtubules à la colchicine (469). Dans cette hypothèse, la sensibilité au nocodazole pourrait être conservée.

Deuxièmement, la fonction contractile du tissu ventriculaire murin pourrait être moins sensible que le muscle pectiné humain aux changements de viscosité intracellulaire induits par les variations de polymérisation des microtubules. Le tissu auriculaire des gros mammifères contient essentiellement de la titine compliante N2BA et la matrice extracellulaire n'influence que peu l'étirement des sarcomères. Inversement, le myocarde ventriculaire murin contient majoritairement de la titine rigide N2B et la matrice extracellulaire limite nettement l'étirement

des sarcomères (160). Par conséquent, le tissu auriculaire humain est plus compliant que le myocarde ventriculaire murin. Il est possible que l'influence de la polymérisation des microtubules sur la force passive du myocarde ventriculaire murin soit masquée par la rigidité induite par la titine N2B et le collagène.

Troisièmement, MIF n'a pas d'effet précoce sur la dysfonction myocardique induite par le LPS. Dans des modèles murins, l'inhibition de MIF ne prévient pas l'apparition de la dysfonction cardiaque inflammatoire mais accélère la récupération de la fonction contractile entre la huitième et la quarante-huitième heure post-LPS (470,475). Il est donc possible qu'il n'y ait aucune densification du réseau de microtubules dans notre modèle de dysfonction myocardique précoce induite par le LPS. L'absence d'implication aussi précoce des microtubules dans la cardiomyopathie inflammatoire pourrait expliquer l'absence d'effet de la colchicine sur la dysfonction myocardique.

La poursuite de notre travail consistera à étudier dans un premier temps les effets du nocodazole sur le réseau de microtubules, la respiration mitochondriale et la fonction contractile du myocarde ventriculaire dans notre modèle murin de dysfonction myocardique précoce induite par le LPS. Dans un second temps nous étudierons l'implication des microtubules dans la dysfonction myocardique tardive (24 heures) d'un modèle murin de péritonite. La chronologie plus réaliste des dysfonctions d'organes dans un modèle murin de péritonite permettra une analyse temporelle plus vraisemblable de l'implication des microtubules dans la cardiomyopathie septique (481,482).

II. IMPLICATION DES MICROFILAMENTS DANS LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE.

La seconde partie de ce travail suggère qu'il existe une accumulation de microfilaments dénaturés et non fonctionnels dans les cardiomyocytes à la phase précoce de la cardiomyopathie inflammatoire induite par le LPS. D'autres travaux confirment que malgré la dégradation des filaments d'actine par les espèces réactives de l'oxygène et les protéases, il n'existe pas de diminution de l'expression des microfilaments dans les cardiomyocytes à 4 heures d'une injection de LPS chez des rongeurs (442,452). La présence de myofibrilles dégradées et désorganisées (442) est en faveur de l'accumulation de myofilaments anormaux et d'une

probable insuffisance des systèmes de nettoyage des microfilaments comme la cofiline ou la gelsoline.

De manière contradictoire, une étude récente met en évidence une diminution de l'expression de l'actine sarcomérique chez des souris à 24 heures d'une ponction ligature caecale (461). Plusieurs différences méthodologiques pourraient expliquer ces différences. Tout d'abord, la quantification de l'actine-alpha dans l'étude de Celes et coll. ne permet pas d'évaluer le degré de polymérisation de l'actine. Ensuite, il est envisageable qu'une diminution de l'actine sarcomérique soit associée à une accumulation d'actine cytosolique dans notre modèle. L'expression de l'actine non sarcomérique n'était pas quantifiée par Celes et coll. et une augmentation de l'expression des actines beta et gamma reste possible.

La poursuite de notre travail consistera à confirmer les résultats de marquage de l'actine myocardique par la phalloïdine pour atteindre environ 4 à 6 individus par groupe. Un marquage spécifique des différentes isoformes d'actine et une quantification de l'actine polymérisée seront également réalisés.

Rho est une petite GTPase soluble surexprimée dans la cardiomyopathie inflammatoire qui active ROCK (221,467). L'activation de Rho et l'activation des caspases pourraient être responsable d'une activation de ROCK au cours de l'inflammation myocardique (329) (329,468). La prévention de la désorganisation des microfilaments des cardiomyocytes par le fasudil dans notre travail suggère que l'activation de ROCK au cours de la cardiomyopathie inflammatoire induite par le LPS provoque la densification du réseau de microfilaments. Différentes études démontrent que l'activation de ROCK dans les cardiomyocytes provoque une activation de la LIM-kinase, un inhibiteur des cofilines 1 et 2 (483–486). L'inactivation génétique de la cofiline 2, entraîne la densification du réseau d'actine dans les myocytes squelettiques avec une hétérogénéité de la distribution des microfilaments et une accumulation en périphérie des cellules (38).

La poursuite de notre travail consistera à confirmer l'effet du fasudil sur la densification des microfilaments induite par le LPS. Nous explorerons ensuite les effets de l'inhibition directe de la LIM-kinase et de la cofiline sur la cardiomyopathie induite par le LPS. Etant donné les effets transcriptionnels possibles des inhibiteurs (487), nous testerons leurs effets en présence d'un bloqueur de la synthèse protéique comme le cycloheximide. Nous rechercherons également à

vérifier l'hypothèse que l'hyperpolymérisation de l'actine est associée à une activation de ROCK, de la LIM-kinase et de la cofiline.

Notre travail démontre que le fasudil prévient la dysfonction myocardique induite par le LPS et suggère que l'hyperpolymérisation de l'actine induite par l'activation de ROCK est responsable d'une hyperviscosité intracellulaire, d'une altération du couplage excitation-contraction et d'une dysfonction mitochondriale. L'augmentation de la viscosité du cytosol des cardiomyocytes par l'augmentation de la concentration en microfilaments (473) pourrait aggraver la dysfonction contractile induite par la destruction des myofilaments (442) et des systèmes de mécanotransmission (461,463,464,466).

Alors que la destruction des myofibrilles et la diminution de la sensibilité des myofilaments au calcium devraient augmenter de la compliance ventriculaire, cette dernière diminue au cours du sepsis (432). L'hyperviscosité des cardiomyocytes pourrait être impliquée dans la baisse de la compliance ventriculaire au cours du choc septique.

Le fonctionnement du couplage excitation-contraction n'a pas été étudié dans ce travail mais Davani et coll. ont démontré que l'activation des polynucléaires neutrophiles entraîne une activation de la voie de ROCK dans les cardiomyocytes responsable d'une hétérogénéité des étincelles calciques (221). Inversement, l'implication de l'hyperpolymérisation de l'actine dans la dysfonction mitochondriale induite par le LPS n'a jamais été décrite. D'une manière générale, le positionnement et le fonctionnement des mitochondries intramyocardiques sont sous la dépendance de la tubuline (240), des microtubules (243,244) et des filaments intermédiaires (241,250,251). Néanmoins, une coopération entre les différents composants du cytosquelette est possible par l'intermédiaire de la plectine (101,247). La désorganisation du réseau de microfilaments pourrait modifier les réseaux de microtubules et de filaments intermédiaires dans les cardiomyocytes. Enfin, la prévention de la dysfonction mitochondriale par le fasudil pourrait être due à un effet non spécifique de l'inhibiteur ou à la modification directe des réseaux de microtubules ou de filaments intermédiaires.

La poursuite de notre travail consistera à étudier en microscopie confocale les effets du LPS et du fasudil sur les microtubules et la desmine myocardiques dans notre modèle murin. Nous étudierons également les effets d'inhibiteurs de la LIM-kinase et de la cofiline sur les dysfonctions mitochondriale et contractile induite par le LPS.

Plusieurs études ont déjà démontré les effets néfastes de la diminution de la sensibilité des myofilaments au calcium au cours de la dysfonction myocardique induite par le LPS

(442,444,445). Etant donné que l'activation de ROCK entraîne une phosphorylation des troponines T et I (136), une partie des effets bénéfiques du fasudil dans notre modèle pourrait être due à une prévention de la baisse de la sensibilité des myofilaments au calcium. L'exploration de la sensibilité des myofilaments au calcium dans notre modèle et l'observation des effets d'inhibiteurs directs des LIM-kinases et de la cofiline permettront de distinguer les effets du fasudil.

Enfin, étant données les limites de l'extrapolation des conclusions issues de la cardiomyopathie induite par le LPS à la cardiomyopathie septique (481), les principaux résultats seront vérifiés dans un modèle murin de péritonite (482).

CONCLUSIONS

L'ensemble de ce travail met pour la première fois en évidence que des modifications des microfilaments et des microtubules des cardiomyocytes sont impliquées dans la physiopathologie de dysfonctions myocardiques inflammatoires. L'hyperpolymérisation des microtubules ou l'accumulation de microfilaments dans les cardiomyocytes provoque une dysfonction mitochondriale et une probable hyperviscosité intracellulaire responsables d'une dysfonction contractile. Les modèles de dysfonctions myocardiques utilisés (exposition ex vivo de trabécules auriculaires droites humaines à la chimiokine MIF et exposition in vivo de souris à l'endotoxine LPS) sont néanmoins très éloignés de la complexité de la cardiomyopathie septique humaine et les résultats issus de ce travail ne sont que des preuves de concepts qui nécessitent une confirmation dans des modèles plus élaborés.

Plusieurs projets sont prévus afin de vérifier la véracité de ces concepts dans le sepsis.

Dans un premier temps nous étudierons l'implication des microtubules et des microfilaments dans le développement de la dysfonction myocardique d'un modèle murin de péritonite.

Dans un second temps nous comparerons le cytosquelette des cardiomyocytes de patients décédés de choc septique à celui de patients décédés de causes non infectieuses. L'organisation intracellulaire du cytosquelette ainsi que l'expression des ARN messagers et des protéines seront analysées.

Enfin, l'analyse de certains polymorphismes génétiques ciblée sur les gènes du cytosquelette pourrait permettre d'identifier certains individus à risque de dysfonction cardiaque au cours d'un sepsis. Nous avons le projet d'étudier l'association entre ces polymorphismes génétiques et le pronostic de patients atteints de pneumopathies communautaires graves à pneumocoque issus de l'étude « Streptogène » (J.-P. Bedos, J.-P. Mira, E. Varon. Pneumonies à pneumocoques : étude prospective multicentrique. Réanimation janvier 2013, Volume 22, Issue 1 Supplement, pp 21-24 SO30).

« Reality is that which, when you stop believing in it, doesn't go away »

Philip K. Dick (1928 - 1982)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Katz AM. Physiology of the heart. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2011.
2. Herrmann H, Strelkov SV, Burkhard P, Aebi U. Intermediate filaments: primary determinants of cell architecture and plasticity. *J Clin Invest.* juill 2009;119(7):1772-1783.
3. Sarantitis I, Papanastasopoulos P, Manousi M, Baikoussis NG, Apostolakis E. The cytoskeleton of the cardiac muscle cell. *Hell J Cardiol HJC Hellēnikē Kardiologikē Epitheōrēsē.* oct 2012;53(5):367-379.
4. Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton: a potential regulator of muscle mitochondrial behavior and function. *Trends Cardiovasc Med.* nov 2002;12(8):339-348.
5. Samarel AM. Costameres, focal adhesions, and cardiomyocyte mechanotransduction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* déc 2005;289(6):H2291-2301.
6. Bennett PM. From myofibril to membrane; the transitional junction at the intercalated disc. *Front Biosci Landmark Ed.* 2012;17:1035-1050.
7. Tondeleir D, Vandamme D, Vandekerckhove J, Ampe C, Lambrechts A. Actin isoform expression patterns during mammalian development and in pathology: Insights from mouse models. *Cell Motil Cytoskeleton.* 2009;66(10):798-815.
8. Lee SH, Dominguez R. Regulation of actin cytoskeleton dynamics in cells. *Mol Cells.* avr 2010;29(4):311-325.
9. Wegner A. Head to tail polymerization of actin. *J Mol Biol.* nov 1976;108(1):139-150.
10. Winder SJ, Ayscough KR. Actin-binding proteins. *J Cell Sci.* 15 févr 2005;118(Pt 4):651-654.
11. Vandekerckhove J, Weber K. At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide. *J Mol Biol.* 25 déc 1978;126(4):783-802.
12. Vandekerckhove J, Bugaisky G, Buckingham M. Simultaneous expression of skeletal muscle and heart actin proteins in various striated muscle tissues and cells. A quantitative determination of the two actin isoforms. *J Biol Chem.* 5 févr 1986;261(4):1838-1843.
13. Perrin BJ, Ervasti JM. The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskelet Hoboken NJ.* oct 2010;67(10):630-634.
14. Berg JS, Powell BC, Cheney RE. A millennial myosin census. *Mol Biol Cell.* avr 2001;12(4):780-794.
15. Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell.* 21 févr 2003;112(4):453-465.
16. Wang K, Spector A. alpha-crystallin stabilizes actin filaments and prevents cytochalasin-induced depolymerization in a phosphorylation-dependent manner. *Eur J Biochem FEBS.* 15 nov 1996;242(1):56-66.
17. Cooper JA, Schafer DA. Control of actin assembly and disassembly at filament ends. *Curr Opin Cell Biol.* févr 2000;12(1):97-103.

18. Paavilainen VO, Bertling E, Falck S, Lappalainen P. Regulation of cytoskeletal dynamics by actin-monomer-binding proteins. *Trends Cell Biol.* juill 2004;14(7):386-394.
19. Burtnick LD, Urosev D, Irobi E, Narayan K, Robinson RC. Structure of the N-terminal half of gelsolin bound to actin: roles in severing, apoptosis and FAF. *EMBO J.* 21 juill 2004;23(14):2713-2722.
20. Müller P, Langenbach A, Kaminski A, Rychly J. Modulating the actin cytoskeleton affects mechanically induced signal transduction and differentiation in mesenchymal stem cells. *PloS One.* 2013;8(7):e71283.
21. Bubb MR, Spector I, Bershadsky AD, Korn ED. Swinholide A is a microfilament disrupting marine toxin that stabilizes actin dimers and severs actin filaments. *J Biol Chem.* 24 févr 1995;270(8):3463-3466.
22. Aktories K, Barth H. Clostridium botulinum C2 toxin--new insights into the cellular uptake of the actin-ADP-ribosylating toxin. *Int J Med Microbiol IJMM.* avr 2004;293(7-8):557-564.
23. Aktories K, Schwan C, Papatheodorou P, Lang AE. Bidirectional attack on the actin cytoskeleton. Bacterial protein toxins causing polymerization or depolymerization of actin. *Toxicon Off J Int Soc Toxinology.* 15 sept 2012;60(4):572-581.
24. Dancker P, Löw I, Hasselbach W, Wieland T. Interaction of actin with phalloidin: polymerization and stabilization of F-actin. *Biochim Biophys Acta.* 19 août 1975;400(2):407-414.
25. Albinsson S, Nordström I, Hellstrand P. Stretch of the vascular wall induces smooth muscle differentiation by promoting actin polymerization. *J Biol Chem.* 13 août 2004;279(33):34849-34855.
26. Hodge T, Cope MJ. A myosin family tree. *J Cell Sci.* oct 2000;113 Pt 19:3353-3354.
27. Soeno Y, Shimada Y, Obinata T. BDM (2,3-butanedione monoxime), an inhibitor of myosin-actin interaction, suppresses myofibrillogenesis in skeletal muscle cells in culture. *Cell Tissue Res.* févr 1999;295(2):307-316.
28. Kagawa M, Sato N, Obinata T. Effects of BTS (N-benzyl-p-toluene sulphonamide), an inhibitor for myosin-actin interaction, on myofibrillogenesis in skeletal muscle cells in culture. *Zoolog Sci.* nov 2006;23(11):969-975.
29. Hewett TE, Grupp IL, Grupp G, Robbins J. Alpha-skeletal actin is associated with increased contractility in the mouse heart. *Circ Res.* avr 1994;74(4):740-746.
30. Copeland O, Nowak KJ, Laing NG, Ravenscroft G, Messer AE, Bayliss CR, et al. Investigation of changes in skeletal muscle alpha-actin expression in normal and pathological human and mouse hearts. *J Muscle Res Cell Motil.* sept 2010;31(3):207-214.
31. Suurmeijer AJH, Clément S, Francesconi A, Bocchi L, Angelini A, Van Veldhuisen DJ, et al. Alpha-actin isoform distribution in normal and failing human heart: a morphological, morphometric, and biochemical study. *J Pathol.* mars 2003;199(3):387-397.
32. Mercadier JJ, Bouveret P, Gorza L, Schiaffino S, Clark WA, Zak R, et al. Myosin isoenzymes in normal and hypertrophied human ventricular myocardium. *Circ Res.* juill 1983;53(1):52-62.
33. Carabello BA. Models of volume overload hypertrophy. *J Card Fail.* mars 1996;2(1):55-64.

34. Theis JL, Bos JM, Theis JD, Miller DV, Dearani JA, Schaff HV, et al. Expression patterns of cardiac myofilament proteins: genomic and protein analysis of surgical myectomy tissue from patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Heart Fail.* juill 2009;2(4):325-333.
35. Rybakova IN, Patel JR, Ervasti JM. The dystrophin complex forms a mechanically strong link between the sarcolemma and costameric actin. *J Cell Biol.* 4 sept 2000;150(5):1209-1214.
36. Diguët N, Mallat Y, Ladouce R, Clodic G, Prola A, Tritsch E, et al. Muscle creatine kinase deficiency triggers both actin depolymerization and desmin disorganization by advanced glycation end products in dilated cardiomyopathy. *J Biol Chem.* 7 oct 2011;286(40):35007-35019.
37. Agrawal PB, Greenleaf RS, Tomczak KK, Lehtokari V-L, Wallgren-Pettersson C, Wallefeld W, et al. Nemaline myopathy with minicores caused by mutation of the CFL2 gene encoding the skeletal muscle actin-binding protein, cofilin-2. *Am J Hum Genet.* janv 2007;80(1):162-167.
38. Agrawal PB, Joshi M, Savic T, Chen Z, Beggs AH. Normal myofibrillar development followed by progressive sarcomeric disruption with actin accumulations in a mouse Cfl2 knockout demonstrates requirement of cofilin-2 for muscle maintenance. *Hum Mol Genet.* 15 mai 2012;21(10):2341-2356.
39. Schrickel JW, Fink K, Meyer R, Grohé C, Stoeckigt F, Tiemann K, et al. Lack of gelsolin promotes perpetuation of atrial fibrillation in the mouse heart. *J Interv Card Electrophysiol Int J Arrhythm Pacing.* oct 2009;26(1):3-10.
40. Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1 nov 1992;89(21):10449-10453.
41. Iwaki T, Kume-Iwaki A, Goldman JE. Cellular distribution of alpha B-crystallin in non-lenticular tissues. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc.* janv 1990;38(1):31-39.
42. Sanbe A, Osinska H, Saffitz JE, Glabe CG, Kaye R, Maloyan A, et al. Desmin-related cardiomyopathy in transgenic mice: a cardiac amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 6 juill 2004;101(27):10132-10136.
43. Sanbe A, Osinska H, Villa C, Gulick J, Klevitsky R, Glabe CG, et al. Reversal of amyloid-induced heart disease in desmin-related cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 20 sept 2005;102(38):13592-13597.
44. Goldstein MA, Entman ML. Microtubules in mammalian heart muscle. *J Cell Biol.* janv 1979;80(1):183-195.
45. Condeelis PS, Cáceres A. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nat Rev Neurosci.* mai 2009;10(5):319-332.
46. Gardner MK, Zanic M, Howard J. Microtubule catastrophe and rescue. *Curr Opin Cell Biol.* févr 2013;25(1):14-22.
47. Olmsted JB. Microtubule-associated proteins. *Annu Rev Cell Biol.* 1986;2:421-457.
48. Ives CL, Eskin SG, McIntire LV. Mechanical effects on endothelial cell morphology: in vitro assessment. *Vitro Cell Dev Biol J Tissue Cult Assoc.* sept 1986;22(9):500-507.

49. Stones R, Benoist D, Peckham M, White E. Microtubule proliferation in right ventricular myocytes of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Mol Cell Cardiol.* mars 2013;56:91-96.
50. Zuco V, De Cesare M, Cincinelli R, Nannei R, Pisano C, Zaffaroni N, et al. Synergistic antitumor effects of novel HDAC inhibitors and paclitaxel in vitro and in vivo. *PloS One.* 2011;6(12):e29085.
51. Belmadani S, Poüs C, Ventura-Clapier R, Fischmeister R, Méry P-F. Post-translational modifications of cardiac tubulin during chronic heart failure in the rat. *Mol Cell Biochem.* août 2002;237(1-2):39-46.
52. Sato H, Nagai T, Kuppaswamy D, Narishige T, Koide M, Menick DR, et al. Microtubule stabilization in pressure overload cardiac hypertrophy. *J Cell Biol.* 17 nov 1997;139(4):963-973.
53. Gorovoy M, Niu J, Bernard O, Profirovic J, Minshall R, Neamu R, et al. LIM kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells. *J Biol Chem.* 15 juill 2005;280(28):26533-26542.
54. Giepmans BN, Verlaan I, Hengeveld T, Janssen H, Calafat J, Falk MM, et al. Gap junction protein connexin-43 interacts directly with microtubules. *Curr Biol CB.* 4 sept 2001;11(17):1364-1368.
55. Leterrier JF, Rusakov DA, Nelson BD, Linden M. Interactions between brain mitochondria and cytoskeleton: evidence for specialized outer membrane domains involved in the association of cytoskeleton-associated proteins to mitochondria in situ and in vitro. *Microsc Res Tech.* 15 févr 1994;27(3):233-261.
56. Lindén M, Nelson BD, Loncar D, Leterrier JF. Studies on the interaction between mitochondria and the cytoskeleton. *J Bioenerg Biomembr.* août 1989;21(4):507-518.
57. Helfand BT, Mikami A, Vallee RB, Goldman RD. A requirement for cytoplasmic dynein and dynactin in intermediate filament network assembly and organization. *J Cell Biol.* 27 mai 2002;157(5):795-806.
58. Liao G, Gundersen GG. Kinesin is a candidate for cross-bridging microtubules and intermediate filaments. Selective binding of kinesin to deetyrosinated tubulin and vimentin. *J Biol Chem.* 17 avr 1998;273(16):9797-9803.
59. Yang Y, Bauer C, Strasser G, Wollman R, Julien JP, Fuchs E. Integrators of the cytoskeleton that stabilize microtubules. *Cell.* 23 juill 1999;98(2):229-238.
60. Koide M, Hamawaki M, Narishige T, Sato H, Nemoto S, DeFreyte G, et al. Microtubule depolymerization normalizes in vivo myocardial contractile function in dogs with pressure-overload left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 29 août 2000;102(9):1045-1052.
61. Devillard L, Vandroux D, Tissier C, Brochet A, Voisin S, Rochette L, et al. Tubulin ligands suggest a microtubule-NADPH oxidase relationship in postischemic cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol.* 24 oct 2006;548(1-3):64-73.
62. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Simonis U, Shaw R, Karliner JS. Acute vincristine pretreatment protects adult mouse cardiac myocytes from oxidative stress. *J Mol Cell Cardiol.* sept 2007;43(3):327-336.
63. Tomlinson DR, Bennett T. An ultrastructural examination of the action of vinblastine on microtubules, neurofilaments and muscle filaments in vitro. *Cell Tissue Res.* 25 févr 1976;166(3):413-420.

64. Heggeness MH, Simon M, Singer SJ. Association of mitochondria with microtubules in cultured cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. août 1978;75(8):3863-3866.
65. Saji K, Fukumoto Y, Suzuki J, Fukui S, Nawata J, Shimokawa H. Colchicine, a microtubule depolymerizing agent, inhibits myocardial apoptosis in rats. *Tohoku J Exp Med*. oct 2007;213(2):139-148.
66. Caviston JP, Holzbaur ELF. Microtubule motors at the intersection of trafficking and transport. *Trends Cell Biol*. oct 2006;16(10):530-537.
67. Cho C, Vale RD. The mechanism of dynein motility: insight from crystal structures of the motor domain. *Biochim Biophys Acta*. janv 2012;1823(1):182-191.
68. Cheng G, Qiao F, Gallien TN, Kuppuswamy D, Cooper G 4th. Inhibition of beta-adrenergic receptor trafficking in adult cardiocytes by MAP4 decoration of microtubules. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mars 2005;288(3):H1193-1202.
69. Scholz D, Baicu CF, Tuxworth WJ, Xu L, Kasiganesan H, Menick DR, et al. Microtubule-dependent distribution of mRNA in adult cardiocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mars 2008;294(3):H1135-1144.
70. Kreitzer G, Liao G, Gundersen GG. Detyrosination of tubulin regulates the interaction of intermediate filaments with microtubules in vivo via a kinesin-dependent mechanism. *Mol Biol Cell*. avr 1999;10(4):1105-1118.
71. Tagawa H, Koide M, Sato H, Zile MR, Carabello BA, Cooper G 4th. Cytoskeletal role in the transition from compensated to decompensated hypertrophy during adult canine left ventricular pressure overloading. *Circ Res*. 20 avr 1998;82(7):751-761.
72. Guzun R, Karu-Varikmaa M, Gonzalez-Granillo M, Kuznetsov AV, Michel L, Cottet-Rousselle C, et al. Mitochondria-cytoskeleton interaction: distribution of β -tubulins in cardiomyocytes and HL-1 cells. *Biochim Biophys Acta*. avr 2011;1807(4):458-469.
73. Chinnakkannu P, Samanna V, Cheng G, Ablonczy Z, Baicu CF, Bethard JR, et al. Site-specific microtubule-associated protein 4 dephosphorylation causes microtubule network densification in pressure overload cardiac hypertrophy. *J Biol Chem*. 9 juill 2010;285(28):21837-21848.
74. Takahashi M, Shiraishi H, Ishibashi Y, Blade KL, McDermott PJ, Menick DR, et al. Phenotypic consequences of beta1-tubulin expression and MAP4 decoration of microtubules in adult cardiocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. nov 2003;285(5):H2072-2083.
75. Ruiz-Meana M, Abellán A, Miró-Casas E, Agulló E, Garcia-Dorado D. Role of sarcoplasmic reticulum in mitochondrial permeability transition and cardiomyocyte death during reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. oct 2009;297(4):H1281-1289.
76. Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments and their associates: multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. *Curr Opin Cell Biol*. févr 2000;12(1):79-90.
77. Herrmann H, Aebi U. Intermediate filament assembly: fibrillogenesis is driven by decisive dimer-dimer interactions. *Curr Opin Struct Biol*. avr 1998;8(2):177-185.
78. Herrmann H, Häner M, Brettel M, Ku NO, Aebi U. Characterization of distinct early assembly units of different intermediate filament proteins. *J Mol Biol*. 12 mars 1999;286(5):1403-1420.

79. Stuurman N. Identification of a conserved phosphorylation site modulating nuclear lamin polymerization. *FEBS Lett.* 20 janv 1997;401(2-3):171-174.
80. Cohen S, Zhai B, Gygi SP, Goldberg AL. Ubiquitylation by Trim32 causes coupled loss of desmin, Z-bands, and thin filaments in muscle atrophy. *J Cell Biol.* 20 août 2012;198(4):575-589.
81. Yuan J, Huiatt TW, Liao CX, Robson RM, Graves DJ. The effects of mono-ADP-ribosylation on desmin assembly-disassembly. *Arch Biochem Biophys.* 15 mars 1999;363(2):314-322.
82. Dourdin N, Balcerzak D, Brustis JJ, Poussard S, Cottin P, Ducastaing A. Potential m-calpain substrates during myoblast fusion. *Exp Cell Res.* 1 févr 1999;246(2):433-442.
83. Strelkov SV, Herrmann H, Aebi U. Molecular architecture of intermediate filaments. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* mars 2003;25(3):243-251.
84. Foisner R, Leichtfried FE, Herrmann H, Small JV, Lawson D, Wiche G. Cytoskeleton-associated plectin: in situ localization, in vitro reconstitution, and binding to immobilized intermediate filament proteins. *J Cell Biol.* mars 1988;106(3):723-733.
85. Costa ML, Escaleira R, Cataldo A, Oliveira F, Mermelstein CS. Desmin: molecular interactions and putative functions of the muscle intermediate filament protein. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Médicas E Biológicas Soc Bras Biofísica Al.* déc 2004;37(12):1819-1830.
86. Houseweart MK, Cleveland DW. Intermediate filaments and their associated proteins: multiple dynamic personalities. *Curr Opin Cell Biol.* févr 1998;10(1):93-101.
87. Bellin RM, Sernett SW, Becker B, Ip W, Huiatt TW, Robson RM. Molecular characteristics and interactions of the intermediate filament protein synemin. Interactions with alpha-actinin may anchor synemin-containing heterofilaments. *J Biol Chem.* 8 oct 1999;274(41):29493-29499.
88. Perng MD, Cairns L, van den IJssel P, Prescott A, Hutcheson AM, Quinlan RA. Intermediate filament interactions can be altered by HSP27 and alphaB-crystallin. *J Cell Sci.* juill 1999;112 (Pt 13):2099-2112.
89. Vicart P, Caron A, Guicheney P, Li Z, Prévost MC, Faure A, et al. A missense mutation in the alphaB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat Genet.* sept 1998;20(1):92-95.
90. Burke B, Stewart CL. The nuclear lamins: flexibility in function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* janv 2013;14(1):13-24.
91. Schreiber KH, Kennedy BK. When lamins go bad: nuclear structure and disease. *Cell.* 14 mars 2013;152(6):1365-1375.
92. Ferrans VJ, Roberts WC. Intermyofibrillar and nuclear-myofibrillar connections in human and canine myocardium. An ultrastructural study. *J Mol Cell Cardiol.* juin 1973;5(3):247-257.
93. Kaufman SJ, Foster RF. Replicating myoblasts express a muscle-specific phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A.* déc 1988;85(24):9606-9610.
94. Konieczny P, Fuchs P, Reipert S, Kunz WS, Zeöld A, Fischer I, et al. Myofiber integrity depends on desmin network targeting to Z-disks and costameres via distinct plectin isoforms. *J Cell Biol.* 19 mai 2008;181(4):667-681.

95. Tokuyasu KT, Dutton AH, Singer SJ. Immunoelectron microscopic studies of desmin (skeletin) localization and intermediate filament organization in chicken cardiac muscle. *J Cell Biol.* juin 1983;96(6):1736-1742.
96. Thornell LE, Eriksson A, Johansson B, Kjörell U, Franke WW, Virtanen I, et al. Intermediate filament and associated proteins in heart Purkinje fibers: a membrane-myofibril anchored cytoskeletal system. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;455:213-240.
97. Craig SW, Pardo JV. Gamma actin, spectrin, and intermediate filament proteins colocalize with vinculin at costameres, myofibril-to-sarcolemma attachment sites. *Cell Motil.* 1983;3(5-6):449-462.
98. Smith EA, Fuchs E. Defining the interactions between intermediate filaments and desmosomes. *J Cell Biol.* 1 juin 1998;141(5):1229-1241.
99. McLendon PM, Robbins J. Desmin-related cardiomyopathy: an unfolding story. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* oct 2011;301(4):H1220-1228.
100. Langley RC Jr, Cohen CM. Association of spectrin with desmin intermediate filaments. *J Cell Biochem.* 1986;30(2):101-109.
101. Wiche G. Role of plectin in cytoskeleton organization and dynamics. *J Cell Sci.* sept 1998;111 (Pt 17):2477-2486.
102. Milner DJ, Weitzer G, Tran D, Bradley A, Capetanaki Y. Disruption of muscle architecture and myocardial degeneration in mice lacking desmin. *J Cell Biol.* sept 1996;134(5):1255-1270.
103. Thornell L, Carlsson L, Li Z, Mericskay M, Paulin D. Null mutation in the desmin gene gives rise to a cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* août 1997;29(8):2107-2124.
104. Geisler N, Weber K. Phosphorylation of desmin in vitro inhibits formation of intermediate filaments; identification of three kinase A sites in the aminoterminal head domain. *EMBO J.* janv 1988;7(1):15-20.
105. Inagaki M, Gonda Y, Matsuyama M, Nishizawa K, Nishi Y, Sato C. Intermediate filament reconstitution in vitro. The role of phosphorylation on the assembly-disassembly of desmin. *J Biol Chem.* 25 avr 1988;263(12):5970-5978.
106. Kitamura S, Ando S, Shibata M, Tanabe K, Sato C, Inagaki M. Protein kinase C phosphorylation of desmin at four serine residues within the non-alpha-helical head domain. *J Biol Chem.* 5 avr 1989;264(10):5674-5678.
107. Galvez AS, Diwan A, Odley AM, Hahn HS, Osinska H, Melendez JG, et al. Cardiomyocyte degeneration with calpain deficiency reveals a critical role in protein homeostasis. *Circ Res.* 13 avr 2007;100(7):1071-1078.
108. Mackiewicz U, Czarnowska E, Brudek M, Pająk B, Duda M, Emanuel K, et al. Preserved cardiomyocyte function and altered desmin pattern in transgenic mouse model of dilated cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* mai 2012;52(5):978-987.
109. Hirako Y, Yamakawa H, Tsujimura Y, Nishizawa Y, Okumura M, Usukura J, et al. Characterization of mammalian synemin, an intermediate filament protein present in all four classes of muscle cells and some neuroglial cells: co-localization and interaction with type III intermediate filament proteins and keratins. *Cell Tissue Res.* août 2003;313(2):195-207.

110. Bilak SR, Sernett SW, Bilak MM, Bellin RM, Stromer MH, Huiatt TW, et al. Properties of the novel intermediate filament protein synemin and its identification in mammalian muscle. *Arch Biochem Biophys*. 1 juill 1998;355(1):63-76.
111. Bellin RM, Huiatt TW, Critchley DR, Robson RM. Synemin may function to directly link muscle cell intermediate filaments to both myofibrillar Z-lines and costameres. *J Biol Chem*. 24 août 2001;276(34):32330-32337.
112. Sun N, Critchley DR, Paulin D, Li Z, Robson RM. Identification of a repeated domain within mammalian alpha-synemin that interacts directly with talin. *Exp Cell Res*. 1 mai 2008;314(8):1839-1849.
113. Sun N, Critchley DR, Paulin D, Li Z, Robson RM. Human alpha-synemin interacts directly with vinculin and metavinculin. *Biochem J*. 1 févr 2008;409(3):657-667.
114. Ausma J, van Eys GJ, Broers JL, Thoné F, Flameng W, Ramaekers FC, et al. Nuclear lamin expression in chronic hibernating myocardium in man. *J Mol Cell Cardiol*. juin 1996;28(6):1297-1305.
115. Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, Bécane HM, Hammouda EH, Merlini L, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet*. mars 1999;21(3):285-288.
116. Fairley EA, Kendrick-Jones J, Ellis JA. The Emery-Dreifuss muscular dystrophy phenotype arises from aberrant targeting and binding of emerin at the inner nuclear membrane. *J Cell Sci*. août 1999;112 (Pt 15):2571-2582.
117. Ostlund C, Ellenberg J, Hallberg E, Lippincott-Schwartz J, Worman HJ. Intracellular trafficking of emerin, the Emery-Dreifuss muscular dystrophy protein. *J Cell Sci*. juin 1999;112 (Pt 11):1709-1719.
118. Wang X, Pattison JS, Su H. Posttranslational modification and quality control. *Circ Res*. 18 janv 2013;112(2):367-381.
119. Gunst J, Derese I, Aertgeerts A, Ververs E-J, Wauters A, Van den Berghe G, et al. Insufficient autophagy contributes to mitochondrial dysfunction, organ failure, and adverse outcome in an animal model of critical illness. *Crit Care Med*. janv 2013;41(1):182-194.
120. Opie LH. *The heart: physiology, from cell to circulation*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.
121. Patterson SW, Starling EH. On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol*. 9 août 1914;48(5):357-379.
122. Hinken AC, Solaro RJ. A dominant role of cardiac molecular motors in the intrinsic regulation of ventricular ejection and relaxation. *Physiol Bethesda Md*. avr 2007;22:73-80.
123. Zimmer H-G. Who discovered the Frank-Starling mechanism? *News Physiol Sci Int J Physiol Prod Jointly Int Union Physiol Sci Am Physiol Soc*. oct 2002;17:181-184.
124. Takeda S, Yamashita A, Maeda K, Maéda Y. Structure of the core domain of human cardiac troponin in the Ca⁽²⁺⁾-saturated form. *Nature*. 3 juill 2003;424(6944):35-41.
125. Sykes BD. Pulling the calcium trigger. *Nat Struct Biol*. août 2003;10(8):588-589.
126. Solaro RJ, Sheehan KA, Lei M, Ke Y. The curious role of sarcomeric proteins in control of diverse processes in cardiac myocytes. *J Gen Physiol*. juill 2010;136(1):13-19.

127. Muthuchamy M, Pajak L, Howles P, Doetschman T, Wieczorek DF. Developmental analysis of tropomyosin gene expression in embryonic stem cells and mouse embryos. *Mol Cell Biol.* juin 1993;13(6):3311-3323.
128. Marston SB, Copeland O, Messer AE, Macnamara E, Nowak K, Zampronio CG, et al. Tropomyosin isoform expression and phosphorylation in the human heart in health and disease. *J Muscle Res Cell Motil.* 28 mai 2013;
129. Muthuchamy M, Grupp IL, Grupp G, O'Toole BA, Kier AB, Boivin GP, et al. Molecular and physiological effects of overexpressing striated muscle beta-tropomyosin in the adult murine heart. *J Biol Chem.* 22 déc 1995;270(51):30593-30603.
130. Muthuchamy M, Boivin GP, Grupp IL, Wieczorek DF. Beta-tropomyosin overexpression induces severe cardiac abnormalities. *J Mol Cell Cardiol.* août 1998;30(8):1545-1557.
131. Peng Y, Chen X, Zhang H, Xu Q, Hacker TA, Ge Y. Top-down targeted proteomics for deep sequencing of tropomyosin isoforms. *J Proteome Res.* 4 janv 2013;12(1):187-198.
132. Gordon AM, Homsher E, Regnier M. Regulation of contraction in striated muscle. *Physiol Rev.* avr 2000;80(2):853-924.
133. Tobacman LS, Nihli M, Butters C, Heller M, Hatch V, Craig R, et al. The troponin tail domain promotes a conformational state of the thin filament that suppresses myosin activity. *J Biol Chem.* 2 août 2002;277(31):27636-27642.
134. Fink MA, Zakhary DR, Mackey JA, Desnoyer RW, Apperson-Hansen C, Damron DS, et al. AKAP-mediated targeting of protein kinase a regulates contractility in cardiac myocytes. *Circ Res.* 16 févr 2001;88(3):291-297.
135. Fentzke RC, Buck SH, Patel JR, Lin H, Wolska BM, Stojanovic MO, et al. Impaired cardiomyocyte relaxation and diastolic function in transgenic mice expressing slow skeletal troponin I in the heart. *J Physiol.* 15 mai 1999;517 (Pt 1):143-157.
136. Vahebi S, Kobayashi T, Warren CM, de Tombe PP, Solaro RJ. Functional effects of rho-kinase-dependent phosphorylation of specific sites on cardiac troponin. *Circ Res.* 15 avr 2005;96(7):740-747.
137. Burkart EM, Sumandea MP, Kobayashi T, Nili M, Martin AF, Homsher E, et al. Phosphorylation or glutamic acid substitution at protein kinase C sites on cardiac troponin I differentially depress myofilament tension and shortening velocity. *J Biol Chem.* 28 mars 2003;278(13):11265-11272.
138. Solaro RJ, Moir AJ, Perry SV. Phosphorylation of troponin I and the inotropic effect of adrenaline in the perfused rabbit heart. *Nature.* 12 août 1976;262(5569):615-617.
139. Li L, Desantiago J, Chu G, Kranias EG, Bers DM. Phosphorylation of phospholamban and troponin I in beta-adrenergic-induced acceleration of cardiac relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* mars 2000;278(3):H769-779.
140. Davis J, Wen H, Edwards T, Metzger JM. Thin filament disinhibition by restrictive cardiomyopathy mutant R193H troponin I induces Ca²⁺-independent mechanical tone and acute myocyte remodeling. *Circ Res.* 25 mai 2007;100(10):1494-1502.
141. Sumandea MP, Pyle WG, Kobayashi T, de Tombe PP, Solaro RJ. Identification of a functionally critical protein kinase C phosphorylation residue of cardiac troponin T. *J Biol Chem.* 12 sept 2003;278(37):35135-35144.

142. Pepe FA, Drucker B. The myosin filament. VI. Myosin content. *J Mol Biol.* 5 juin 1979;130(4):379-393.
143. Ma X, Adelstein RS. In vivo studies on nonmuscle myosin II expression and function in heart development. *Front Biosci Landmark Ed.* 2012;17:545-555.
144. Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. *Physiol Rev.* juill 1986;66(3):710-771.
145. Alpert NR, Hasenfuss G, Mulieri LA, Blanchard EM, Leavitt BJ, Ittleman F. The reorganization of the human and rabbit heart in response to haemodynamic overload. *Eur Heart J.* sept 1992;13 Suppl D:9-16.
146. Scruggs SB, Solaro RJ. The significance of regulatory light chain phosphorylation in cardiac physiology. *Arch Biochem Biophys.* 15 juin 2011;510(2):129-134.
147. Moss RL, Fitzsimons DP. Myosin light chain 2 into the mainstream of cardiac development and contractility. *Circ Res.* 4 août 2006;99(3):225-227.
148. Sadayappan S, de Tombe PP. Cardiac myosin binding protein-C: redefining its structure and function. *Biophys Rev.* 1 juin 2012;4(2):93-106.
149. Lecarpentier Y, Vignier N, Oliviero P, Guellich A, Carrier L, Coirault C. Cardiac Myosin-binding protein C modulates the tuning of the molecular motor in the heart. *Biophys J.* juill 2008;95(2):720-728.
150. Morano I, Arndt H, Gärtner C, Rüegg JC. Skinned fibers of human atrium and ventricle: myosin isoenzymes and contractility. *Circ Res.* mars 1988;62(3):632-639.
151. England J, Loughna S. Heavy and light roles: myosin in the morphogenesis of the heart. *Cell Mol Life Sci CMLS.* avr 2013;70(7):1221-1239.
152. Yamamoto K, Dang QN, Maeda Y, Huang H, Kelly RA, Lee RT. Regulation of cardiomyocyte mechanotransduction by the cardiac cycle. *Circulation.* 13 mars 2001;103(10):1459-1464.
153. Zou P, Pinotsis N, Lange S, Song Y-H, Popov A, Mavridis I, et al. Palindromic assembly of the giant muscle protein titin in the sarcomeric Z-disk. *Nature.* 12 janv 2006;439(7073):229-233.
154. Fukuda N, Sasaki D, Ishiwata S, Kurihara S. Length dependence of tension generation in rat skinned cardiac muscle: role of titin in the Frank-Starling mechanism of the heart. *Circulation.* 2 oct 2001;104(14):1639-1645.
155. Terui T, Sodnomtseren M, Matsuba D, Udaka J, Ishiwata S, Ohtsuki I, et al. Troponin and titin coordinately regulate length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle. *J Gen Physiol.* mars 2008;131(3):275-283.
156. Higuchi H, Umazume Y. Lattice shrinkage with increasing resting tension in stretched, single skinned fibers of frog muscle. *Biophys J.* sept 1986;50(3):385-389.
157. Helmes M, Trombitás K, Granzier H. Titin develops restoring force in rat cardiac myocytes. *Circ Res.* sept 1996;79(3):619-626.
158. Helmes M, Lim CC, Liao R, Bharti A, Cui L, Sawyer DB. Titin determines the Frank-Starling relation in early diastole. *J Gen Physiol.* févr 2003;121(2):97-110.
159. Agarkova I, Ehler E, Lange S, Schoenauer R, Perriard J-C. M-band: a safeguard for sarcomere stability? *J Muscle Res Cell Motil.* 2003;24(2-3):191-203.

160. Wu Y, Cazorla O, Labeit D, Labeit S, Granzier H. Changes in titin and collagen underlie diastolic stiffness diversity of cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol.* déc 2000;32(12):2151-2162.
161. Hidalgo C, Hudson B, Bogomolovas J, Zhu Y, Anderson B, Greaser M, et al. PKC phosphorylation of titin's PEVK element: a novel and conserved pathway for modulating myocardial stiffness. *Circ Res.* 25 sept 2009;105(7):631-638, 17 p following 638.
162. Fukuda N, Wu Y, Nair P, Granzier HL. Phosphorylation of titin modulates passive stiffness of cardiac muscle in a titin isoform-dependent manner. *J Gen Physiol.* mars 2005;125(3):257-271.
163. Krüger M, Kötter S, Grützner A, Lang P, Andresen C, Redfield MM, et al. Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs. *Circ Res.* 2 janv 2009;104(1):87-94.
164. Radke MH, Peng J, Wu Y, McNabb M, Nelson OL, Granzier H, et al. Targeted deletion of titin N2B region leads to diastolic dysfunction and cardiac atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 27 févr 2007;104(9):3444-3449.
165. Granzier HL, Radke MH, Peng J, Westermann D, Nelson OL, Rost K, et al. Truncation of titin's elastic PEVK region leads to cardiomyopathy with diastolic dysfunction. *Circ Res.* 11 sept 2009;105(6):557-564.
166. Buyandelger B, Ng K-E, Miodic S, Piotrowska I, Gunkel S, Ku C-H, et al. MLP (muscle LIM protein) as a stress sensor in the heart. *Pflügers Arch Eur J Physiol.* juill 2011;462(1):135-142.
167. Arber S, Hunter JJ, Ross J Jr, Hongo M, Sansig G, Borg J, et al. MLP-deficient mice exhibit a disruption of cardiac cytoarchitectural organization, dilated cardiomyopathy, and heart failure. *Cell.* 7 févr 1997;88(3):393-403.
168. Boateng SY, Belin RJ, Geenen DL, Margulies KB, Martin JL, Hoshijima M, et al. Cardiac dysfunction and heart failure are associated with abnormalities in the subcellular distribution and amounts of oligomeric muscle LIM protein. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* janv 2007;292(1):H259-269.
169. Boateng SY, Senyo SE, Qi L, Goldspink PH, Russell B. Myocyte remodeling in response to hypertrophic stimuli requires nucleocytoplasmic shuttling of muscle LIM protein. *J Mol Cell Cardiol.* oct 2009;47(4):426-435.
170. Pashmforoush M, Pomiès P, Peterson KL, Kubalak S, Ross J Jr, Hefti A, et al. Adult mice deficient in actinin-associated LIM-domain protein reveal a developmental pathway for right ventricular cardiomyopathy. *Nat Med.* mai 2001;7(5):591-597.
171. Lorenzen-Schmidt I, McCulloch AD, Omens JH. Deficiency of actinin-associated LIM protein alters regional right ventricular function and hypertrophic remodeling. *Ann Biomed Eng.* juill 2005;33(7):888-896.
172. Hojayeve B, Rothermel BA, Gillette TG, Hill JA. FHL2 binds calcineurin and represses pathological cardiac growth. *Mol Cell Biol.* oct 2012;32(19):4025-4034.
173. Telley IA, Denoth J, Stüssi E, Pfitzer G, Stehle R. Half-sarcomere dynamics in myofibrils during activation and relaxation studied by tracking fluorescent markers. *Biophys J.* 15 janv 2006;90(2):514-530.

174. Joubert F, Wilding JR, Fortin D, Domergue-Dupont V, Novotova M, Ventura-Clapier R, et al. Local energetic regulation of sarcoplasmic and myosin ATPase is differently impaired in rats with heart failure. *J Physiol.* 1 nov 2008;586(Pt 21):5181-5192.
175. Tagawa H, Wang N, Narishige T, Ingber DE, Zile MR, Cooper G 4th. Cytoskeletal mechanics in pressure-overload cardiac hypertrophy. *Circ Res.* févr 1997;80(2):281-289.
176. Yamamoto S, Tsutsui H, Takahashi M, Ishibashi Y, Tagawa H, Imanaka-Yoshida K, et al. Role of microtubules in the viscoelastic properties of isolated cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol.* sept 1998;30(9):1841-1853.
177. Scholz D, McDermott P, Garnovskaya M, Gallien TN, Huettelmaier S, DeRienzo C, et al. Microtubule-associated protein-4 (MAP-4) inhibits microtubule-dependent distribution of mRNA in isolated neonatal cardiocytes. *Cardiovasc Res.* 1 août 2006;71(3):506-516.
178. Balogh J, Merisckay M, Li Z, Paulin D, Arner A. Hearts from mice lacking desmin have a myopathy with impaired active force generation and unaltered wall compliance. *Cardiovasc Res.* 1 févr 2002;53(2):439-450.
179. Yoshida M, Sho E, Nanjo H, Takahashi M, Kobayashi M, Kawamura K, et al. Weaving hypothesis of cardiomyocyte sarcomeres: discovery of periodic broadening and narrowing of intercalated disk during volume-load change. *Am J Pathol.* févr 2010;176(2):660-678.
180. Heling A, Zimmermann R, Kostin S, Maeno Y, Hein S, Devaux B, et al. Increased expression of cytoskeletal, linkage, and extracellular proteins in failing human myocardium. *Circ Res.* 28 avr 2000;86(8):846-853.
181. Kaprielian RR, Severs NJ. Dystrophin and the cardiomyocyte membrane cytoskeleton in the healthy and failing heart. *Heart Fail Rev.* oct 2000;5(3):221-238.
182. Jane-Lise S, Corda S, Chassagne C, Rappaport L. The extracellular matrix and the cytoskeleton in heart hypertrophy and failure. *Heart Fail Rev.* oct 2000;5(3):239-250.
183. Borg TK, Goldsmith EC, Price R, Carver W, Terracio L, Samarel AM. Specialization at the Z line of cardiac myocytes. *Cardiovasc Res.* mai 2000;46(2):277-285.
184. Rohman MS, Emoto N, Takeshima Y, Yokoyama M, Matsuo M. Decreased mAKAP, ryanodine receptor, and SERCA2a gene expression in mdx hearts. *Biochem Biophys Res Commun.* 10 oct 2003;310(1):228-235.
185. Flick MJ, Konieczny SF. The muscle regulatory and structural protein MLP is a cytoskeletal binding partner of betaI-spectrin. *J Cell Sci.* mai 2000;113 (Pt 9):1553-1564.
186. Baines AJ, Bennett PM, Carter EW, Terracciano C. Protein 4.1 and the control of ion channels. *Blood Cells Mol Dis.* juin 2009;42(3):211-215.
187. Yang X, Salas PJI, Pham TV, Wasserlauf BJ, Smets MJD, Myerburg RJ, et al. Cytoskeletal actin microfilaments and the transient outward potassium current in hypertrophied rat ventriculocytes. *J Physiol.* 1 juin 2002;541(Pt 2):411-421.
188. Lapidos KA, Kakkar R, McNally EM. The dystrophin glycoprotein complex: signaling strength and integrity for the sarcolemma. *Circ Res.* 30 avr 2004;94(8):1023-1031.
189. Thornell LE, Johansson B, Eriksson A, Lehto VP, Virtanen I. Intermediate filament and associated proteins in the human heart: an immunofluorescence study of normal and pathological hearts. *Eur Heart J.* déc 1984;5 Suppl F:231-241.
190. Baines AJ, Pinder JC. The spectrin-associated cytoskeleton in mammalian heart. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2005;10:3020-3033.

191. Hashemi SM, Hund TJ, Mohler PJ. Cardiac ankyrins in health and disease. *J Mol Cell Cardiol.* août 2009;47(2):203-209.
192. Malan D, Gallo MP, Bedendi I, Biasin C, Levi RC, Alloatti G. Microtubules mobility affects the modulation of L-type I(Ca) by muscarinic and beta-adrenergic agonists in guinea-pig cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* févr 2003;35(2):195-206.
193. Lockard VG, Bloom S. Trans-cellular desmin-lamin B intermediate filament network in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* mars 1993;25(3):303-309.
194. Zhang Q, Bethmann C, Worth NF, Davies JD, Wasner C, Feuer A, et al. Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum Mol Genet.* 1 déc 2007;16(23):2816-2833.
195. Puckelwartz MJ, Kessler EJ, Kim G, Dewitt MM, Zhang Y, Earley JU, et al. Nesprin-1 mutations in human and murine cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* avr 2010;48(4):600-608.
196. Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, Kozlov S, Sullivan T, Kamm RD, et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. *J Clin Invest.* févr 2004;113(3):370-378.
197. Lammerding J, Hsiao J, Schulze PC, Kozlov S, Stewart CL, Lee RT. Abnormal nuclear shape and impaired mechanotransduction in emerin-deficient cells. *J Cell Biol.* 29 août 2005;170(5):781-791.
198. Doroudgar S, Glembotski CC. New concepts of endoplasmic reticulum function in the heart: programmed to conserve. *J Mol Cell Cardiol.* févr 2013;55:85-91.
199. Groenendyk J, Sreenivasaiyah PK, Kim DH, Agellon LB, Michalak M. Biology of endoplasmic reticulum stress in the heart. *Circ Res.* 12 nov 2010;107(10):1185-1197.
200. Brette F, Orchard C. T-tubule function in mammalian cardiac myocytes. *Circ Res.* 13 juin 2003;92(11):1182-1192.
201. Mohler PJ, Davis JQ, Bennett V. Ankyrin-B coordinates the Na/K ATPase, Na/Ca exchanger, and InsP3 receptor in a cardiac T-tubule/SR microdomain. *PLoS Biol.* déc 2005;3(12):e423.
202. Tuvia S, Buhusi M, Davis L, Reedy M, Bennett V. Ankyrin-B is required for intracellular sorting of structurally diverse Ca²⁺ homeostasis proteins. *J Cell Biol.* 29 nov 1999;147(5):995-1008.
203. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature.* 10 janv 2002;415(6868):198-205.
204. Lederer WJ, Niggli E, Hadley RW. Sodium-calcium exchange in excitable cells: fuzzy space. *Science.* 20 avr 1990;248(4953):283.
205. Trafford AW, Díaz ME, O'Neill SC, Eisner DA. Comparison of subsarcolemmal and bulk calcium concentration during spontaneous calcium release in rat ventricular myocytes. *J Physiol.* 1 nov 1995;488 (Pt 3):577-586.
206. Scriven DR, Dan P, Moore ED. Distribution of proteins implicated in excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. *Biophys J.* nov 2000;79(5):2682-2691.
207. Heinzel FR, Bito V, Biesmans L, Wu M, Detre E, von Wegner F, et al. Remodeling of T-tubules and reduced synchrony of Ca²⁺ release in myocytes from chronically ischemic myocardium. *Circ Res.* 15 févr 2008;102(3):338-346.

208. Song L-S, Sobie EA, McCulle S, Lederer WJ, Balke CW, Cheng H. Orphaned ryanodine receptors in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 14 mars 2006;103(11):4305-4310.
209. Sharma VK, Ramesh V, Franzini-Armstrong C, Sheu SS. Transport of Ca²⁺ from sarcoplasmic reticulum to mitochondria in rat ventricular myocytes. *J Bioenerg Biomembr*. févr 2000;32(1):97-104.
210. Bassani RA, Bassani JW, Bers DM. Mitochondrial and sarcolemmal Ca²⁺ transport reduce [Ca²⁺]_i during caffeine contractures in rabbit cardiac myocytes. *J Physiol*. 1992;453:591-608.
211. Kaprielian RR, Stevenson S, Rothery SM, Cullen MJ, Severs NJ. Distinct patterns of dystrophin organization in myocyte sarcolemma and transverse tubules of normal and diseased human myocardium. *Circulation*. 6 juin 2000;101(22):2586-2594.
212. Sadeghi A, Doyle AD, Johnson BD. Regulation of the cardiac L-type Ca²⁺ channel by the actin-binding proteins alpha-actinin and dystrophin. *Am J Physiol Cell Physiol*. juin 2002;282(6):C1502-1511.
213. Hohaus A, Person V, Behlke J, Schaper J, Morano I, Haase H. The carboxyl-terminal region of ahnak provides a link between cardiac L-type Ca²⁺ channels and the actin-based cytoskeleton. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. août 2002;16(10):1205-1216.
214. Chung KY, Kang M, Walker JW. Contractile regulation by overexpressed ETA requires intact T tubules in adult rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mai 2008;294(5):H2391-2399.
215. Leach RN, Desai JC, Orchard CH. Effect of cytoskeleton disruptors on L-type Ca channel distribution in rat ventricular myocytes. *Cell Calcium*. nov 2005;38(5):515-526.
216. Undrovinas AI, Maltsev VA. Cytochalasin D alters kinetics of Ca²⁺ transient in rat ventricular cardiomyocytes: an effect of altered actin cytoskeleton? *J Mol Cell Cardiol*. août 1998;30(8):1665-1670.
217. Pascarel C, Brette F, Cazorla O, Le Guennec JY. Effects on L-type calcium current of agents interfering with the cytoskeleton of isolated guinea-pig ventricular myocytes. *Exp Physiol*. nov 1999;84(6):1043-1050.
218. Wang YG, Samarel AM, Lipsius SL. Laminin acts via beta 1 integrin signalling to alter cholinergic regulation of L-type Ca(2+) current in cat atrial myocytes. *J Physiol*. 1 juill 2000;526 Pt 1:57-68.
219. Wang YG, Samarel AM, Lipsius SL. Laminin binding to beta1-integrins selectively alters beta1- and beta2-adrenoceptor signalling in cat atrial myocytes. *J Physiol*. 15 août 2000;527 Pt 1:3-9.
220. Dzhura I, Wu Y, Colbran RJ, Corbin JD, Balsler JR, Anderson ME. Cytoskeletal disrupting agents prevent calmodulin kinase, IQ domain and voltage-dependent facilitation of L-type Ca²⁺ channels. *J Physiol*. 1 déc 2002;545(Pt 2):399-406.
221. Davani EY, Dorscheid DR, Lee C-H, van Breemen C, Walley KR. Novel regulatory mechanism of cardiomyocyte contractility involving ICAM-1 and the cytoskeleton. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. sept 2004;287(3):H1013-1022.
222. Iribe G, Ward CW, Camelliti P, Bollensdorff C, Mason F, Burton RAB, et al. Axial stretch of rat single ventricular cardiomyocytes causes an acute and transient increase in Ca²⁺ spark rate. *Circ Res*. 27 mars 2009;104(6):787-795.

223. Calaghan SC, Le Guennec JY, White E. Modulation of Ca²⁺ signaling by microtubule disruption in rat ventricular myocytes and its dependence on the ruptured patch-clamp configuration. *Circ Res.* 2 mars 2001;88(4):E32-37.
224. Palmer BM, Valent S, Holder EL, Weinberger HD, Bies RD. Microtubules modulate cardiomyocyte beta-adrenergic response in cardiac hypertrophy. *Am J Physiol.* nov 1998;275(5 Pt 2):H1707-1716.
225. Howarth FC, Calaghan SC, Boyett MR, White E. Effect of the microtubule polymerizing agent taxol on contraction, Ca²⁺ transient and L-type Ca²⁺ current in rat ventricular myocytes. *J Physiol.* 15 avr 1999;516 (Pt 2):409-419.
226. Dally S, Corvazier E, Bredoux R, Bobe R, Enouf J. Multiple and diverse coexpression, location, and regulation of additional SERCA2 and SERCA3 isoforms in nonfailing and failing human heart. *J Mol Cell Cardiol.* avr 2010;48(4):633-644.
227. Gokhin DS, Fowler VM. Tropomodulin capping of actin filaments in striated muscle development and physiology. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:103069.
228. Schulze DH, Muqhal M, Lederer WJ, Ruknudin AM. Sodium/calcium exchanger (NCX1) macromolecular complex. *J Biol Chem.* 1 août 2003;278(31):28849-28855.
229. Williamson JR. Mitochondrial function in the heart. *Annu Rev Physiol.* 1979;41:485-506.
230. Kaasik A, Veksler V, Boehm E, Novotova M, Minajeva A, Ventura-Clapier R. Energetic crosstalk between organelles: architectural integration of energy production and utilization. *Circ Res.* 20 juill 2001;89(2):153-159.
231. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V, Joubert F. Bioenergetics of the failing heart. *Biochim Biophys Acta.* juill 2011;1813(7):1360-1372.
232. CHANCE B, WILLIAMS GR. A method for the localization of sites for oxidative phosphorylation. *Nature.* 6 août 1955;176(4475):250-254.
233. Bell CJ, Bright NA, Rutter GA, Griffiths EJ. ATP regulation in adult rat cardiomyocytes: time-resolved decoding of rapid mitochondrial calcium spiking imaged with targeted photoproteins. *J Biol Chem.* 22 sept 2006;281(38):28058-28067.
234. Territo PR, French SA, Dunleavy MC, Evans FJ, Balaban RS. Calcium activation of heart mitochondrial oxidative phosphorylation: rapid kinetics of mVO₂, NADH, AND light scattering. *J Biol Chem.* 26 janv 2001;276(4):2586-2599.
235. Balaban RS. The role of Ca²⁺ signaling in the coordination of mitochondrial ATP production with cardiac work. *Biochim Biophys Acta.* nov 2009;1787(11):1334-1341.
236. Michels G, Khan IF, Endres-Becker J, Rottlaender D, Herzig S, Ruhparwar A, et al. Regulation of the human cardiac mitochondrial Ca²⁺ uptake by 2 different voltage-gated Ca²⁺ channels. *Circulation.* 12 mai 2009;119(18):2435-2443.
237. Maack C, Cortassa S, Aon MA, Ganesan AN, Liu T, O'Rourke B. Elevated cytosolic Na⁺ decreases mitochondrial Ca²⁺ uptake during excitation-contraction coupling and impairs energetic adaptation in cardiac myocytes. *Circ Res.* 21 juill 2006;99(2):172-182.
238. Robert V, Gurlini P, Tosello V, Nagai T, Miyawaki A, Di Lisa F, et al. Beat-to-beat oscillations of mitochondrial [Ca²⁺] in cardiac cells. *EMBO J.* 3 sept 2001;20(17):4998-5007.

239. Szalai G, Csordás G, Hantash BM, Thomas AP, Hajnóczky G. Calcium signal transmission between ryanodine receptors and mitochondria. *J Biol Chem.* 19 mai 2000;275(20):15305-15313.
240. Kuznetsov AV, Javadov S, Guzun R, Grimm M, Saks V. Cytoskeleton and regulation of mitochondrial function: the role of beta-tubulin II. *Front Physiol.* 2013;4:82.
241. Summerhayes IC, Wong D, Chen LB. Effect of microtubules and intermediate filaments on mitochondrial distribution. *J Cell Sci.* mai 1983;61:87-105.
242. Lindén M, Karlsson G. Identification of porin as a binding site for MAP2. *Biochem Biophys Res Commun.* 26 janv 1996;218(3):833-836.
243. Kedzior J, Masaoka M, Kurono C, Spodnik JH, Hallmann A, Majczak A, et al. Changes in physicochemical properties of microtubules lead to the formation of a single spherical structure of mitochondrial assembly enveloping nuclear chromatin. *J Electron Microscop.* (Tokyo). 2004;53(6):659-670.
244. Varbiro G, Veres B, Gallyas F Jr, Sumegi B. Direct effect of Taxol on free radical formation and mitochondrial permeability transition. *Free Radic Biol Med.* 15 août 2001;31(4):548-558.
245. Saks VA, Tiivel T, Kay L, Novel-Chaté V, Daneshrad Z, Rossi A, et al. On the regulation of cellular energetics in health and disease. *Mol Cell Biochem.* août 1996;160-161:195-208.
246. Rostovtseva TK, Sheldon KL, Hassanzadeh E, Monge C, Saks V, Bezrukov SM, et al. Tubulin binding blocks mitochondrial voltage-dependent anion channel and regulates respiration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 déc 2008;105(48):18746-18751.
247. Svitkina TM, Verkhovsky AB, Borisy GG. Plectin sidearms mediate interaction of intermediate filaments with microtubules and other components of the cytoskeleton. *J Cell Biol.* nov 1996;135(4):991-1007.
248. Andrä K, Lassmann H, Bittner R, Shorny S, Fässler R, Propst F, et al. Targeted inactivation of plectin reveals essential function in maintaining the integrity of skin, muscle, and heart cytoarchitecture. *Genes Dev.* 1 déc 1997;11(23):3143-3156.
249. Winter L, Abrahamsberg C, Wiche G. Plectin isoform 1b mediates mitochondrion-intermediate filament network linkage and controls organelle shape. *J Cell Biol.* 16 juin 2008;181(6):903-911.
250. Milner DJ, Mavroidis M, Weisleder N, Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton linked to muscle mitochondrial distribution and respiratory function. *J Cell Biol.* 18 sept 2000;150(6):1283-1298.
251. Kay L, Li Z, Mericskay M, Olivares J, Tranqui L, Fontaine E, et al. Study of regulation of mitochondrial respiration in vivo. An analysis of influence of ADP diffusion and possible role of cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta.* 10 nov 1997;1322(1):41-59.
252. Maloyan A, Osinska H, Lammerding J, Lee RT, Cingolani OH, Kass DA, et al. Biochemical and mechanical dysfunction in a mouse model of desmin-related myopathy. *Circ Res.* 24 avr 2009;104(8):1021-1028.
253. Maloyan A, Sanbe A, Osinska H, Westfall M, Robinson D, Imahashi K, et al. Mitochondrial dysfunction and apoptosis underlie the pathogenic process in alpha-B-crystallin desmin-related cardiomyopathy. *Circulation.* 29 nov 2005;112(22):3451-3461.

254. Chen Y, Csordás G, Jowdy C, Schneider TG, Csordás N, Wang W, et al. Mitofusin 2-containing mitochondrial-reticular microdomains direct rapid cardiomyocyte bioenergetic responses via interorganelle Ca(2+) crosstalk. *Circ Res.* 14 sept 2012;111(7):863-875.
255. Ohata H, Chacon E, Tesfai SA, Harper IS, Herman B, Lemasters JJ. Mitochondrial Ca²⁺ transients in cardiac myocytes during the excitation-contraction cycle: effects of pacing and hormonal stimulation. *J Bioenerg Biomembr.* juin 1998;30(3):207-222.
256. Wendt-Gallitelli MF, Isenberg G. Total and free myoplasmic calcium during a contraction cycle: x-ray microanalysis in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol.* avr 1991;435:349-372.
257. Gunter TE, Gunter KK, Sheu SS, Gavin CE. Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance. *Am J Physiol.* août 1994;267(2 Pt 1):C313-339.
258. Boncompagni S, Rossi AE, Micaroni M, Beznoussenko GV, Polishchuk RS, Dirksen RT, et al. Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures. *Mol Biol Cell.* févr 2009;20(3):1058-1067.
259. Pacher P, Csordás P, Schneider T, Hajnóczky G. Quantification of calcium signal transmission from sarco-endoplasmic reticulum to the mitochondria. *J Physiol.* 15 déc 2000;529 Pt 3:553-564.
260. Griffiths EJ, Rutter GA. Mitochondrial calcium as a key regulator of mitochondrial ATP production in mammalian cells. *Biochim Biophys Acta.* nov 2009;1787(11):1324-1333.
261. Dorn GW 2nd, Maack C. SR and mitochondria: calcium cross-talk between kissing cousins. *J Mol Cell Cardiol.* févr 2013;55:42-49.
262. García-Pérez C, Hajnóczky G, Csordás G. Physical coupling supports the local Ca²⁺ transfer between sarcoplasmic reticulum subdomains and the mitochondria in heart muscle. *J Biol Chem.* 21 nov 2008;283(47):32771-32780.
263. García-Pérez C, Schneider TG, Hajnóczky G, Csordás G. Alignment of sarcoplasmic reticulum-mitochondrial junctions with mitochondrial contact points. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* nov 2011;301(5):H1907-1915.
264. Csordás G, Renken C, Várnai P, Walter L, Weaver D, Buttle KF, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J Cell Biol.* 25 sept 2006;174(7):915-921.
265. Saks VA, Kaambre T, Sikk P, Eimre M, Orlova E, Paju K, et al. Intracellular energetic units in red muscle cells. *Biochem J.* 1 juin 2001;356(Pt 2):643-657.
266. Wilding JR, Joubert F, de Araujo C, Fortin D, Novotova M, Veksler V, et al. Altered energy transfer from mitochondria to sarcoplasmic reticulum after cytoarchitectural perturbations in mice hearts. *J Physiol.* 15 août 2006;575(Pt 1):191-200.
267. Milner DJ, Taffet GE, Wang X, Pham T, Tamura T, Hartley C, et al. The absence of desmin leads to cardiomyocyte hypertrophy and cardiac dilation with compromised systolic function. *J Mol Cell Cardiol.* nov 1999;31(11):2063-2076.
268. Papalouka V, Arvanitis DA, Vafiadaki E, Mavroidis M, Papadodima SA, Spiliopoulou CA, et al. Muscle LIM protein interacts with cofilin 2 and regulates F-actin dynamics in cardiac and skeletal muscle. *Mol Cell Biol.* nov 2009;29(22):6046-6058.

269. Thirion C, Stucka R, Mendel B, Gruhler A, Jaksch M, Nowak KJ, et al. Characterization of human muscle type cofilin (CFL2) in normal and regenerating muscle. *Eur J Biochem FEBS*. juin 2001;268(12):3473-3482.
270. Ali MAM, Stepanko A, Fan X, Holt A, Schulz R. Calpain inhibitors exhibit matrix metalloproteinase-2 inhibitory activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 22 juin 2012;423(1):1-5.
271. Sorimachi H, Ono Y. Regulation and physiological roles of the calpain system in muscular disorders. *Cardiovasc Res*. 1 oct 2012;96(1):11-22.
272. Cheng G, Kasiganesan H, Baicu CF, Wallenborn JG, Kuppuswamy D, Cooper G 4th. Cytoskeletal role in protection of the failing heart by β -adrenergic blockade. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1 févr 2012;302(3):H675-687.
273. Blunt BC, Creek AT, Henderson DC, Hofmann PA. H₂O₂ activation of HSP25/27 protects desmin from calpain proteolysis in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. sept 2007;293(3):H1518-1525.
274. Kumarapeli ARK, Wang X. Genetic modification of the heart: chaperones and the cytoskeleton. *J Mol Cell Cardiol*. déc 2004;37(6):1097-1109.
275. Bluhm WF, Martin JL, Mestril R, Dillmann WH. Specific heat shock proteins protect microtubules during simulated ischemia in cardiac myocytes. *Am J Physiol*. déc 1998;275(6 Pt 2):H2243-2249.
276. Li J, Horak KM, Su H, Sanbe A, Robbins J, Wang X. Enhancement of proteasomal function protects against cardiac proteinopathy and ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest*. sept 2011;121(9):3689-3700.
277. Rajasekaran NS, Connell P, Christians ES, Yan L-J, Taylor RP, Orosz A, et al. Human alpha B-crystallin mutation causes oxido-reductive stress and protein aggregation cardiomyopathy in mice. *Cell*. 10 août 2007;130(3):427-439.
278. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*. 28 févr 2008;451(7182):1069-1075.
279. Kopito RR, Sitia R. Aggresomes and Russell bodies. Symptoms of cellular indigestion? *EMBO Rep*. sept 2000;1(3):225-231.
280. Wang X, Osinska H, Klevitsky R, Gerdes AM, Nieman M, Lorenz J, et al. Expression of R120G-alphaB-crystallin causes aberrant desmin and alphaB-crystallin aggregation and cardiomyopathy in mice. *Circ Res*. 6 juill 2001;89(1):84-91.
281. Bennardini F, Wrzosek A, Chiesi M. Alpha B-crystallin in cardiac tissue. Association with actin and desmin filaments. *Circ Res*. août 1992;71(2):288-294.
282. Nakai A, Yamaguchi O, Takeda T, Higuchi Y, Hikoso S, Taniike M, et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress. *Nat Med*. mai 2007;13(5):619-624.
283. Pandey UB, Nie Z, Batlevi Y, McCray BA, Ritson GP, Nedelsky NB, et al. HDAC6 rescues neurodegeneration and provides an essential link between autophagy and the UPS. *Nature*. 14 juin 2007;447(7146):859-863.
284. Iwata A, Christianson JC, Bucci M, Ellerby LM, Nukina N, Forno LS, et al. Increased susceptibility of cytoplasmic over nuclear polyglutamine aggregates to autophagic degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 13 sept 2005;102(37):13135-13140.

285. Dhalla NS, Rangi S, Babick AP, Zieroth S, Elimban V. Cardiac remodeling and subcellular defects in heart failure due to myocardial infarction and aging. *Heart Fail Rev.* sept 2012;17(4-5):671-681.
286. Van Driest SL, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Sarcomeric genotyping in hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc Mayo Clin.* avr 2005;80(4):463-469.
287. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation.* 6 mai 2003;107(17):2227-2232.
288. Mogensen J, Klausen IC, Pedersen AK, Egeblad H, Bross P, Kruse TA, et al. Alpha-cardiac actin is a novel disease gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 15 mai 1999;103(10):R39-43.
289. Kumar A, Crawford K, Close L, Madison M, Lorenz J, Doetschman T, et al. Rescue of cardiac alpha-actin-deficient mice by enteric smooth muscle gamma-actin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 29 avr 1997;94(9):4406-4411.
290. Shawlot W, Deng JM, Fohn LE, Behringer RR. Restricted beta-galactosidase expression of a hygromycin-lacZ gene targeted to the beta-actin locus and embryonic lethality of beta-actin mutant mice. *Transgenic Res.* mars 1998;7(2):95-103.
291. Satoh M, Takahashi M, Sakamoto T, Hiroe M, Marumo F, Kimura A. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 27 août 1999;262(2):411-417.
292. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, Ueda K, Hohda S, Inagaki N, et al. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 7 déc 2004;44(11):2192-2201.
293. Knöll R, Kostin S, Klede S, Savvatis K, Klinge L, Stehle I, et al. A common MLP (muscle LIM protein) variant is associated with cardiomyopathy. *Circ Res.* 5 mars 2010;106(4):695-704.
294. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. *Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults.* *Circulation.* 15 août 1995;92(4):785-789.
295. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest.* juill 1975;56(1):56-64.
296. Xu Q, Dewey S, Nguyen S, Gomes AV. Malignant and benign mutations in familial cardiomyopathies: insights into mutations linked to complex cardiovascular phenotypes. *J Mol Cell Cardiol.* mai 2010;48(5):899-909.
297. Nakaoka Y, Shioyama W, Kunimoto S, Arita Y, Higuchi K, Yamamoto K, et al. SHP2 mediates gp130-dependent cardiomyocyte hypertrophy via negative regulation of skeletal alpha-actin gene. *J Mol Cell Cardiol.* août 2010;49(2):157-164.
298. Nakaoka Y, Nishida K, Fujio Y, Izumi M, Terai K, Oshima Y, et al. Activation of gp130 transduces hypertrophic signal through interaction of scaffolding/docking protein Gab1 with tyrosine phosphatase SHP2 in cardiomyocytes. *Circ Res.* 8 août 2003;93(3):221-229.
299. Hilfiker-Kleiner D, Knöll R. Disease-modifying mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy: complexity from simplicity. *Circulation.* 8 avr 2008;117(14):1775-1777.

300. Alpert NR, Mohiddin SA, Tripodi D, Jacobson-Hatzell J, Vaughn-Whitley K, Brosseau C, et al. Molecular and phenotypic effects of heterozygous, homozygous, and compound heterozygote myosin heavy-chain mutations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mars 2005;288(3):H1097-1102.
301. Geisterfer-Lowrance AA, Christe M, Conner DA, Ingwall JS, Schoen FJ, Seidman CE, et al. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science*. 3 mai 1996;272(5262):731-734.
302. Fatkin D, Christe ME, Aristizabal O, McConnell BK, Srinivasan S, Schoen FJ, et al. Neonatal cardiomyopathy in mice homozygous for the Arg403Gln mutation in the alpha cardiac myosin heavy chain gene. *J Clin Invest*. janv 1999;103(1):147-153.
303. Tsoutsman T, Kelly M, Ng DCH, Tan J-E, Tu E, Lam L, et al. Severe heart failure and early mortality in a double-mutation mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 8 avr 2008;117(14):1820-1831.
304. Burkett EL, Hershberger RE. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 5 avr 2005;45(7):969-981.
305. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 16 févr 2012;366(7):619-628.
306. Kamisago M, Sharma SD, DePalma SR, Solomon S, Sharma P, McDonough B, et al. Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 7 déc 2000;343(23):1688-1696.
307. McNally EM, Golbus JR, Puckelwartz MJ. Genetic mutations and mechanisms in dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2 janv 2013;123(1):19-26.
308. Olson TM, Michels VV, Thibodeau SN, Tai YS, Keating MT. Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure. *Science*. 1 mai 1998;280(5364):750-752.
309. Van der Ven PF, Bartsch JW, Gautel M, Jockusch H, Fürst DO. A functional knock-out of titin results in defective myofibril assembly. *J Cell Sci*. avr 2000;113 (Pt 8):1405-1414.
310. Knöll R, Hoshijima M, Hoffman HM, Person V, Lorenzen-Schmidt I, Bang M-L, et al. The cardiac mechanical stretch sensor machinery involves a Z disc complex that is defective in a subset of human dilated cardiomyopathy. *Cell*. 27 déc 2002;111(7):943-955.
311. Yasuda S, Townsend D, Michele DE, Favre EG, Day SM, Metzger JM. Dystrophic heart failure blocked by membrane sealant poloxamer. *Nature*. 18 août 2005;436(7053):1025-1029.
312. Hack AA, Lam MY, Cordier L, Shoturma DI, Ly CT, Hadhazy MA, et al. Differential requirement for individual sarcoglycans and dystrophin in the assembly and function of the dystrophin-glycoprotein complex. *J Cell Sci*. juill 2000;113 (Pt 14):2535-2544.
313. Elliott P, O'Mahony C, Syrris P, Evans A, Rivera Sorensen C, Sheppard MN, et al. Prevalence of desmosomal protein gene mutations in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. août 2010;3(4):314-322.
314. Garcia-Pavia P, Syrris P, Salas C, Evans A, Mirelis JG, Cobo-Marcos M, et al. Desmosomal protein gene mutations in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy undergoing cardiac transplantation: a clinicopathological study. *Heart Br Card Soc*. nov 2011;97(21):1744-1752.

315. Arbustini E, Pilotto A, Repetto A, Grasso M, Negri A, Diegoli M, et al. Autosomal dominant dilated cardiomyopathy with atrioventricular block: a lamin A/C defect-related disease. *J Am Coll Cardiol*. 20 mars 2002;39(6):981-990.
316. Bione S, Maestrini E, Rivella S, Mancini M, Regis S, Romeo G, et al. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet*. déc 1994;8(4):323-327.
317. Dees E, Miller PM, Moynihan KL, Pooley RD, Hunt RP, Galindo CL, et al. Cardiac-specific deletion of the microtubule-binding protein CENP-F causes dilated cardiomyopathy. *Dis Model Mech*. juill 2012;5(4):468-480.
318. Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton in healthy and failing heart. *Heart Fail Rev*. oct 2000;5(3):203-220.
319. Sanbe A. Molecular mechanisms of α -crystallinopathy and its therapeutic strategy. *Biol Pharm Bull*. 2011;34(11):1653-1658.
320. Du C-K, Morimoto S, Nishii K, Minakami R, Ohta M, Tadano N, et al. Knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy caused by troponin mutation. *Circ Res*. 20 juill 2007;101(2):185-194.
321. Lakdawala NK, Dellefave L, Redwood CS, Sparks E, Cirino AL, Depalma S, et al. Familial dilated cardiomyopathy caused by an alpha-tropomyosin mutation: the distinctive natural history of sarcomeric dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 26 janv 2010;55(4):320-329.
322. Nagueh SF, Shah G, Wu Y, Torre-Amione G, King NMP, Lahmers S, et al. Altered titin expression, myocardial stiffness, and left ventricular function in patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 13 juill 2004;110(2):155-162.
323. Borbély A, Falcao-Pires I, van Heerebeek L, Hamdani N, Edes I, Gavina C, et al. Hypophosphorylation of the Stiff N2B titin isoform raises cardiomyocyte resting tension in failing human myocardium. *Circ Res*. 27 mars 2009;104(6):780-786.
324. Crossman DJ, Ruygrok PN, Ruygrok PR, Soeller C, Cannell MB. Changes in the organization of excitation-contraction coupling structures in failing human heart. *PloS One*. 2011;6(3):e17901.
325. Schaper J, Froede R, Hein S, Buck A, Hashizume H, Speiser B, et al. Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy. *Circulation*. févr 1991;83(2):504-514.
326. Yang J, Moravec CS, Sussman MA, DiPaola NR, Fu D, Hawthorn L, et al. Decreased SLIM1 expression and increased gelsolin expression in failing human hearts measured by high-density oligonucleotide arrays. *Circulation*. 19 déc 2000;102(25):3046-3052.
327. Müller AL, Dhalla NS. Role of various proteases in cardiac remodeling and progression of heart failure. *Heart Fail Rev*. mai 2012;17(3):395-409.
328. Kandasamy AD, Chow AK, Ali MAM, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. *Cardiovasc Res*. 1 févr 2010;85(3):413-423.
329. Lüthi AU, Martin SJ. The CASBAH: a searchable database of caspase substrates. *Cell Death Differ*. avr 2007;14(4):641-650.

330. Viola HM, Davies SMK, Filipovska A, Hool LC. L-type Ca(2+) channel contributes to alterations in mitochondrial calcium handling in the mdx ventricular myocyte. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 15 mars 2013;304(6):H767-775.
331. Gupte RS, Vijay V, Marks B, Levine RJ, Sabbah HN, Wolin MS, et al. Upregulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NAD(P)H oxidase activity increases oxidative stress in failing human heart. *J Card Fail*. août 2007;13(6):497-506.
332. Koyama H, Nojiri H, Kawakami S, Sunagawa T, Shirasawa T, Shimizu T. Antioxidants improve the phenotypes of dilated cardiomyopathy and muscle fatigue in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. *Mol Basel Switz*. 2013;18(2):1383-1393.
333. Eiserich JP, Estévez AG, Bamberg TV, Ye YZ, Chumley PH, Beckman JS, et al. Microtubule dysfunction by posttranslational nitrotyrosination of alpha-tubulin: a nitric oxide-dependent mechanism of cellular injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 25 mai 1999;96(11):6365-6370.
334. Canton M, Neverova I, Menabò R, Van Eyk J, Di Lisa F. Evidence of myofibrillar protein oxidation induced by postischemic reperfusion in isolated rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mars 2004;286(3):H870-877.
335. Predmore JM, Wang P, Davis F, Bartolone S, Westfall MV, Dyke DB, et al. Ubiquitin proteasome dysfunction in human hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Circulation*. 2 mars 2010;121(8):997-1004.
336. Sun X-M, Butterworth M, MacFarlane M, Dubiel W, Ciechanover A, Cohen GM. Caspase activation inhibits proteasome function during apoptosis. *Mol Cell*. 9 avr 2004;14(1):81-93.
337. Bergman MR, Teerlink JR, Mahimkar R, Li L, Zhu B-Q, Nguyen A, et al. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. avr 2007;292(4):H1847-1860.
338. Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science*. 25 mai 2001;292(5521):1552-1555.
339. Roger VL. Epidemiology of myocardial infarction. *Med Clin North Am*. juill 2007;91(4):537-552; ix.
340. Steg PG, Goldberg RJ, Gore JM, Fox KAA, Eagle KA, Flather MD, et al. Baseline characteristics, management practices, and in-hospital outcomes of patients hospitalized with acute coronary syndromes in the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am J Cardiol*. 15 août 2002;90(4):358-363.
341. Goldberg RJ, Samad NA, Yarzebski J, Gurwitz J, Bigelow C, Gore JM. Temporal trends in cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 15 avr 1999;340(15):1162-1168.
342. Nieminen MS, Brutsaert D, Dickstein K, Drexler H, Follath F, Harjola V-P, et al. EuroHeart Failure Survey II (EHFS II): a survey on hospitalized acute heart failure patients: description of population. *Eur Heart J*. nov 2006;27(22):2725-2736.
343. Weir RAP, McMurray JJV. Epidemiology of heart failure and left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction. *Curr Heart Fail Rep*. déc 2006;3(4):175-180.
344. Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Inserte J, Rodriguez-Sinovas A, Piper HM. Calcium-mediated cell death during myocardial reperfusion. *Cardiovasc Res*. 1 mai 2012;94(2):168-180.

345. Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction. From bench to cath lab. Part I: Basic considerations. *Arch Cardiovasc Dis.* août 2008;101(7-8):491-500.
346. Veksler VI, Kuznetsov AV, Sharov VG, Kapelko VI, Saks VA. Mitochondrial respiratory parameters in cardiac tissue: a novel method of assessment by using saponin-skinned fibers. *Biochim Biophys Acta.* 29 juin 1987;892(2):191-196.
347. Hahn HS, Yussman MG, Toyokawa T, Marreez Y, Barrett TJ, Hilty KC, et al. Ischemic protection and myofibrillar cardiomyopathy: dose-dependent effects of in vivo deltaPKC inhibition. *Circ Res.* 18 oct 2002;91(8):741-748.
348. Appukuttan A, Kasseckert SA, Micoogullari M, Flacke J-P, Kumar S, Woste A, et al. Type 10 adenylyl cyclase mediates mitochondrial Bax translocation and apoptosis of adult rat cardiomyocytes under simulated ischaemia/reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1 févr 2012;93(2):340-349.
349. Fauconnier J, Meli AC, Thireau J, Roberge S, Shan J, Sassi Y, et al. Ryanodine receptor leak mediated by caspase-8 activation leads to left ventricular injury after myocardial ischemia-reperfusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 août 2011;108(32):13258-13263.
350. Wilding JR, Lygate CA, Davies KE, Neubauer S, Clarke K. MLP accumulation and remodelling in the infarcted rat heart. *Eur J Heart Fail.* juin 2006;8(4):343-346.
351. Bao W, Hu E, Tao L, Boyce R, Mirabile R, Thudium DT, et al. Inhibition of Rho-kinase protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 15 févr 2004;61(3):548-558.
352. Tian Z, Zheng H, Li J, Li Y, Su H, Wang X. Genetically induced moderate inhibition of the proteasome in cardiomyocytes exacerbates myocardial ischemia-reperfusion injury in mice. *Circ Res.* 17 août 2012;111(5):532-542.
353. Erdal C, Karakulah G, Fermanci E, Kunter I, Silistreli E, Canda T, et al. Early biventricular molecular responses to an acute myocardial infarction. *Int J Med Sci.* 2012;9(1):74-82.
354. Hein S, Scheffold T, Schaper J. Ischemia induces early changes to cytoskeletal and contractile proteins in diseased human myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg.* juill 1995;110(1):89-98.
355. Vandroux D, Schaeffer C, Tissier C, Lalande A, Bès S, Rochette L, et al. Microtubule alteration is an early cellular reaction to the metabolic challenge in ischemic cardiomyocytes. *Mol Cell Biochem.* mars 2004;258(1-2):99-108.
356. Smyth JW, Vogan JM, Buch PJ, Zhang S-S, Fong TS, Hong T-T, et al. Actin cytoskeleton rest stops regulate anterograde traffic of connexin 43 vesicles to the plasma membrane. *Circ Res.* 30 mars 2012;110(7):978-989.
357. Matsumura Y, Saeki E, Inoue M, Hori M, Kamada T, Kusuoka H. Inhomogeneous disappearance of myofilament-related cytoskeletal proteins in stunned myocardium of guinea pig. *Circ Res.* sept 1996;79(3):447-454.
358. Rodríguez M, Cai W-J, Kostin S, Lucchesi BR, Schaper J. Ischemia depletes dystrophin and inhibits protein synthesis in the canine heart: mechanisms of myocardial ischemic injury. *J Mol Cell Cardiol.* mai 2005;38(5):723-733.
359. Iwai K, Hori M, Kitabatake A, Kurihara H, Uchida K, Inoue M, et al. Disruption of microtubules as an early sign of irreversible ischemic injury. Immunohistochemical study of in situ canine hearts. *Circ Res.* sept 1990;67(3):694-706.

360. Sato H, Hori M, Kitakaze M, Iwai K, Takashima S, Kurihara H, et al. Reperfusion after brief ischemia disrupts the microtubule network in canine hearts. *Circ Res.* févr 1993;72(2):361-375.
361. Kyoï S, Otani H, Hamano A, Matsuhisa S, Akita Y, Fujiwara H, et al. Dystrophin is a possible end-target of ischemic preconditioning against cardiomyocyte oncosis during the early phase of reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1 mai 2006;70(2):354-363.
362. Sharma A, Singh M. Possible mechanism of cardioprotective effect of ischaemic preconditioning in isolated rat heart. *Pharmacol Res Off J Ital Pharmacol Soc.* juin 2000;41(6):635-640.
363. Xiao J, Liang D, Liu Y, Zhang H, Liu Y, Zhao H, et al. Taxol, a microtubule stabilizer, improves cardiac functional recovery during postischemic reperfusion in rat in vitro. *Cardiovasc Ther.* févr 2012;30(1):12-30.
364. Devillard L, Vandroux D, Tissier C, Dumont L, Borgeot J, Rochette L, et al. Involvement of microtubules in the tolerance of cardiomyocytes to cold ischemia-reperfusion. *Mol Cell Biochem.* janv 2008;307(1-2):149-157.
365. De Waard MC, van der Velden J, Bito V, Ozdemir S, Biesmans L, Boontje NM, et al. Early exercise training normalizes myofilament function and attenuates left ventricular pump dysfunction in mice with a large myocardial infarction. *Circ Res.* 13 avr 2007;100(7):1079-1088.
366. Ambler SK, Hodges YK, Jones GM, Long CS, Horwitz LD. Prolonged administration of a dithiol antioxidant protects against ventricular remodeling due to ischemia-reperfusion in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* sept 2008;295(3):H1303-H1310.
367. Sandmann S, Prenzel F, Shaw L, Schauer R, Unger T. Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium--influence of the calpain inhibitor CAL 9961. *Br J Pharmacol.* avr 2002;135(8):1951-1958.
368. Peterson JT, Li H, Dillon L, Bryant JW. Evolution of matrix metalloprotease and tissue inhibitor expression during heart failure progression in the infarcted rat. *Cardiovasc Res.* mai 2000;46(2):307-315.
369. Yarbrough WM, Mukherjee R, Stroud RE, Meyer EC, Escobar GP, Sample JA, et al. Caspase inhibition modulates left ventricular remodeling following myocardial infarction through cellular and extracellular mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol.* avr 2010;55(4):408-416.
370. Li GH, Shi Y, Chen Y, Sun M, Sader S, Maekawa Y, et al. Gelsolin regulates cardiac remodeling after myocardial infarction through DNase I-mediated apoptosis. *Circ Res.* 10 avr 2009;104(7):896-904.
371. Hattori T, Shimokawa H, Higashi M, Hiroki J, Mukai Y, Tsutsui H, et al. Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation.* 11 mai 2004;109(18):2234-2239.
372. Zolk O, Caroni P, Böhm M. Decreased expression of the cardiac LIM domain protein MLP in chronic human heart failure. *Circulation.* 13 juin 2000;101(23):2674-2677.
373. Heineke J, Ruetten H, Willenbockel C, Gross SC, Naguib M, Schaefer A, et al. Attenuation of cardiac remodeling after myocardial infarction by muscle LIM protein-calcineurin signaling at the sarcomeric Z-disc. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1 févr 2005;102(5):1655-1660.

374. Cieniewski-Bernard C, Mulder P, Henry J-P, Drobecq H, Dubois E, Pottiez G, et al. Proteomic analysis of left ventricular remodeling in an experimental model of heart failure. *J Proteome Res.* nov 2008;7(11):5004-5016.
375. Melle C, Camacho JA, Surber R, Betge S, Von Eggeling F, Zimmer T. Region-specific alterations of global protein expression in the remodelled rat myocardium. *Int J Mol Med.* déc 2006;18(6):1207-1215.
376. Roselló-Lletí E, Alonso J, Cortés R, Almenar L, Martínez-Dolz L, Sánchez-Lázaro I, et al. Cardiac protein changes in ischaemic and dilated cardiomyopathy: a proteomic study of human left ventricular tissue. *J Cell Mol Med.* oct 2012;16(10):2471-2486.
377. Buss SJ, Muenz S, Riffel JH, Malekar P, Hagenmueller M, Weiss CS, et al. Beneficial effects of Mammalian target of rapamycin inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 15 déc 2009;54(25):2435-2446.
378. Feng J, Schaus BJ, Fallavollita JA, Lee TC, Canty JM Jr. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation.* 24 avr 2001;103(16):2035-2037.
379. Van der Laarse A. Hypothesis: troponin degradation is one of the factors responsible for deterioration of left ventricular function in heart failure. *Cardiovasc Res.* oct 2002;56(1):8-14.
380. Neagoe C, Kulke M, del Monte F, Gwathmey JK, de Tombe PP, Hajjar RJ, et al. Titin isoform switch in ischemic human heart disease. *Circulation.* 10 sept 2002;106(11):1333-1341.
381. Lyon AR, MacLeod KT, Zhang Y, Garcia E, Kanda GK, Lab MJ, et al. Loss of T-tubules and other changes to surface topography in ventricular myocytes from failing human and rat heart. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 21 avr 2009;106(16):6854-6859.
382. Wagner E, Lauterbach MA, Kohl T, Westphal V, Williams GSB, Steinbrecher JH, et al. Stimulated emission depletion live-cell super-resolution imaging shows proliferative remodeling of T-tubule membrane structures after myocardial infarction. *Circ Res.* 3 août 2012;111(4):402-414.
383. Di Somma S, Di Benedetto MP, Salvatore G, Agozzino L, Ferranti F, Esposito S, et al. Desmin-free cardiomyocytes and myocardial dysfunction in end stage heart failure. *Eur J Heart Fail.* juin 2004;6(4):389-398.
384. Regitz-Zagrosek V, Oertelt-Prigione S, Seeland U, Hetzer R. Sex and gender differences in myocardial hypertrophy and heart failure. *Circ J Off J Jpn Circ Soc.* juill 2010;74(7):1265-1273.
385. Watts JA, Marchick MR, Kline JA. Right ventricular heart failure from pulmonary embolism: key distinctions from chronic pulmonary hypertension. *J Card Fail.* mars 2010;16(3):250-259.
386. Henkel DM, Malouf JF, Connolly HM, Michelena HI, Sarano ME, Schaff HV, et al. Asymptomatic left ventricular systolic dysfunction in patients with severe aortic stenosis: characteristics and outcomes. *J Am Coll Cardiol.* 4 déc 2012;60(22):2325-2329.
387. Kawut SM, Barr RG, Lima JAC, Praestgaard A, Johnson WC, Chahal H, et al. Right ventricular structure is associated with the risk of heart failure and cardiovascular death: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)--right ventricle study. *Circulation.* 2 oct 2012;126(14):1681-1688.

388. Larstorp ACK, Okin PM, Devereux RB, Olsen MH, Ibsen H, Dahlöf B, et al. Regression of ECG-LVH is associated with lower risk of new-onset heart failure and mortality in patients with isolated systolic hypertension; The LIFE study. *Am J Hypertens.* oct 2012;25(10):1101-1109.
389. Frohlich ED, Susic D. Pressure overload. *Heart Fail Clin.* janv 2012;8(1):21-32.
390. Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am Coll Cardiol.* mai 1986;7(5):1140-1149.
391. López JE, Myagmar B-E, Swigart PM, Montgomery MD, Haynam S, Bigos M, et al. β -myosin heavy chain is induced by pressure overload in a minor subpopulation of smaller mouse cardiac myocytes. *Circ Res.* 2 sept 2011;109(6):629-638.
392. Imamura T, McDermott PJ, Kent RL, Nagatsu M, Cooper G 4th, Carabello BA. Acute changes in myosin heavy chain synthesis rate in pressure versus volume overload. *Circ Res.* sept 1994;75(3):418-425.
393. Varian KD, Kijawornrat A, Gupta SC, Torres CAA, Monasky MM, Hiranandani N, et al. Impairment of diastolic function by lack of frequency-dependent myofilament desensitization rabbit right ventricular hypertrophy. *Circ Heart Fail.* sept 2009;2(5):472-481.
394. Hudson B, Hidalgo C, Saripalli C, Granzier H. Hyperphosphorylation of mouse cardiac titin contributes to transverse aortic constriction-induced diastolic dysfunction. *Circ Res.* 30 sept 2011;109(8):858-866.
395. Bishu K, Hamdani N, Mohammed SF, Kruger M, Ohtani T, Ogut O, et al. Sildenafil and B-type natriuretic peptide acutely phosphorylate titin and improve diastolic distensibility in vivo. *Circulation.* 20 déc 2011;124(25):2882-2891.
396. Warren CM, Jordan MC, Roos KP, Krzesinski PR, Greaser ML. Titin isoform expression in normal and hypertensive myocardium. *Cardiovasc Res.* 1 juill 2003;59(1):86-94.
397. Wang X, Li F, Campbell SE, Gerdes AM. Chronic pressure overload cardiac hypertrophy and failure in guinea pigs: II. Cytoskeletal remodeling. *J Mol Cell Cardiol.* févr 1999;31(2):319-331.
398. Wang X, Gerdes AM. Chronic pressure overload cardiac hypertrophy and failure in guinea pigs: III. Intercalated disc remodeling. *J Mol Cell Cardiol.* févr 1999;31(2):333-343.
399. Tribulova N, Okruhlicova L, Novakova S, Pancza D, Bernatova I, Pechanova O, et al. Hypertension-related intermyocyte junction remodelling is associated with a higher incidence of low-K(+)-induced lethal arrhythmias in isolated rat heart. *Exp Physiol.* mars 2002;87(2):195-205.
400. Li R, Wu Y, Manso AM, Gu Y, Liao P, Israeli S, et al. β 1 integrin gene excision in the adult murine cardiac myocyte causes defective mechanical and signaling responses. *Am J Pathol.* mars 2012;180(3):952-962.
401. Torsoni AS, Fonseca PM, Crosara-Alberto DP, Franchini KG. Early activation of p160ROCK by pressure overload in rat heart. *Am J Physiol Cell Physiol.* juin 2003;284(6):C1411-1419.
402. Phrommintikul A, Tran L, Kompa A, Wang B, Adrahtas A, Cantwell D, et al. Effects of a Rho kinase inhibitor on pressure overload induced cardiac hypertrophy and associated diastolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* avr 2008;294(4):H1804-1814.

403. Kumarapeli ARK, Su H, Huang W, Tang M, Zheng H, Horak KM, et al. Alpha B-crystallin suppresses pressure overload cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 5 déc 2008;103(12):1473-1482.
404. Pagan J, Seto T, Pagano M, Cittadini A. Role of the ubiquitin proteasome system in the heart. *Circ Res.* 29 mars 2013;112(7):1046-1058.
405. Rothermel BA, Hill JA. Autophagy in load-induced heart disease. *Circ Res.* 5 déc 2008;103(12):1363-1369.
406. Carabello BA. Volume overload. *Heart Fail Clin.* janv 2012;8(1):33-42.
407. Pinsky WW, Lewis RM, Hartley CJ, Entman ML. Permanent changes of ventricular contractility and compliance in chronic volume overload. *Am J Physiol.* nov 1979;237(5):H575-583.
408. Namba T, Tsutsui H, Tagawa H, Takahashi M, Saito K, Kozai T, et al. Regulation of fibrillar collagen gene expression and protein accumulation in volume-overloaded cardiac hypertrophy. *Circulation.* 20 mai 1997;95(10):2448-2454.
409. Oral H, Sivasubramanian N, Dyke DB, Mehta RH, Grossman PM, Briesmiester K, et al. Myocardial proinflammatory cytokine expression and left ventricular remodeling in patients with chronic mitral regurgitation. *Circulation.* 18 févr 2003;107(6):831-837.
410. Leszek P, Korewicki J, Klisiewicz A, Janas J, Biederman A, Browarek A, et al. Reduced myocardial expression of calcium handling protein in patients with severe chronic mitral regurgitation. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg.* nov 2006;30(5):737-743.
411. Nguyen TT, Hayes E, Mulieri LA, Leavitt BJ, ter Keurs HE, Alpert NR, et al. Maximal actomyosin ATPase activity and in vitro myosin motility are unaltered in human mitral regurgitation heart failure. *Circ Res.* août 1996;79(2):222-226.
412. Calderone A, Takahashi N, Izzo NJ Jr, Thaik CM, Colucci WS. Pressure- and volume-induced left ventricular hypertrophies are associated with distinct myocyte phenotypes and differential induction of peptide growth factor mRNAs. *Circulation.* 1 nov 1995;92(9):2385-2390.
413. Matsuo T, Carabello BA, Nagatomo Y, Koide M, Hamawaki M, Zile MR, et al. Mechanisms of cardiac hypertrophy in canine volume overload. *Am J Physiol.* juill 1998;275(1 Pt 2):H65-74.
414. Mercadier JJ, Lompré AM, Wisnewsky C, Samuel JL, Bercovici J, Swynghedauw B, et al. Myosin isoenzyme changes in several models of rat cardiac hypertrophy. *Circ Res.* août 1981;49(2):525-532.
415. Pat B, Chen Y, Killingsworth C, Gladden JD, Shi K, Zheng J, et al. Chymase inhibition prevents fibronectin and myofibrillar loss and improves cardiomyocyte function and LV torsion angle in dogs with isolated mitral regurgitation. *Circulation.* 12 oct 2010;122(15):1488-1495.
416. Mulieri LA, Barnes W, Leavitt BJ, Ittleman FP, LeWinter MM, Alpert NR, et al. Alterations of myocardial dynamic stiffness implicating abnormal crossbridge function in human mitral regurgitation heart failure. *Circ Res.* 11 janv 2002;90(1):66-72.
417. Donker DW, Maessen JG, Verheyen F, Ramaekers FC, Spätjens RLHMG, Kuijpers H, et al. Impact of acute and enduring volume overload on mechanotransduction and

- cytoskeletal integrity of canine left ventricular myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. mai 2007;292(5):H2324-2332.
418. Prasad K, Singal PK. Ultrastructure of failing myocardium due to induced chronic mitral insufficiency in dogs. *Br J Exp Pathol*. juin 1977;58(3):289-300.
 419. Oceandy D, Yusoff R, Baudoin FM, Neyses L, Ray SG. Promoter polymorphism of the matrix metalloproteinase 3 gene is associated with regurgitation and left ventricular remodelling in mitral valve prolapse patients. *Eur J Heart Fail*. oct 2007;9(10):1010-1017.
 420. Barnato AE, Alexander SL, Linde-Zwirble WT, Angus DC. Racial variation in the incidence, care, and outcomes of severe sepsis: analysis of population, patient, and hospital characteristics. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 févr 2008;177(3):279-284.
 421. Flaatten H. Epidemiology of sepsis in Norway in 1999. *Crit Care Lond Engl*. août 2004;8(4):R180-184.
 422. Grandel U, Grimminger F. Endothelial responses to bacterial toxins in sepsis. *Crit Rev Immunol*. 2003;23(4):267-299.
 423. Natanson C, Eichenholz PW, Danner RL, Eichacker PQ, Hoffman WD, Kuo GC, et al. Endotoxin and tumor necrosis factor challenges in dogs simulate the cardiovascular profile of human septic shock. *J Exp Med*. 1 mars 1989;169(3):823-832.
 424. Joulin O, Petillot P, Labalette M, Lancel S, Neviere R. Cytokine profile of human septic shock serum inducing cardiomyocyte contractile dysfunction. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov*. 2007;56(3):291-297.
 425. Cauwels A, Brouckaert P. Nitrite regulation of shock. *Cardiovasc Res*. 15 févr 2011;89(3):553-559.
 426. Reid VL, Webster NR. Role of microparticles in sepsis. *Br J Anaesth*. oct 2012;109(4):503-513.
 427. Dhainaut JF, Huyghebaert MF, Monsallier JF, Lefevre G, Dall'Ava-Santucci J, Brunet F, et al. Coronary hemodynamics and myocardial metabolism of lactate, free fatty acids, glucose, and ketones in patients with septic shock. *Circulation*. mars 1987;75(3):533-541.
 428. Avontuur JA, Bruining HA, Ince C. Inhibition of nitric oxide synthesis causes myocardial ischemia in endotoxemic rats. *Circ Res*. mars 1995;76(3):418-425.
 429. Vieillard-Baron A. Septic cardiomyopathy. *Ann Intensive Care*. 2011;1(1):6.
 430. Vieillard Baron A, Schmitt JM, Beauchet A, Augarde R, Prin S, Page B, et al. Early preload adaptation in septic shock? A transesophageal echocardiographic study. *Anesthesiology*. mars 2001;94(3):400-406.
 431. Bouhemad B, Nicolas-Robin A, Arbelot C, Arthaud M, Féger F, Rouby J-J. Acute left ventricular dilatation and shock-induced myocardial dysfunction. *Crit Care Med*. févr 2009;37(2):441-447.
 432. Neviere RR, Cepinskas G, Madorin WS, Hoque N, Karmazyn M, Sibbald WJ, et al. LPS pretreatment ameliorates peritonitis-induced myocardial inflammation and dysfunction: role of myocytes. *Am J Physiol*. sept 1999;277(3 Pt 2):H885-892.
 433. Chopra M, Golden HB, Mullapudi S, Dowhan W, Dostal DE, Sharma AC. Modulation of myocardial mitochondrial mechanisms during severe polymicrobial sepsis in the rat. *PLoS One*. 2011;6(6):e21285.

434. Jardin F, Fourme T, Page B, Loubières Y, Vieillard-Baron A, Beauchet A, et al. Persistent preload defect in severe sepsis despite fluid loading: A longitudinal echocardiographic study in patients with septic shock. *Chest*. nov 1999;116(5):1354-1359.
435. Piper RD, Li FY, Myers ML, Sibbald WJ. Structure-function relationships in the septic rat heart. *Am J Respir Crit Care Med*. nov 1997;156(5):1473-1482.
436. Rossi MA, Celes MRN, Prado CM, Saggiaro FP. Myocardial structural changes in long-term human severe sepsis/septic shock may be responsible for cardiac dysfunction. *Shock Augusta Ga*. janv 2007;27(1):10-18.
437. Chopra M, Das P, Sharma AC. Caspase-3 knock-down reverses contractile dysfunction induced by sepsis in adult rat ventricular myocytes. *Br J Pharmacol*. mai 2010;160(1):93-100.
438. McGown CC, Brown NJ, Hellewell PG, Brookes ZLS. ROCK induced inflammation of the microcirculation during endotoxemia mediated by nitric oxide synthase. *Microvasc Res*. mai 2011;81(3):281-288.
439. Hinkelbein J, Kalenka A, Schubert C, Peterka A, Feldmann RE Jr. Proteome and metabolome alterations in heart and liver indicate compromised energy production during sepsis. *Protein Pept Lett*. janv 2010;17(1):18-31.
440. Prigent H, Maxime V, Annane D. Clinical review: corticotherapy in sepsis. *Crit Care Lond Engl*. avr 2004;8(2):122-129.
441. Gupta A, Aberle NS 2nd, Ren J, Sharma AC. Endothelin-converting enzyme-1-mediated signaling in adult rat ventricular myocyte contractility and apoptosis during sepsis. *J Mol Cell Cardiol*. mars 2005;38(3):527-537.
442. Lancel S, Joulin O, Favory R, Goossens JF, Kluza J, Chopin C, et al. Ventricular myocyte caspases are directly responsible for endotoxin-induced cardiac dysfunction. *Circulation*. 24 mai 2005;111(20):2596-2604.
443. Neviere R, Hassoun SM, Decoster B, Bouazza Y, Montaigne D, Maréchal X, et al. Caspase-dependent protein phosphatase 2A activation contributes to endotoxin-induced cardiomyocyte contractile dysfunction. *Crit Care Med*. oct 2010;38(10):2031-2036.
444. Tavernier B, Li JM, El-Omar MM, Lanone S, Yang ZK, Trayer IP, et al. Cardiac contractile impairment associated with increased phosphorylation of troponin I in endotoxemic rats. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. févr 2001;15(2):294-296.
445. Tavernier B, Mebazaa A, Mateo P, Sys S, Ventura-Clapier R, Veksler V. Phosphorylation-dependent alteration in myofilament Ca^{2+} sensitivity but normal mitochondrial function in septic heart. *Am J Respir Crit Care Med*. févr 2001;163(2):362-367.
446. Hassoun SM, Marechal X, Montaigne D, Bouazza Y, Decoster B, Lancel S, et al. Prevention of endotoxin-induced sarcoplasmic reticulum calcium leak improves mitochondrial and myocardial dysfunction. *Crit Care Med*. sept 2008;36(9):2590-2596.
447. Larche J, Lancel S, Hassoun SM, Favory R, Decoster B, Marchetti P, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents sepsis-induced myocardial dysfunction and mortality. *J Am Coll Cardiol*. 18 juill 2006;48(2):377-385.
448. Singer M. Mitochondrial function in sepsis: acute phase versus multiple organ failure. *Crit Care Med*. sept 2007;35(9 Suppl):S441-448.

449. Nevière R, Fauvel H, Chopin C, Formstecher P, Marchetti P. Caspase inhibition prevents cardiac dysfunction and heart apoptosis in a rat model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* janv 2001;163(1):218-225.
450. Lancel S, Tissier S, Mordon S, Marechal X, Depontieu F, Scherpereel A, et al. Peroxynitrite decomposition catalysts prevent myocardial dysfunction and inflammation in endotoxemic rats. *J Am Coll Cardiol.* 16 juin 2004;43(12):2348-2358.
451. Lipinska-Gediga M, Mierzchala M, Durek G. Pro-atrial natriuretic peptide (pro-ANP) level in patients with severe sepsis and septic shock: prognostic and diagnostic significance. *Infection.* juin 2012;40(3):303-309.
452. Meng X, Brown JM, Ao L, Rowland RT, Nordeen SK, Banerjee A, et al. Myocardial gene reprogramming associated with a cardiac cross-resistant state induced by LPS preconditioning. *Am J Physiol.* août 1998;275(2 Pt 1):C475-483.
453. Patten M, Krämer E, Bünemann J, Wenck C, Thoenes M, Wieland T, et al. Endotoxin and cytokines alter contractile protein expression in cardiac myocytes in vivo. *Pflügers Arch Eur J Physiol.* sept 2001;442(6):920-927.
454. Castegren M, Skorup P, Lipsey M, Larsson A, Sjölin J. Endotoxin tolerance variation over 24 h during porcine endotoxemia: association with changes in circulation and organ dysfunction. *PloS One.* 2013;8(1):e53221.
455. Tissier S, Lancel S, Marechal X, Mordon S, Depontieu F, Scherpereel A, et al. Calpain inhibitors improve myocardial dysfunction and inflammation induced by endotoxin in rats. *Shock Augusta Ga.* avr 2004;21(4):352-357.
456. Gao CQ, Sawicki G, Suarez-Pinzon WL, Csont T, Wozniak M, Ferdinandy P, et al. Matrix metalloproteinase-2 mediates cytokine-induced myocardial contractile dysfunction. *Cardiovasc Res.* févr 2003;57(2):426-433.
457. Madonna R, Jiang J, Geng Y-J. Attenuated expression of gelsolin in association with induction of aquaporin-1 and nitric oxide synthase in dysfunctional hearts of aging mice exposed to endotoxin. *Int J Immunopathol Pharmacol.* déc 2012;25(4):911-922.
458. Wang X, Zingarelli B, O'Connor M, Zhang P, Adeyemo A, Kranias EG, et al. Overexpression of Hsp20 prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction and apoptosis via inhibition of NF-kappaB activation. *J Mol Cell Cardiol.* sept 2009;47(3):382-390.
459. You W, Min X, Zhang X, Qian B, Pang S, Ding Z, et al. Cardiac-specific expression of heat shock protein 27 attenuated endotoxin-induced cardiac dysfunction and mortality in mice through a PI3K/Akt-dependent mechanism. *Shock Augusta Ga.* juill 2009;32(1):108-117.
460. Rabuel C, Samuel J-L, Lortat-Jacob B, Marotte F, Lanone S, Keyser C, et al. Activation of the ubiquitin proteolytic pathway in human septic heart and diaphragm. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol.* juin 2010;19(3):158-164.
461. Celes MRN, Malvestio LM, Suadicaní SO, Prado CM, Figueiredo MJ, Campos EC, et al. Disruption of calcium homeostasis in cardiomyocytes underlies cardiac structural and functional changes in severe sepsis. *PloS One.* 2013;8(7):e68809.
462. Takasu O, Gaut JP, Watanabe E, To K, Fagley RE, Sato B, et al. Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 mars 2013;187(5):509-517.

463. Celes MRN, Torres-Dueñas D, Alves-Filho JC, Duarte DB, Cunha FQ, Rossi MA. Reduction of gap and adherens junction proteins and intercalated disc structural remodeling in the hearts of mice submitted to severe cecal ligation and puncture sepsis. *Crit Care Med.* sept 2007;35(9):2176-2185.
464. Spray DC, Tanowitz HB. Pathology of mechanical and gap junctional co-coupling at the intercalated disc: Is sepsis a junctionopathy? *Crit Care Med.* sept 2007;35(9):2231-2232.
465. Celes MRN, Torres-Dueñas D, Malvestio LM, Blefari V, Campos EC, Ramos SG, et al. Disruption of sarcolemmal dystrophin and beta-dystroglycan may be a potential mechanism for myocardial dysfunction in severe sepsis. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* avr 2010;90(4):531-542.
466. Celes MRN, Torres-Dueñas D, Prado CM, Campos EC, Moreira JE, Cunha FQ, et al. Increased sarcolemmal permeability as an early event in experimental septic cardiomyopathy: a potential role for oxidative damage to lipids and proteins. *Shock Augusta Ga.* mars 2010;33(3):322-331.
467. Rudiger A, Dyson A, Felsmann K, Carré JE, Taylor V, Hughes S, et al. Early functional and transcriptomic changes in the myocardium predict outcome in a long-term rat model of sepsis. *Clin Sci Lond Engl 1979.* mars 2013;124(6):391-401.
468. Cinel I, Ark M, Dellinger P, Karabacak T, Tamer L, Cinel L, et al. Involvement of Rho kinase (ROCK) in sepsis-induced acute lung injury. *J Thorac Dis.* févr 2012;4(1):30-39.
469. Ng DCH, Ng IHW, Yeap YYC, Badrian B, Tsoutsman T, McMullen JR, et al. Opposing actions of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in regulating microtubule stabilization during cardiac hypertrophy. *J Biol Chem.* 14 janv 2011;286(2):1576-1587.
470. Garner LB, Willis MS, Carlson DL, DiMaio JM, White MD, White DJ, et al. Macrophage migration inhibitory factor is a cardiac-derived myocardial depressant factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* déc 2003;285(6):H2500-2509.
471. Zak R. Cell proliferation during cardiac growth. *Am J Cardiol.* févr 1973;31(2):211-219.
472. Aquila-Pastir LA, DiPaola NR, Matteo RG, Smedira NG, McCarthy PM, Moravec CS. Quantitation and distribution of beta-tubulin in human cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* nov 2002;34(11):1513-1523.
473. Wagner O, Zinke J, Dancker P, Grill W, Bereiter-Hahn J. Viscoelastic properties of f-actin, microtubules, f-actin/alpha-actinin, and f-actin/hexokinase determined in microliter volumes with a novel nondestructive method. *Biophys J.* mai 1999;76(5):2784-2796.
474. Tagawa H, Rozich JD, Tsutsui H, Narishige T, Kuppuswamy D, Sato H, et al. Basis for increased microtubules in pressure-hypertrophied cardiocytes. *Circulation.* 15 mars 1996;93(6):1230-1243.
475. Chagnon F, Metz CN, Bucala R, Lesur O. Endotoxin-induced myocardial dysfunction: effects of macrophage migration inhibitory factor neutralization. *Circ Res.* 27 mai 2005;96(10):1095-1102.
476. Sheldon KL, Maldonado EN, Lemasters JJ, Rostovtseva TK, Bezrukov SM. Phosphorylation of voltage-dependent anion channel by serine/threonine kinases governs its interaction with tubulin. *PloS One.* 2011;6(10):e25539.
477. Rostovtseva TK, Bezrukov SM. VDAC inhibition by tubulin and its physiological implications. *Biochim Biophys Acta.* juin 2012;1818(6):1526-1535.

478. Marshall JC, Deitch E, Moldawer LL, Opal S, Redl H, van der Poll T. Preclinical models of shock and sepsis: what can they tell us? *Shock* Augusta Ga. déc 2005;24 Suppl 1:1-6.
479. Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, Pugin J, Metz CN, Hültner L, et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med*. févr 2000;6(2):164-170.
480. Brenner T, Rosenhagen C, Steppan J, Lichtenstern C, Weitz J, Bruckner T, et al. Redox responses in patients with sepsis: high correlation of thioredoxin-1 and macrophage migration inhibitory factor plasma levels. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:985614.
481. Remick DG, Ward PA. Evaluation of endotoxin models for the study of sepsis. *Shock* Augusta Ga. déc 2005;24 Suppl 1:7-11.
482. Deitch EA. Rodent models of intra-abdominal infection. *Shock* Augusta Ga. déc 2005;24 Suppl 1:19-23.
483. Maekawa M, Ishizaki T, Boku S, Watanabe N, Fujita A, Iwamatsu A, et al. Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase. *Science*. 6 août 1999;285(5429):895-898.
484. Ohashi K, Nagata K, Maekawa M, Ishizaki T, Narumiya S, Mizuno K. Rho-associated kinase ROCK activates LIM-kinase 1 by phosphorylation at threonine 508 within the activation loop. *J Biol Chem*. 4 févr 2000;275(5):3577-3582.
485. Sumi T, Matsumoto K, Nakamura T. Specific activation of LIM kinase 2 via phosphorylation of threonine 505 by ROCK, a Rho-dependent protein kinase. *J Biol Chem*. 5 janv 2001;276(1):670-676.
486. Jacot JG, McCulloch AD, Omens JH. Substrate stiffness affects the functional maturation of neonatal rat ventricular myocytes. *Biophys J*. oct 2008;95(7):3479-3487.
487. Vlasblom R, Muller A, Beckers CML, van Nieuw Amerongen GP, Zuidwijk MJ, van Hardeveld C, et al. RhoA-ROCK signaling is involved in contraction-mediated inhibition of SERCA2a expression in cardiomyocytes. *Pflügers Arch Eur J Physiol*. août 2009;458(4):785-793.