

**UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE MEDECINE**

LE SYNDROME DU QT LONG ACQUIS

THESE DE DOCTORAT

Ecole Doctorale CHIMIE BIOLOGIE

Discipline: SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Spécialité: MEDECINE

*Présentée
et soutenue publiquement par*

LANDE Gilles

Le 14 juin 2007, devant le jury ci-dessous

Président FUNCK-BRENTANO Christian, PUPH, Saint-Antoine, Paris

**Rapporteurs BABUTY Dominique, PUPH, CHU de Tours
DRICI Milou-Daniel, PUPH, CHU de Nice**

Examineurs

**CHARPENTIER Flavien, CR1 Inserm, L'institut du thorax, Nantes
FUNCK-BRENTANO Christian, PUPH, Saint-Antoine, Paris**

Directeur de thèse:

LE MAREC Hervé, PUPH, L'institut du thorax, CHU de Nantes

INTRODUCTION	1
I. L'HISTOIRE DE LA TERFENADINE	2
II. LA REPOLARISATION VENTRICULAIRE	10
A. Bases électrophysiologiques	11
1. Potentiel d'action cardiaque	11
2. Hétérogénéité des potentiels d'action	13
B. Courants ioniques	16
1. Sodique	16
2. Calcique	18
3. Potassique retardé rectifiant	19
4. Variations d'expression dans le temps et dans l'espace	19
5. Autres courants potassiques	20
6. Autres courants	20
C. Intervalle QT	21
1. Historique	21
2. Bases théoriques de l'enregistrement ECG	22
3. Technique de mesure	25
4. Participation des gradients transmural et apico-basal	26
5. La dispersion de la repolarisation sur l'ECG standard	28
D. Régulation non médicamenteuse	29
1. Cycle cardiaque	29
2. Système nerveux autonome	33
3. La durée de l'intervalle QT	39
4. Sexe	39
5. Âge	43
6. Troubles ioniques	44
7. Situations pathologiques	44
E. Activité déclenchée et torsades de pointes	47
1. Anomalies de la genèse de l'influx	48
2. Anomalies de la propagation de l'influx: la réentrée	53
3. Physiopathologie des torsades de pointes	60
F. Onde U	71
1. Caractéristiques de l'onde U normale	72
2. Onde U pathologique	72
3. Hypothèses sur l'origine de l'onde U	72
4. Conclusion	79
III. LE SYNDROME DU QT LONG CONGENITAL	79
A. Données historiques	79
B. Génétique	80
1. KCNQ1 et KCNE1 (LQT1 et LQT5)	81
2. KCNH2 (LQT2)	82
3. SCN5A (LQT3)	83
4. Ankyrine-B (LQT4)	83
5. KCNJ2 (LQT7)	84
C. Clinique	84
1. Syncopes et mort subite	85
2. Electrocardiogramme	86
D. Diagnostic	89
1. Diagnostic clinique	89
2. Diagnostic moléculaire	89
3. Tests complémentaires	90
4. Lien avec d'autres entités cliniques	91
E. Traitement	93
IV. LE SYNDROME DU QT LONG ACQUIS	94
A. Épidémiologie	94
B. Régulation médicamenteuse	95
C. Particularités cliniques	96
D. Dépistage des bloqueurs de HERG	97
1. Le dépistage pré-clinique	97
2. Dépistage clinique	103
3. Stratégie	105
4. Corrélation entre les données cliniques humaines et les données pré-cliniques	109
E. Prédisposition génétique	116

RESULTATS	119
I. LA RECHERCHE D'UN SUBSTRAT AU SYNDROME DU QT LONG ACQUIS	120
1. Article 1	121
2. Article 2	133
3. Article 3	148
4. Article 4	151
5. Article 5	155
II. L'EFFET DES MEDICAMENTS SUR LA REPOLARISATION VENTRICULAIRE.....	159
1. Article 6	160
2. Article 7	167
3. Article 8	178
III. LE DEPISTAGE <i>IN VIVO</i> DES MEDICAMENTS ARYTHMOGENES	184
1. Article 9	185
2. Article 10	194
CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	223
ANNEXE.....	227
A. <i>Liste de Ray Woosley</i>	228
B. <i>Liste de Robert Fenichel</i>	234
C. <i>Rappels d'électrophysiologie</i>	249
1. Propriétés électriques des membranes biologiques.....	249
2. Origine du potentiel de membrane	250
3. Propagation de l'influx	252
4. Mécanisme de pénétration des ions	254
D. <i>Structure moléculaire des canaux ioniques</i>	255
1. Sodique et Calcique.....	256
2. Potassique.....	257
E. <i>Système nerveux autonome</i>	260
1. Rappel anatomique	260
2. Rappel physiologique.....	264
REFERENCES.....	266

INTRODUCTION

I. L'HISTOIRE DE LA TERFENADINE

La terfénadine est présente dans la 65^{ème} édition du dictionnaire Vidal[®] datée de 1989 (35) sous l'appellation Teldane[®]. Il apparaît que le produit est commercialisé sous 2 formes: des comprimés sécables (à 60 mg ou 120 mg), et une suspension buvable (à 7,5 mg ou 30 mg par cuillère à mesure). Ce médicament peut être prescrit autant chez l'adulte que chez le nourrisson, à une posologie de 2 mg/kg, soit 2 comprimés à 60 mg pour un adulte de poids moyen. Il s'agit d'un "antihistaminique sélectif agissant sur les récepteurs H1 périphériques, dénué d'effets secondaires sédatifs et atropiniques aux doses thérapeutiques", toujours selon le même dictionnaire (35). Les indications sont principalement d'ordre antiallergique, au premier rang desquelles la rhinite, mais aussi la conjonctivite ou l'urticaire, voire le prurit non allergique. La boîte de 14 comprimés à 60 mg coûte 26,5 FF (≈ 4 €), correspondant à une semaine de traitement pour un adulte, soit un peu moins de 4 FF ($\approx 0,6$ €) la journée de traitement. Le produit, mis sur le marché en France en 1984, est remboursé à 65% par la Sécurité Sociale. À la lecture du Vidal de 1989, la terfénadine apparaît comme un produit à finalité strictement fonctionnelle (rhinorrhée ou prurit). La terfénadine est un médicament de confort.

En 1997, soit 14 ans après sa commercialisation en France, la terfénadine est retirée du marché du fait de son implication dans la survenue de graves troubles du rythme ventriculaire appelés torsade de pointes. Ces effets secondaires majeurs s'intègrent dans ce qui est dénommé le syndrome du QT long acquis.

Pourquoi a-t-il fallu 14 ans pour retirer du marché un produit du fait de sa dangerosité? Comment un médicament dévolu au traitement d'affections bénignes a-t-il pu être développé sans que l'on reconnaisse certains effets secondaires majeurs? Existe-t-il d'autres substances dangereuses? Quels sont les patients à risque?



Figure 1. *Cinchona succiruba* portée par l'arbre "kinakina", et dont est extraite la quinine (9).

Le syndrome du QT long a tout d'abord été décrit dans sa forme congénitale. La forme familiale de loin la plus répandue est le syndrome de Romano-Ward décrit en 1963 (36, 37). Ce syndrome, de transmission autosomique dominante, associe un allongement de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme, et la survenue de syncopes, voire de morts subites, en rapport avec des troubles du rythme ventriculaire. Ces troubles du rythme ont été estampillés en 1966

par Dessertenne sous la terminologie "torsade de pointes", du fait de l'aspect bien particulier d'enroulement des ventriculogrammes autour de la ligne isoélectrique (3). En opposition avec la forme congénitale, le syndrome du QT long acquis est (était?) considéré comme une forme éphémère de la maladie, survenant secondairement à un événement passager, le plus souvent une prise médicamenteuse, et disparaissant avec lui. La forme acquise du syndrome du QT long a été initialement associée à la prise de quinidine, alcaloïde extrait de l'écorce de *chincona*, dont les vertus antiarythmiques étaient connues depuis le XVIII^{ème} siècle (9) (**Figure 1**). Des syncopes survenant peu de temps après l'instauration d'un traitement quinidinique avaient été mentionnées dans la littérature dès 1920 (38), soit 2 ans après la mise sur le marché de la quinidine. Ces syncopes, voire ces morts subites, avaient alors été attribuées à des embolies pulmonaires. En effet, les patients étaient alors traités par la quinidine du fait d'épisodes de fibrillation auriculaire paroxystique (7) survenant dans le contexte de cardiopathies rhumatismales avec dilatation auriculaire (**Figure 2**), circonstances connues pour favoriser ce type d'accidents emboliques. Le rattachement de la prise de quinidiniques à la survenue de troubles du rythme ventriculaire date de 1964. Seltzer et Wray rapportent des épisodes de syncopes, contemporains d'enregistrements de "tachycardies ventriculaires polymorphes" non soutenues (39). Pendant les années qui ont suivi, les antiarythmiques, principalement développés pour traiter les accès de fibrillation auriculaire paroxystique, ont fourni l'essentiel des publications de torsade de pointes et de QT long acquis (40-42). Ainsi, dans les années 80, le syndrome du QT long acquis, et plus largement, le concept d'effet proarythmique, allait de pair avec la prescription de médicaments antiarythmiques (43). C'est pourquoi le développement par les compagnies pharmaceutiques de produits sans orientation antiarythmique, *a fortiori* à visée non cardiaque, se fait sans attacher d'importance particulière à la repolarisation ventriculaire...



Figure 2. Première page de l'article de Walter Frey (1918) démontrant que la quinidine, un isomère de la quinine, est le plus efficace des dérivés de la quinine dans le traitement de la fibrillation auriculaire (7).

Dans le cas des antihistaminiques, ce sentiment de sécurité est encore renforcé par l'absence de publication d'effet secondaire majeur, alors que leur utilisation à visée antiallergique date de plusieurs dizaines d'années (début des années 50) (44). Ces produits sont extrêmement diffusés de par le monde. Du fait de leur très bonne tolérance globale, certaines de ces substances peuvent être obtenues sans prescription médicale (prométhazine, Phénergan[®]), et sont parfois incorporées dans des spécialités prescrites à simple visée sédatrice (prométhazine et aubépine, Insomnyl[®]). Ce sont d'ailleurs les propriétés sédatives et anticholinergiques (sécheresse de la bouche, troubles de l'accommodation, voire glaucome et

rétenction urinaire) de ces antihistaminiques, dits de "première génération", qui limitent leur usage dans les indications antiallergiques, de loin les plus fréquentes. C'est ainsi que les compagnies pharmaceutiques ont été incitées à développer des produits dits de "deuxième génération", dépourvus de ces effets secondaires, et donc encore plus faciles à promouvoir.

Rétrospectivement, le sentiment de quiétude qui entoure le développement, puis la diffusion des antihistaminiques de "deuxième génération" aurait pu être reconsidéré par certains faits troublants. Tout d'abord, de nombreux antihistaminiques sont des analogues structuraux de la phényléthylamine qui représente "la pierre angulaire" du développement de nombreux médicaments agissant sur les tissus nerveux et cardiaques (45). Certains antihistaminiques ont été proposés très tôt, dès les années 50, comme anesthésiques locaux en cas d'allergie à la lidocaïne. Des études électrophysiologiques démontrant des propriétés "quinidine-like" ont ainsi été publiées témoignant de l'effet des antihistaminiques sur les courants ioniques cardiaques (46). Il aurait alors semblé logique et souhaitable de s'intéresser de plus près aux effets cardiaques de ces molécules *in vivo*, en particulier chez l'homme. Cela aurait été d'autant plus souhaitable que, dès les années 60, l'hydroxyzine (Atarax[®]) fait l'objet d'études chez l'animal montrant que la molécule possède des propriétés antifibrillatoires "quinidine-like" et allonge la période réfractaire myocardique (47, 48). Plusieurs essais cliniques non randomisés sont publiés chez l'homme plaçant pour l'activité antiarythmique de l'hydroxyzine dans divers troubles du rythme chez l'homme (49, 50). À l'inverse, une publication datée de 1964 (50) implique l'hydroxyzine (Atarax[®]) dans la survenue d'effets proarythmiques. Des modifications de l'onde T ont également été signalées dès 1975 avec cette même molécule (51). Enfin, dès 1964 Desautels et coll. publient un cas de tachycardie ventriculaire avec QT long acquis, responsable de syncope, et provoqué par la prescription de thioridazine, un neuroleptique de la classe des phénothiazines (52). Dans les années 70, plusieurs publications font état de torsade de pointes induites par des médicaments à visée extracardiaque comme la succinylcholine (curare) (53, 54), le fénofibrate et la vincamine (vasodilatateurs cérébraux) (55, 56). Les publications se multiplieront dans les années 80, incriminant en particulier les neuroleptiques et des antidépresseurs tricycliques (57-60). L'astémizole (Hismanal[®]) est le premier antihistaminique impliqué dans la survenue de torsade de pointes (61-63). Le temps imparti au développement d'une nouvelle molécule, entre la conception de sa structure et la mise sur le marché, est de l'ordre de 10 ans. Les premiers antihistaminiques dits de "deuxième génération" (l'astémizole et la terfénadine) sont arrivés sur le marché au début des années 80. On peut estimer que leur développement, démarré au début des années 70, s'est fait dans un "ciel globalement serein", mais leurs arrivées sur le marché sont survenues alors que l'horizon s'était nettement assombri, sur le plan rythmologique, ce dont, à l'époque, personne ne semble s'être véritablement soucié.

La compagnie Marion Merrell Dow (Kansas city, Mo, USA) commercialise ainsi la terfénadine au début des années 80 en présentant le médicament comme le premier antihistaminique non sédatif. Cette molécule devient rapidement un produit phare du groupe. Dans certains pays comme le Canada ou la Grande-Bretagne, le médicament est disponible sans prescription, ce qui n'est pas le cas aux Etats-Unis ou en France. Aux Etats-Unis, la terfénadine occupe le 9^{ème} rang du classement des prescriptions globales en 1991 (64) avec plus de 17 millions de prescriptions ou de renouvellements annuels, et représente 60% des prescriptions des antihistaminiques. À la même époque, soit 6 ans avant le retrait du marché, la compagnie reconnaît plus de 100 millions de prescriptions à travers le monde (65).

La terfénadine présente deux spécificités pharmacocinétiques. La première est l'existence d'un effet de premier passage hépatique important. La terfénadine, qui est une forme "inactive" (pro-médicament), est métabolisée de manière quasi exclusive par l'isoenzyme CYP3A4 du cytochrome P450 en une forme carboxylée et active (66) (**Figure 3**). La biotransformation est telle, qu'il n'est habituellement pas retrouvé de pro-médicament au

niveau plasmatique chez les patients traités. La deuxième spécificité est l'existence d'une fixation cardiaque très importante de la terfénadine mise en évidence sur le cœur de cobaye *ex vivo* (67).

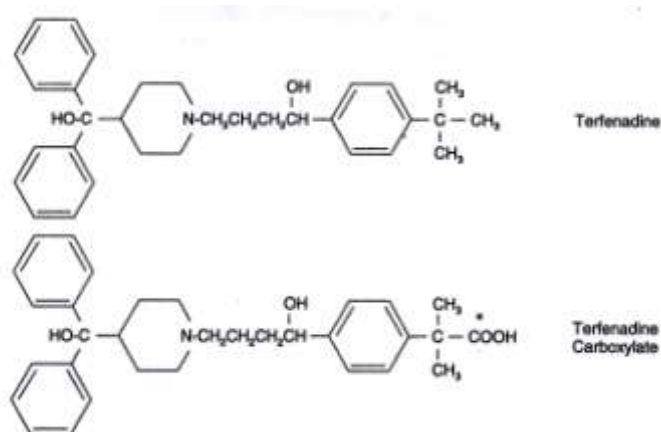


Figure 3. Structure chimique de la terfénadine et de son métabolite principal, le carboxylate de terfénadine (27).

C'est en 1989 qu'une lettre publiée dans le British Medical Journal fait état du premier cas de toxicité cardiaque secondaire à une intoxication volontaire par la terfénadine (68). Le tableau clinique associe l'absorption de 3,36 g de terfénadine, des épisodes de convulsions, des irrégularités du rythme cardiaque, et un allongement important de l'intervalle QTc à 570 ms. Mais les auteurs rapportent aussi 12 autres cas d'intoxication sans toxicité cardiaque apparente. Ils signalent enfin que 773 cas d'effets secondaires à l'absorption de terfénadine ont été rapportés au "Committee on Safety of Medicines". Parmi ces observations sont notés 2 cas d'arythmies, 1 cas d'arrêt cardiaque, 3 cas de convulsions... Ils concluent que les effets toxiques cardiaques pourraient être sous-estimés du fait du manque de données électrocardiographiques. Un autre cas de cardiotoxicité induite par la terfénadine chez un patient recevant une posologie normale mais en association avec du kétoconazole, un antimycotique connu pour bloquer le cytochrome P450 (23), est publié peu de temps après. Cette observation, parfaitement documentée, démontre également la responsabilité des torsades de pointes dans la survenue de ces syncopes. Dans ces 2 cas, un taux élevé de terfénadine peut être retrouvé dans le plasma témoignant de l'intoxication liée au médicament.

Une enquête est alors commanditée en juin 1990 par la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis (69) Il s'agit d'une enquête rétrospective effectuée à partir de données de pharmacovigilance (Spontaneous Reporting System) visant à étudier la cardiotoxicité de la terfénadine. Plusieurs facteurs de risque sont individualisés aboutissant à une élévation anormale du taux plasmatique de terfénadine, par le biais d'une diminution ou d'un blocage de la voie métabolique du cytochrome P450. Une lettre intitulée "Dear Doctor" est adressée par la compagnie Marion Merrell Dow aux médecins en Août 1990 (70) Elle informe des cas de trouble du rythme ventriculaire et des possibilités de mort subite. Elle met en garde contre la prescription de terfénadine en présence d'une insuffisance hépatique ou de médicaments bloquant le cytochrome P450, tels que le kétoconazole et les macrolides (érythromycine, troléandomycine,...). Une mise en garde est insérée dans la notice d'emploi de la terfénadine dès 1990, puis dans celle de tous les produits comportant de la terfénadine dès 1992 (71).

Il devient ainsi admis pour la première fois en 1990 qu'un médicament de confort à visée non cardiaque, la terfénadine, puisse induire des morts subites dans le cadre du syndrome du QT long acquis.

Peu de choses sont cependant établies au début des années 90 sur la physiopathologie du syndrome du QT long, acquis ou congénital. Certains facteurs sont connus comme pouvant favoriser la survenue d'accès de torsade de pointes comme le stress, l'hypokaliémie, la bradycardie (72)... Les progrès de la génétique, et en particulier de la génétique inverse, donnèrent lieu à des développements considérables. La première publication retrouvant une liaison entre le syndrome du QT long et le chromosome 11 date de 1991. L'identification des 3 gènes représentant la majorité des cas cliniques connus a eu lieu entre 1995 et 1997 (73-75), démontrant par là même l'hétérogénéité génotypique du syndrome. Deux de ces gènes codent pour des protéines portant les deux courants repolarisants les plus importants chez l'homme: KCNQ1 porté par le chromosome 11 codant pour KvLQT1, et KCNH2 porté par le chromosome 7 codant pour HERG. Ces deux courants, respectivement I_{Ks} et I_{Kr} , représentent les composantes lente ("slow") et rapide ("rapid") du courant potassique retardé à rectification entrante (I_K). La diminution de l'intensité d'un de ces deux courants entraîne un retard dans la repolarisation des cellules myocardiques, et donc un allongement de l'intervalle QT. Ils correspondent respectivement au syndrome du QT long de type 1 (LQT1) et de type 2 (LQT2). Les années 90 ont également vu l'éclosion d'un certain nombre de médicaments antiarythmiques, considérés au vu des études en "patch-clamp" comme des bloqueurs "purs" du courant potassique I_{Kr} , comme le d-sotalol (76-79). Ces substances avaient été développées par l'industrie pharmaceutique à la suite des déboires provoqués par l'étude CAST (80, 81), étude qui retrouvait une surmortalité chez des patients atteints de cardiopathie ischémique et traités par des antiarythmiques bloquant le courant sodique. L'idée promotrice était le caractère supposé antiarythmique de l'allongement de l'intervalle QT (et de la période réfractaire des cellules myocardiques) induit par le blocage du courant potassique. Mais ces "nouveaux" antiarythmiques montreront eux aussi un effet proarythmique sous la forme de torsade de pointes, et pour certains, d'une surmortalité dans les essais cliniques (82). Ainsi, que l'on se base sur les données de la génétique ou sur le résultat des essais cliniques impliquant des bloqueurs potassiques, on peut conclure que la diminution du courant potassique I_{Kr} provoque un allongement plus arythmogène qu'antiarythmique de la repolarisation ventriculaire (83). En 1993, Woosley et coll. montrent que la terfénadine n'échappe pas à cette règle et bloque, elle aussi, le courant potassique I_K , à l'inverse de son principal métabolite, la fexofénadine (27). Peu de temps après, le lien entre le syndrome du QT long acquis et le blocage de HERG, composant majeur de I_{Kr} , est établi par Trudeau et coll. (84) En 1996, le blocage de HERG par la terfénadine est démontré par patch-clamp sur des oocytes de xénope transfectées (28).

Le retrait du marché de la terfénadine dans la majorité des pays occidentaux, mais aussi de l'astémizole, survient en 1997, soit plusieurs années après que son implication dans la survenue de morts subites ait été mise en évidence. Il est possible que la longueur de ce délai s'explique par la nécessité d'instruire au mieux le dossier scientifique de la molécule, par la nouveauté de la situation clinique, et peut-être aussi par une relative inertie des structures décisionnaires. La terfénadine a été reconnue responsable de 429 cas de troubles du rythme, et de 98 cas de morts cardiaques et de morts subites sur une durée de 10 ans (18) (**Figure 4**). On ne peut s'empêcher de penser que des considérations économiques aient pu faire coïncider le retrait de la terfénadine et la mise sur le marché par la même compagnie pharmaceutique de la fexofénadine (Allegra[®]), métabolite actif principal de la terfénadine, et sans effet démontré sur les courants potassiques cardiaques.

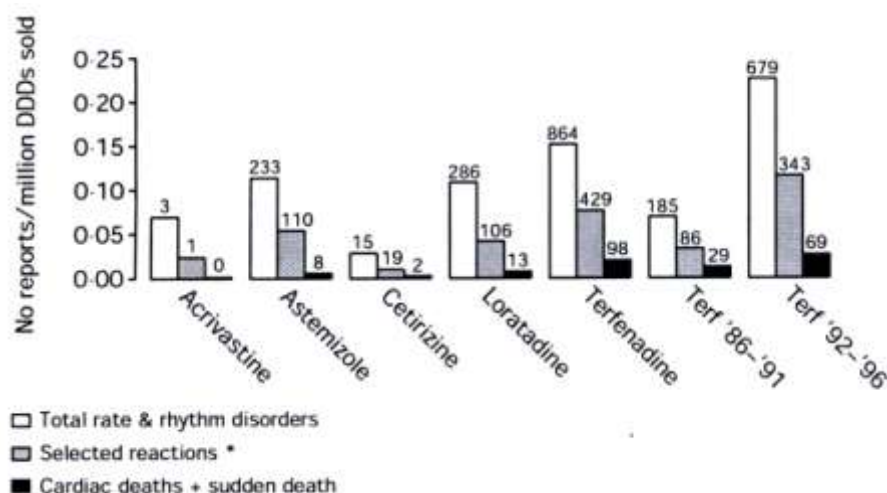


Figure 4. Pourcentage d'effets secondaires par millions de doses vendues induits par différents antihistaminiques entre 1986 et 1996 (18). "Selected reactions" correspondent aux tachycardies ventriculaires et supraventriculaires, arrêts cardiaques, fibrillations ventriculaires, allongement de QT, torsades de pointes. Les numéros au dessus des barres correspondent au nombre d'effets secondaires rapportés.

Si l'histoire de la terféénadine est exemplaire du fait de son caractère précurseur et de ses implications socio-économiques, elle est aussi loin d'être isolée. Le nombre des molécules impliquées dans le syndrome du QT long acquis s'est rapidement et considérablement accru. Lorsque l'on consulte le site Web de Ray Woosley (<http://www.arizonacert.org/medical-pros/drug-lists/printable-drug-list.cfm>), on dénombre aujourd'hui plus de 120 molécules, ayant montré une responsabilité dans l'allongement de l'intervalle QT ou la survenue de torsade de pointes (voir la liste en annexe). La responsabilité de ces molécules est classée par ordre décroissant, de la liste 1 (molécules considérée par les autorités comme présentant un risque de causer des torsades de pointes), à la liste 4 (molécules dont le risque de donner un allongement de QT ou des torsades de pointes est improbable, en l'absence de facteurs de risque associé). La majorité de ces molécules est à visée non cardiaque. C'est bien cette dernière caractéristique qui a catapulté le syndrome du QT long acquis en une dizaine d'années d'un statut relativement confidentiel lié à l'usage de certains antiarythmiques, à un véritable problème de santé publique (85, 86). Une grande partie des molécules potentiellement impliquées dans ce syndrome sont en effet des produits d'usage courant. Outre les antihistaminiques qui garnissent les pharmacies de bon nombre de foyers, on retrouve des produits prescrits dans des syndromes dépressifs (amitriptyline, chef de file des antidépresseurs tricycliques), dans des états d'agitation (halopéridol, neuroleptique), dans des états infectieux (érythromycine, macrolide; halofantrine, antipaludéen) ou encore dans le cadre du reflux gastro-œsophagien du nourrisson (cisapride). Ces molécules comportent une caractéristique électrophysiologique commune: elles ont toutes la capacité de bloquer en partie le courant repolarisant I_{Kr} comme cela est répertorié dans le site web de Robert Fenichel (<http://www.fenichel.net>, voir en annexe) (87).

La multiplicité des molécules impliquées dans le syndrome du QT long acquis ne doit pas masquer l'hétérogénéité proarythmique au sein de chaque classe (18), même si cette notion reste l'objet de controverses (88-90). Dans l'enquête épidémiologique effectuée en 1999 à partir de données de pharmacovigilance anglaises (91), l'augmentation du risque relatif moyen de développer des troubles du rythme ventriculaire est égal à 19 pour l'astémizole, à 8 pour la cétirizine et à 2 "seulement" pour la terféénadine. Une large étude épidémiologique (WHO ADR database) (18) a pris en compte 9976 fiches de pharmacovigilance émises au sein de 17 pays entre 1986 et 1996 concernant 5 antihistaminiques dont la terféénadine. Il en ressort que

les effets proarythmiques sont rares pour toutes les substances, bien que sous-estimés (92), et se répartissent sur une échelle allant de 0,02 à 0,1 par million de dose quotidienne selon les molécules.

C'est dans ce contexte que les instances Européennes ont publié en 1997 un document rédigé par le CPMP (Committee for Proprietary Medicinal Products, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) et intitulé: "Points to consider: The assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products". (93). Ce document était un signal fort adressé à l'industrie pharmaceutique pour les inciter à développer une stratégie de dépistage pré-clinique des substances à visée non cardiaque, mais pouvant induire chez l'homme un syndrome du QT long acquis. Les recommandations du CPMP concernent le dépistage pré-clinique et les études cliniques (30). Le dépistage pré-clinique peut être effectué tant *in vitro* que *in vivo*. Les études effectuées *in vitro* se répartissent en 2 grandes catégories. La première concerne la mesure du potentiel d'action myocardique, donc l'étude de la repolarisation à l'échelle de la cellule. L'objectif est de dépister un allongement de la durée du potentiel d'action à différentes fréquences de stimulation, voire de retrouver la présence de post-dépolarisations, considérées comme des éléments initiateurs des torsades de pointes. La deuxième concerne la mesure des courants ioniques des cellules myocardiques, donc l'étude de la repolarisation à l'échelle canalaire. Compte tenu du lien entre le blocage de I_{Kr} et le syndrome du QT long acquis, le dépistage est principalement réalisé sur la base de modèles de réexpression de HERG dans des cellules de mammifères. On peut alors mesurer l'affinité de la molécule pour HERG. Les études effectuées *in vivo* sur l'animal, mais aussi sur l'homme, ont l'intérêt de prendre en compte dans une même expérience la molécule mère et ses métabolites actifs. Ils donnent une approche globale et physiologique de la repolarisation à l'échelle de l'organe. Différentes espèces d'animaux, anesthésiés ou non, sont disponibles pour l'expérimentation. L'objectif est d'évaluer la capacité d'une substance donnée à prolonger l'intervalle QT, et dans certains cas à induire la survenue de torsades de pointes. Les études cliniques dites en phase I et II sont effectuées principalement sur des sujets volontaires sains. Elles ont pour but tester l'effet de la molécule sur la repolarisation ventriculaire, l'intervalle QT, en utilisant éventuellement des posologies supra-thérapeutiques. L'efficacité de la molécule est testée dans des études dites de phase III. La phase IV concerne la surveillance clinique, et donc la pharmacovigilance après la mise sur le marché. La stratégie d'ensemble ainsi que l'intégration des résultats des études *in vitro* et *in vivo* avant d'autoriser la mise sur le marché du médicament reste cependant débattue. Les difficultés principales sont liées à la rareté du syndrome du QT long acquis, ainsi qu'à l'absence de valeurs de référence tant *in vitro* que *in vivo* permettant de caractériser les produits dangereux par rapport à ceux qui ne le sont pas. Enfin le caractère novateur d'une molécule et son impact potentiel en clinique humaine sont des éléments décisionnels importants.

L'histoire de la terfénadine a permis de pointer du doigt une autre composante du syndrome du QT long acquis: l'existence d'un terrain favorisant. Dès 1991, MacConnel et Stanners publient la première observation de torsade de pointes induite par la terfénadine (360 mg/j) en présence d'un taux plasmatique indécélable de terfénadine, donc en l'absence d'intoxication (94). De même, si la majorité des 25 cas de torsades de pointes rapportés par Woosley en 1993 (27) sont liés à une co-administration d'inhibiteurs du CYP3A4, aucun facteur favorisant n'est retrouvé dans 3 cas. L'élargissement du nombre de molécules impliquées et du nombre de cas décrits, fera apparaître que les premières descriptions de torsades de pointes induites par la terfénadine et clairement expliquées par une intoxication médicamenteuse, représentaient "la partie immergée de l'iceberg". Plusieurs essais thérapeutiques réalisés avec des médicaments bloqueurs, spécifiques ou non, de HERG sont accompagnés d'une incidence de troubles du rythme oscillant entre 2% et 6% (95-98). Au-

delà de certains facteurs favorisant la survenue de troubles du rythme, l'expérience clinique laisse supposer qu'il existe bien un (ou des) facteur(s) individuel(s) sensibilisant un sujet à la cardiotoxicité des bloqueurs de HERG (99, 100). Ce sont là encore les progrès de la génétique qui ont permis de décrire en 1997 une forme "fruste" du syndrome du QT long (101). Les patients porteurs d'une mutation dans la séquence codant pour l'extrémité C-terminale de KvLQT1 ont un intervalle QT normal ou légèrement allongé. Dans la majorité des cas, les syncopes, voire la mort subite, surviennent après la prise de médicaments bloqueurs de HERG (terfénadine, mais aussi disopyramide et méflaquine). Les "porteurs sains" du syndrome du QT long constituent donc une cible parfaite des bloqueurs de HERG du fait de la difficulté diagnostique du syndrome (absence d'anomalie révélatrice sur l'ECG), et de la persistance d'une sensibilité cardiaque anormale aux bloqueurs de HERG. La prévalence des sujets "porteurs sains" du syndrome du QT long est inconnue. Une publication récente a cependant montré que la pénétrance du syndrome du QT long de type 1 ou 2 pouvait être aussi faible que 30%. En d'autre terme, 70% des sujets de cette étude étaient porteurs sains (102). Donc, si le syndrome du QT long "patent" est une maladie rare, la prévalence dans la population de sujets à risque de développer un syndrome du QT long, par exemple induit par un médicament ("porteurs sains"), pourrait représenter une part "représentative" en terme de santé publique.

Loin du syndrome "idiosyncrasique" des quinidiniques (99), le visage du syndrome du QT long acquis a beaucoup évolué en une trentaine d'années. Il apparaît comme la rencontre d'un effecteur, un médicament bloquant HERG, et d'un terrain, un trait génétique favorisant. La prévention du syndrome du QT long acquis est donc principalement bidirectionnelle. Le dépistage à un stade pré-clinique des molécules potentiellement arythmogènes constitue une étape indispensable, mais la valeur prédictive de ses différents constituants par rapport aux données cliniques reste mal définie. Le dépistage des sujets à risque représente la contrepartie clinique indissociable du dépistage des molécules dangereuses.

Des progrès considérables restent à faire dans les deux domaines. Le cas du mibéfradil est, à ce titre, parfaitement exemplaire. Ce médicament inhibiteur calcique est mis sur le marché en Suisse par la Société Roche en 1996 à titre d'antiangineux et d'antihypertenseur. Deux ans plus tard, en 1998, le mibéfradil est retiré du marché (103) du fait de la surmortalité observée en co-prescription avec l'amiodarone, ou certaines substances responsables de torsades de pointes (104, 105). Le blocage de HERG par le mibéfradil est démontré la même année (106). Le coût du mibéfradil pour la compagnie Roche a été estimé à 1 million de Dollars US...

II. LA REPOLARISATION VENTRICULAIRE

L'écriture de ce chapitre a pour but d'établir les bases permettant aux lecteurs (mais aussi à l'auteur de la thèse) de mieux comprendre ce qu'est la repolarisation ventriculaire, pour pouvoir ensuite mieux appréhender les phénomènes pathologiques qui lui sont attachés. Ce long chapitre est basé sur des articles originaux, mais aussi sur d'excellents livres de cardiologie ou de rythmologie qui apportent un haut niveau de synthèse sur le sujet, et qui ont donc logiquement été mis à contribution. Il s'agit en particulier "du Braunwald" (Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine), du livre de Jalife et coll. (Basic cardiac electrophysiology for the clinician), "du Zipes & Jalife" (Cardiac electrophysiology: from cell to bedside), et enfin du livre de Gussak et Antzelevitch (Cardiac repolarisation. Bridging basic and clinical science).

Le cœur est un organe contractile dont la fonction est d'assurer un débit sanguin adapté aux besoins de l'organisme. Le débit cardiaque est la résultante de l'activité séquentielle, rythmique et coordonnée des oreillettes et des ventricules. Cette activité est rendue possible grâce aux propriétés électriques et mécaniques des différents sous-groupes cellulaires composant le tissu cardiaque.

Les cellules cardiaques sont excitables et capables de conduire un influx électrique. Certaines sont douées de propriétés d'automatisme. Le tissu cardiaque comporte trois types différents de cellules : les cellules du tissu nodal (sinusal et auriculo-ventriculaire), celles du tissu de conduction (His-Purkinje) et les cellules myocardiques (auriculaires ou ventriculaires). Les cellules du tissu nodal ont une activité automatique marquée et des propriétés de conduction lentes. Les cellules du tissu de His-Purkinje ont une activité automatique plus réduite et des propriétés de conduction rapides. Les cellules myocardiques sont les cellules contractiles. Le rythme cardiaque est imposé par les cellules du nœud sinusal dont l'automaticité, modulée par le tonus neurovégétatif, est la plus rapide. Du nœud sinusal naît un front d'activation qui se transmet de proche en proche au sein du massif auriculaire grâce à des connexions intercellulaires. Ce front d'activation atteint ensuite le nœud auriculo-ventriculaire où il est freiné, puis pénètre et se répartit rapidement dans les ventricules par le faisceau de His, ses branches, et enfin par le tissu de Purkinje. Les cellules myocardiques activées se contractent (couplage excitation contraction (107)), donnant lieu à la systole ventriculaire.

Les cellules cardiaques sont polarisées pendant leur phase de repos et dépolarisées pendant leur phase d'activité. À la dépolarisation ventriculaire succède donc la repolarisation ventriculaire. Sa durée est globalement superposable à la durée de la systole ventriculaire. Elle correspond à l'ensemble des phénomènes électriques ramenant l'ensemble des cellules ventriculaires de leur état d'excitation (dépolarisé) à leur état de repos (polarisé). La polarité des cellules cardiaques est liée à une répartition inégale des ions à la surface de la membrane plasmatique qui est constituée d'une bicouche lipidique. L'activité électrique résulte de la présence de structures protéiques enchâssées dans cette membrane, assimilables à des pores, et laissant passer plus ou moins sélectivement des ions. L'électrophysiologie cardiaque est donc basée sur l'étude de phénomènes principalement membranaires. L'étude de la repolarisation ventriculaire peut ainsi se faire selon différents niveaux d'intégration:

- celui de la protéine : on enregistre le courant unitaire (technique de patch-clamp)
- celui de la cellule : on enregistre le potentiel d'action cellulaire et le courant global (technique de la microélectrode)
- celui de l'organe : on enregistre l'électrocardiogramme de surface

A. Bases électrophysiologiques

Le passage des ions à travers une membrane cellulaire peut être comparé au comportement de charges électriques à travers un câble électrique. Les principes de bioélectricité donnent donc les bases qui gouvernent le comportement des ions à travers les membranes biologiques. Les principes permettant d'appréhender le passage des ions, la conduction, et la propagation de l'influx sont rappelés en annexe, de même que la structure moléculaire des canaux ioniques.

1. Potentiel d'action cardiaque

Le potentiel d'action du cardiomyocyte ventriculaire **humain** présente 4 phases distinctes (4). La phase 0 correspond à la dépolarisation rapide. La phase 1 correspond à une repolarisation brève, rapide et partielle qui survient à la fin du pic de dépolarisation ("upstroke"), et qui est interrompue lorsque la cellule atteint le plateau du potentiel, ou phase 2. Durant le plateau, la repolarisation progresse doucement jusqu'à la phase 3 qui correspond à la phase terminale et rapide de la repolarisation. Finalement, la phase 4 est la période séparant la dernière repolarisation et le début du potentiel d'action suivant (**Figure 5**).

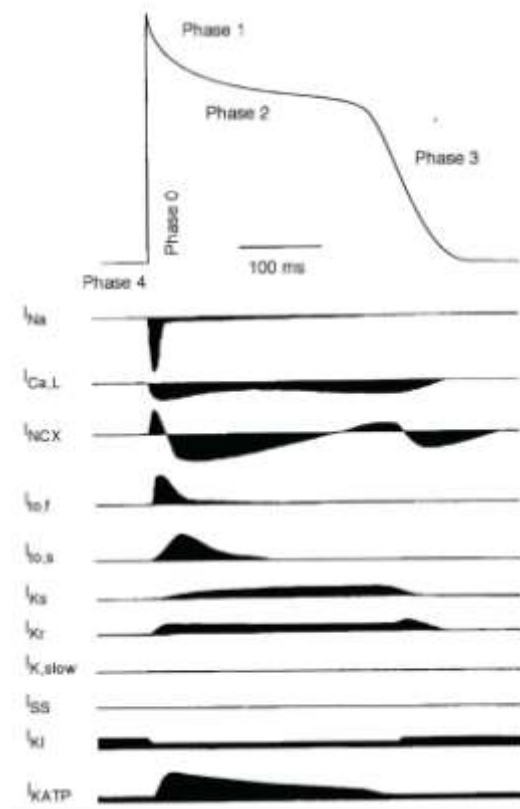


Figure 5. Représentation schématique du potentiel d'action d'un myocyte ventriculaire humain et des courants ioniques le constituant. La contribution de certains courants potassiques, comme $I_{K,slow}$ et I_{SS} , qui sont exprimés dans d'autres espèces, n'ont pas été encore précisés dans les myocytes ventriculaires humains (14).

Dès que la cellule atteint le potentiel seuil de -65 mV, les canaux sodiques sont brutalement ouverts. La conductance membranaire qui était, au repos, à dominance potassique, devient une conductance à dominance sodique. Les ions Na^+ se "précipitent" dans la cellule du fait d'une force électromotrice puissante liée à la différence de concentration

importante entre le secteur extracellulaire (140 mM) et le secteur intracellulaire (4 mM). Ils donnent lieu à un courant entrant dépolarisant (I_{Na}) responsable de la phase rapide de dépolarisation encore appelée *phase 0*. L'augmentation de conductance sodique est très brève, de l'ordre de 1 à 2 ms. Le courant sodique est dit régénératif, c'est-à-dire que plus la membrane se dépolarise, plus la conductance sodique augmente etc... jusqu'à ce que la force électromotrice du sodium diminue du fait du rapprochement du potentiel d'équilibre E_{Na} (≈ 40 mV). Les ions viennent se répartir sur la face intracellulaire de la bicouche lipidique et entraînent, du fait de leur positivité, une inversion du potentiel membranaire qui plafonne à 20 mV. Par ailleurs, la conductance du sodium est dépendante du temps, de telle manière que si la membrane cellulaire subit une dépolarisation infraliminaire pendant un certain temps, la conductance sodique diminue, et donc l'intensité du courant entrant sodique. Dans les fibres de Purkinje, et à un moindre degré dans les fibres musculaires, il existe une deuxième composante du courant sodique, qui s'inactive beaucoup plus lentement, et qui participe au plateau du potentiel d'action.

La fin de la phase 0, et donc le début de la *phase 1*, est principalement déterminée par l'inactivation de I_{Na} . La partie initiale de la repolarisation est sous le contrôle d'une conductance potassique. Bien qu'il existe des différences notables en fonction des régions du cœur et des espèces étudiées, le courant transitoire sortant, I_{to} , représente la composante majoritaire de cette phase de repolarisation rapide. Ce courant est rapidement activé pendant la phase 0 du potentiel d'action, puis rapidement inactivé. Il est subdivisé en 2 composantes: I_{to1} (encore appelé I_{to}) indépendant du calcium intracellulaire, responsable de la plus grande partie de la phase 1, et I_{to2} (encore appelé I_{to}) calcium-dépendant.

D'autres canaux ioniques voltage-dépendants sont aussi activés par la dépolarisation cellulaire, bien que leur activation soit plus lente. Ces canaux ne donnent lieu à un courant mesurable que plusieurs millisecondes après la fin de la phase 0 et donnent lieu à la *phase 2*, le plateau du potentiel d'action. Les deux courants dominants sont le courant calcique entrant ($I_{Ca,L}$) et le courant potassique retardé à rectification sortante, I_K . Le courant calcique cardiaque I_{Ca} est de 2 types $I_{Ca,L}$ et $I_{Ca,T}$, l'inactivation du premier étant plus lente ("Long lasting") que celle du deuxième ("Transient"). Les canaux de type T sont généralement absents au niveau ventriculaire. Le courant potassique I_K comporte lui aussi une composante rapide, I_{Kr} , et une composante lente, I_{Ks} . Compte tenu des gradients de concentrations de calcium et de potassium, on observe deux courants cationiques de sens opposés: le courant calcique qui est entrant et dépolarisant, et le courant potassique qui est sortant et repolarisant. Le caractère rectifiant sortant de I_K accélère la repolarisation, car sa conductance augmente avec la dépolarisation. Le rôle du courant calcique est essentiel dans les cœurs de mammifères puisqu'il agit comme déclencheur de la contraction en provoquant la libération du calcium du réticulum sarcoplasmique ("calcium-induced calcium release").

L'inactivation des canaux calciques aboutit à la fin du plateau du potentiel d'action, et au retour vers le potentiel diastolique, encore appelé *phase 3*. Seules les conductances potassiques restent actives. Le potentiel de membrane retourne donc rapidement vers le niveau de potentiel d'équilibre du potassium. Les courants potassiques retardés rectifiants (I_{Kr} et I_{Ks}) se ferment lorsque la cellule se repolarise. La conductance potassique prédominante devient I_{K1} , le courant potassique rectifiant entrant.

Dans les cardiomyocytes auriculaires et ventriculaires, le potentiel diastolique, ou *phase 4*, reste constant pendant toute la durée de la diastole. La conductance dominante est celle de I_{K1} , à laquelle s'ajoute une petite conductance de fond, maintenant le potentiel membranaire un peu plus dépolarisé que ne le laisserait supposer la valeur de E_K . La phase 4 est interrompue par le stimulus suivant qui vient à nouveau porter le potentiel de membrane à sa valeur seuil, déclenchant un nouveau potentiel d'action.

2. Hétérogénéité des potentiels d'action

a) *Le nœud sino-auriculaire.*

L'activation cardiaque naît normalement au niveau du nœud sino-auriculaire. Les cellules de cette structure sont capables d'une activité spontanée (automaticité normale ou activité "pacemaker") dont la fréquence intrinsèque est plus rapide que celle des autres structures automatiques, dans des conditions normales. La phase 4 du potentiel d'action de ces cellules est marquée par une dépolarisation progressive qui amène le potentiel de membrane du potentiel diastolique maximum (-50 à -65 mV) jusqu'à son niveau de déclenchement. La valeur du potentiel diastolique maximum, moins négative que dans les myocytes communs, correspond à une conductance potassique qui est plus faible. De plus le potentiel de déclenchement est lui aussi moins négatif, autour de -35 mV, du fait que courant responsable de la phase de dépolarisation rapide est porté par le calcium. La $V_{\max}$ est entre 1 et 10 V/s.

Deux hypothèses restent discutées quant à la nature électrophysiologique de la pente de dépolarisation diastolique lente. La première hypothèse rend le courant I_f responsable de l'entrée de charges positives dans la cellule. Ce courant, activé par l'hyperpolarisation, ne s'ouvre que pour des potentiels plus négatifs que -60 mV, et se trouve donc activé pendant la phase de repolarisation de la cellule, amène le potentiel membranaire jusqu'à son seuil de déclenchement, puis s'inactive pendant la dépolarisation induite par le courant calcique. Néanmoins, la gamme de potentiel d'une cellule du nœud sino-auriculaire n'est pas véritablement la gamme de fonctionnement du courant I_f . Une hypothèse alterne explique la pente de dépolarisation diastolique lente par un équilibre entre la fermeture des canaux potassiques et l'ouverture des canaux calciques (en particulier le type T), associé à un courant de base, I_b ("background current"), indépendant du temps dont le potentiel d'équilibre serait proche du sodium, c'est-à-dire positif. Enfin, on peut noter que ces deux hypothèses ne s'excluent pas, ce d'autant que les potentiels d'action enregistrés dans la région du nœud sino-auriculaire sont relativement hétérogènes. Le courant I_f pourrait avoir une participation prédominante dans les cellules dont le potentiel diastolique maximum est le plus négatif. D'ailleurs, une forme familiale de dysfonction sinusale est liée à une perte de fonction de HCN4 (108) et les souris transgéniques HCN4-/- sont très bradycardes (109).

b) *Le nœud auriculo-ventriculaire.*

Ici aussi, la morphologie des potentiels d'action est très hétérogène, selon que l'enregistrement est effectué dans la région centrale du nœud, dans sa périphérie, ou à proximité du tronc du faisceau de His. En bref, dans la région centrale, la morphologie des potentiels est proche de celle observée dans le nœud sino-auriculaire, avec une dépolarisation rapide dépendante du courant calcique, un discret potentiel "pacemaker" pendant la diastole, et une fréquence intrinsèque plus basse que celle du nœud sino-auriculaire.

c) *Les fibres de Purkinje.*

Les cellules du faisceau de His et du réseau de Purkinje ont une automaticité plus faible que celle des cellules nodales. Les cellules sont fortement polarisées, le courant responsable de l'activité "pacemaker" est le courant I_f , et la dépolarisation rapide est sous le contrôle du courant sodique I_{Na} .

d) *Cellules M & hétérogénéité régionale du potentiel d'action.*

Plusieurs études, principalement issues du groupe de Charles Antzelevitch, ont démontré l'existence d'une hétérogénéité régionale au sein du myocarde ventriculaire (110-113). La durée du potentiel d'action est plus longue dans les cardiomyocytes ventriculaires sous-endocardiques que sous-épicardiques. La durée de ces potentiels reste néanmoins plus courte

que celle observée dans des cellules récemment décrites et situées dans le mid-myocarde, dénommées cellules M (112). Cette hétérogénéité concerne les propriétés électriques et pharmacologiques, mais comporte également des implications physiopathologiques, en particulier dans le cadre du syndrome du QT long (34, 114-116).

L'hétérogénéité électrique entre l'endocarde et l'épicarde a été mise en évidence chez le chien, le chat, le lapin, le rat et l'homme (117), et les cellules M ont été retrouvées chez le chien, le cobaye, le cochon (118, 119) et l'homme (120). Ces trois types de cellules myocardiques diffèrent principalement par les phases 1 et 3 du décours du potentiel d'action. Pendant la phase 1, les cellules épiscopardiques et les cellules M présentent une encoche marquée ("notch") du décours de leur potentiel d'action principalement véhiculée par un courant sortant transitoire bloqué par la 4-aminopyridine (I_{to}). Cette encoche donne au potentiel d'action un aspect dit de "spike-and-dome". L'absence d'une encoche proéminente sur le décours du potentiel d'action des cellules endocardiques correspond à une diminution de l'amplitude de I_{to} . Cette différence initialement suggérée par la simple étude du décours du potentiel d'action (113), a ensuite été confirmée par des études de patch-clamp chez le chien, le chat, le lapin, le rat et l'homme (117). La phase 3 du potentiel d'action des cellules M est plus longue que celle des cellules épiscopardiques et endocardiques, aboutissant à un allongement de la durée de ce potentiel. Cette différence de durée s'accroît lorsque la fréquence de stimulation est plus basse, ou en présence d'un bloqueur de I_{Kr} (antiarythmique de classe III) (112). Les bases électrophysiologiques de ce comportement sont représentées par une réduction du courant I_{Ks} (potassique retardé rectifiant entrant lent) (121), une augmentation du courant sodique tardif (122), et une augmentation du courant d'échange sodium-clacium ($INa-Ca$) (123). Une des caractéristiques des cellules M est représentée par une sensibilité marquée à l'action des bloqueurs de HERG, ce qui les rapproche des cellules de Purkinje. Les bloqueurs de I_{Kr} , comme le dofétilide, le d-sotalol, ou le E4031, produisent sur ces cellules un allongement bien plus marqué de la durée du potentiel d'action, que sur les cellules endocardiques ou épiscopardiques (**Figure 6**) (111, 114, 124). Cependant, une sensibilité semblable peut être observée avec les substances qui augmentent le courant ICa , comme le Bay K 8644, ou le courant sodique retardé, comme l'anthopleurine-A. (19). Par contre, l'allongement de la durée du potentiel d'action induit par un bloqueur spécifique de I_{Ks} , comme le chromanol 293-B, est du même ordre dans les trois couches cellulaires (125).

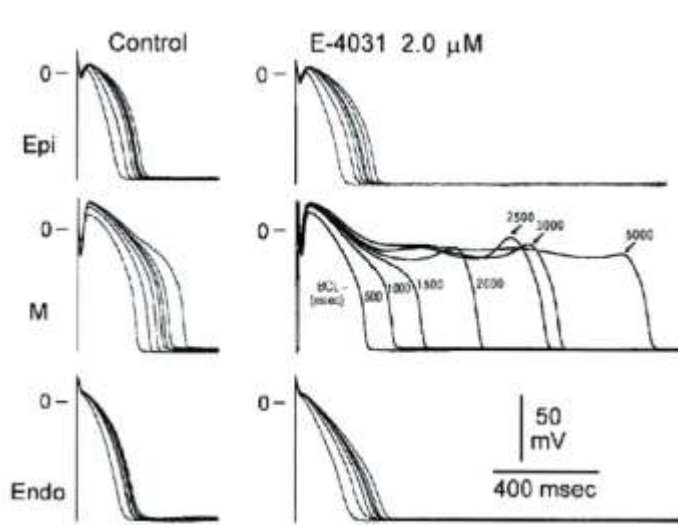


Figure 6. Effet du E-4031, un bloqueur spécifique de I_{Kr} , sur le potentiel d'action cellulaire enregistré au niveau épiscopardique (Epi), endocardique (Endo) et midmyocardique (M) à partir d'un segment myocardique de chien. Chaque élément de figure représente des potentiels d'action enregistrés à un cycle variant entre 500 et 5000 ms, avant et après E-4031 (2 μ M) (19).

La situation électrophysiologique obtenue en présence de molécules dont le profil pharmacologique est plus complexe, s'avère bien sûr moins caricaturale. Deux exemples sont particulièrement intéressants: celui de la quinidine, et celui de l'amiodarone. La quinidine, à faible concentration (3-5 μ M; 1,14-1,89 μ g/mL), produit un allongement de la durée du potentiel d'action des cellules M, mais pas des cellules épicaudiques et endocardiques, ce qui correspond à un effet de blocage de I_{Kr} . À des concentrations plus élevées (10-30 μ M; 3,78-11,37 μ g/mL), la quinidine allonge la durée des potentiels d'action des cellules épicaudiques et endocardiques, du fait de l'effet de blocage sur I_{Ks} , et raccourcit le potentiel d'action des cellules M du fait d'un blocage sur le courant sodique retardé (124, 126, 127). Ces données ont été validées par des études en patch-clamp (19). Finalement, à concentration faible, la quinidine favorise la survenue de torsades de pointes du fait de l'augmentation de l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation, alors qu'à concentration élevée, la quinidine diminue cette dispersion,... mais expose aux effets proarythmiques des bloqueurs sodiques (classe I) (128). De manière similaire, la complexité de l'effet de l'amiodarone (effet de classe I, II, III, et IV) aboutit en phase chronique à une diminution de l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation, démontrée tant chez l'animal (129, 130), que chez l'homme (131).

Histologiquement, rien ne distingue les cellules M des cellules épicaudiques et endocardiques. On peut cependant observer qu'il existe, au niveau de la paroi libre du ventricule gauche (chez le chien) une nette augmentation de la résistance électrique entre la couche mid-myocardique et la couche épicaudique, donnant lieu à une transition relativement brutale dans la durée du potentiel d'action. Cette transition électrique rapide peut être rapprochée d'une transition histologique franche, avec une modification de l'orientation des fibres. La localisation anatomique précise des cellules M a été étudiée chez le chien. Même s'il existe des cellules transitionnelles dans l'ensemble du ventricule gauche, les cellules M présentant les potentiels d'action les plus longs sont situés dans la couche sous-épicaudique et mid-myocardique de la paroi libre du ventricule gauche, dans la paroi sous-endocardique et mid-myocardique de la paroi latérale, et dans l'ensemble de l'infundibulum du ventricule droit (132). Ces cellules sont également présentes dans les couches endocardiques profondes des muscles papillaires, des trabécules, et du septum interventriculaire.

L'amplitude de la dispersion transmurale de la repolarisation peut être modifiée par **deux paramètres artéfactuels**. Le premier de ces paramètres est l'existence ou non d'une dissociation cellulaire. Lorsque les tissus sont isolés les uns des autres sous la forme de "tranches", la dispersion transmurale de la repolarisation peut atteindre une valeur de 100 ms pour un cycle de stimulation de 2000 ms, à l'état de base, c'est-à-dire sans bloqueur de I_{Kr} (112). Cette valeur peut être dépassée en présence d'une dissociation enzymatique des cellules (121). Par contre, lorsque les enregistrements sont effectués de manière synchrone sur un mur ventriculaire intact et perfusé, la dispersion de la repolarisation est réduite à une valeur moyenne de 50 ms. Cette diminution s'explique par la persistance des interactions électrotoniques entre les cellules, les cellules épicaudiques et endocardiques ramenant la durée du potentiel d'action des cellules M vers des valeurs plus courtes, et les cellules M "tirant" la durée du potentiel d'action des cellules endocardiques et épicaudiques vers des valeurs plus longues (133). Les valeurs de dispersion transmurale de la repolarisation ventriculaire retrouvée par l'équipe d'Antzelevitch ont été confirmées par d'autres équipes qui ont utilisé des techniques de mesure différentes, ce qui renforce la réalité de l'information: enregistrements de potentiels d'action monophasiques (134), ou mesures de l'intervalle d'activation-récupération ("activation-recovery interval" = ARI) en utilisant des enregistrements unipolaires (135). Le deuxième paramètre, possiblement artéfactuel, est

représenté par le mode d'anesthésie effectué dans les expériences in vivo. Il existe en effet une discordance entre le grand nombre de publications, provenant d'équipes différentes, démontrant l'existence des cellules M in vitro, et la rareté des publications retrouvant ces mêmes cellules in vivo (136). Il est maintenant démontré que l'utilisation du pentobarbital sodique diminue la dispersion de la repolarisation transmurale en bloquant les courants I_{Ks} et I_{Na} tardif, contrairement à l'halotane, par exemple (134). Le blocage de I_{Na} raccourcit préférentiellement la durée du potentiel d'action des cellules M, et diminue considérablement la dépendance de la durée du potentiel d'action de ces cellules (137). La dispersion transmurale observée in vivo est bien plus faible lorsque l'agent anesthésique utilisé est le pentobarbital (134, 136) que l'isoflurane ou l'halotane (134, 135, 138).

À ma connaissance, le seul travail publié et confortant au niveau transcriptionnel l'idée d'une couche mid-myocardique spécifique, est celui réalisé par mon laboratoire, l'Unité Inserm U533 (139). Demolombe et coll. ont été les premiers à démontrer que la base moléculaire du courant I_{Ks} était constituée par deux isoformes de KvLQT1, et non un seul, associé à la protéine régulatrice IsK. L'isoforme 2, qui est une forme tronquée en N-terminal de l'isoforme 1, exerce un fort effet dominant négatif sur le courant porté par KvLQT1 (140). L'expression relative des deux isoformes de KvLQT1 et de la protéine régulatrice IsK a été étudiée dans chacune des trois couches myocardiques qui constituent la paroi ventriculaire chez l'homme. L'expression de KvLQT1 et de IsK était parfaitement homogène dans ces trois couches. Par contre, le ratio d'expression de l'isoforme 2 de KvLQT1 par rapport à l'isoforme 1 était plus important au niveau mid-myocardique (32%) qu'au niveau endocardique (25%) ou épicaudique (25%). Des résultats semblables ont été obtenus à partir de prélèvements ventriculaires droits. L'étude fonctionnelle effectuée dans un deuxième temps sur des cellules COS-7 a permis de quantifier les modifications d'intensité de courant provoquées par une expression des isoformes 1 et 2 de KvLQT1 mimant soit le mid-myocarde, soit l'endocarde ou l'épicarde. On a pu observer une diminution d'amplitude de 75% du courant I_{Ks} lorsque l'on reconstituait la situation moléculaire exprimée dans le mid-myocarde en comparaison de l'épicarde. Ces résultats laissent entendre que les observations électrophysiologiques effectuées in vitro sur le mid-myocarde sont en rapport avec une modification de l'expression de l'isoforme 2 de KvLQT1 (139).

B. Courants ioniques

Les études électrophysiologiques ont détaillé les propriétés des principaux courants ioniques des cellules cardiaques. Contrairement aux courants sodiques et calciques, il existe de nombreux courants potassiques dans les myocytes ventriculaires, dont la plupart sont dépendants du voltage. Par ailleurs, il existe des différences d'expression régionale de ces canaux, qui contribuent à la variabilité de morphologie du potentiel d'action (141). Cependant, les caractéristiques électrophysiologiques des courants repolarisants des myocytes ventriculaires isolés à partir de différentes espèces sont proches, suggérant que les structures moléculaires qui soutiennent ces courants soient également semblables (142). Enfin, la densité et les propriétés des courants sodiques, calciques, et potassiques évoluent pendant le développement, entraînant une modification de la morphologie du potentiel d'action (**Table 1**).

1. Sodique

Il s'agit du courant dépolarisant majeur des myocytes ventriculaires, auriculaires, et des cellules de Purkinje, dont le potentiel de repos se situe entre -75 et -90 mV (14). Le courant I_{Na} n'est pas impliqué dans les cellules nodales, soit parce que les canaux n'y sont pas exprimés, soit parce que le potentiel diastolique de ces cellules (supérieur à -60 mV) maintient les canaux sodiques dans un état inactivé. L'entrée des ions sodiques entraîne une

dépolarisation très rapide de la membrane (≈ 500 V/s dans les fibres de Purkinje) et une conduction myocardique rapide (1 m/s), avec un seuil d'activation autour de -55 mV. L'inactivation très rapide est également induite par la dépolarisation, expliquant le caractère transitoire du courant. L'inactivation, et la réactivation du canal se fait dans une gamme de temps réduite (2 à 10 ms) (143). Il existe une petite probabilité de réouverture du canal à la valeur de potentiel observée pendant la phase de plateau du potentiel d'action, et qui correspond à environ 1% des canaux. Ce courant bien que faible joue un rôle dans le maintien de la dépolarisation de la cellule (144), en particulier dans le cadre des canalopathies congénitales. Il a été dénommé courant sodique "de fenêtre" car sa probabilité d'ouverture correspond au chevauchement des courbes d'activation et d'inactivation pendant "une fenêtre" de valeurs de potentiel (145). La densité intraventriculaire de ce courant de fenêtre est hétérogène et peut donc participer à l'hétérogénéité du déroulement du potentiel d'action (146). La conductance du canal sodique est d'environ 20 pS. L'entrée d'ions sodium dans la cellule va être régulée par la Na-K ATPase transmembranaire qui a pour charge de rétablir un gradient transmembranaire de sodium normal. La régulation des canaux sodiques est effectuée par divers ions et neurotransmetteurs (5). La stimulation sympathique, par le biais des récepteurs bêta, entraîne un décalage de la courbe d'inactivation vers des valeurs plus négatives. Cet effet inhibiteur implique l'AMPc et la phosphorylation dépendante de la PKA. Cependant, une autre kinase, la PKC entraîne une diminution du courant ainsi qu'un ralentissement de l'inactivation. Le canal sodique est sensible à certains cations divalents comme le cadmium ou le zinc. Il est bloqué par la tétrodotoxine (TTX), qui pourrait jouer le rôle d'un bouchon sur l'orifice externe du canal. L'effet inhibiteur des antiarythmiques de classe I sur le courant sodique est dépendant de l'état activé, inactivé, ou désactivé du canal. Cette caractéristique correspond au concept du récepteur modulé ("modulated-receptor channel"). Les antiarythmiques de classe I, comme la phénytoïne ou la lidocaïne, se lient au récepteur préférentiellement si la cellule est dépolarisée. C'est ce qui expliquerait un effet plus important de ces molécules sur les cellules ventriculaires et les fibres de Purkinje, en comparaison des cellules atriales dont la durée du potentiel d'action est plus courte. C'est ce qui expliquerait également le concept de "use-dependance", où l'effet de blocage du canal augmente d'autant plus que ce dernier est soumis à contribution, par exemple lors d'une accélération de la fréquence cardiaque (5).

Table 1. Courant ioniques contribuant à la repolarisation ventriculaire (14)

<i>Current</i>	<i>Activation</i>	<i>Inactivation</i>	<i>Recovery</i>	<i>Blocker*</i>	<i>Species</i>
I_{Na}	fast	fast	fast	TTX	cat, dog, ferret, human, mouse, rat
$I_{Ca(L)}$	fast	Ca ²⁺ -dep	fast	DHP Cd ²⁺	cat, dog, ferret, human, mouse, rat
$I_{to,f}$	fast	fast	fast	mM 4-AP Flecainide HaTX HpTX	cat, dog, ferret, human, mouse, rat
$I_{to,s}$	fast	slow	slow	mM 4-AP	ferret, human, mouse, rat, rabbit
I_{Kr}	moderate	fast	slow	E-4031 Dofetilide Lanthanum	cat, dog, guinea pig, human, mouse rabbit, rat
I_{Ks}	very slow	no	—	NE-10064 NE-10133	dog, guinea pig, human, rabbit rabbit
I_{Kp}	fast	no	—	Ba ²⁺	guinea pig
I_K	slow	slow	slow	mM TEA	rat
$I_{K,slow1}$	fast	slow	slow	mM 4-AP	mouse
$I_{K,slow2}$	fast	very slow	slow	mM TEA	mouse
I_{ss}	slow	no	—	mM TEA	dog, human, mouse, rat
I_{K1}	—	—	—	Ba ²⁺	cat, dog, ferret, human, mouse, rabbit, rat
$I_{K(ATP)}$	—	—	—	SUR	cat, dog, ferret, human, mouse, rabbit, rat

*TTX = tetrodotoxin; DHP = dihydropyridine; 4-AP = 4-aminopyridine; HaTX = hanatoxin; HpTX = heteropodatoxin; α -DTX = α -dendrotoxin; SUR = sulfonylurea; TEA = tetraethylammonium;

2. Calcique

Les cellules cardiaques disposent d'un autre courant transitoire voltage-dépendant, mais insensible à la TTX. Ce courant est porté par les ions Ca⁺⁺ à travers deux types de canaux (5). Les canaux de type T (T="transient") sont activés par de faibles dépolarisations et sont inactivés rapidement. Les canaux de type L sont activés par de fortes dépolarisations et sont inactivés doucement. Les caractéristiques biophysiques et pharmacologiques de ces deux canaux sont différentes. Le courant I_{CaL} est sensible aux dihydropyridines. En comparaison au courant sodique son seuil d'activation est plus positif (-35 mV) et ses constantes d'activation (5-20 ms) et d'inactivation (30-300 ms) sont plus lentes. Le courant $I_{Ca,L}$ est en partie responsable du plateau de la repolarisation; il intervient dans l'afflux d'ion calcium impliqués dans le couplage excitation-contraction; il est responsable de la dépolarisation rapide des cellules nodales (alors que I_{CaT} est impliqué dans le courant de pacemaker). Ce courant est codé par CaV1.2. Un autre courant calcique de type I_{CaL} , codé par CaV1.3, s'exprime principalement dans les nœuds (147). Il est enfin une cible majeure de la stimulation adrénergique qui induit une augmentation de ce courant, par le biais d'une augmentation de la probabilité d'ouverture, et non de la conductance. La densité de courant $I_{Ca,L}$ dans les myocytes ventriculaires est proche quelque soit l'espèce mammifère considérée, et il y a peu d'hétérogénéité régionale (14).

3. Potassique retardé rectifiant

Le courant retardé rectifiant, I_K , est activé pour des valeurs plus positives que -40 mV. Il produit un courant sortant repolarisant pour la cellule cardiaque (5). Dans les années 60, Noble et Tsien ont découvert à partir d'expériences menées sur des fibres de Purkinje que ce courant reposait sur 2 conductances différentes, ce qui a ensuite été confirmé sur des préparations cellulaires isolées. Le courant I_{Kr} ("r" "rapid" est activé rapidement, est inhibé par des antiarythmiques de classe III comme le sotalol ou le dofétilide, et comporte une rectification entrante. À l'inverse, I_{Ks} ("s" "slow") est activé lentement, n'est pas inhibé par le sotalol ou le dofétilide, et ne comporte pas de rectification. I_{Ks} est régulé par la stimulation adrénergique. Bien que l'amplitude de I_{Ks} soit 10 fois supérieure à celle de I_{Kr} , le poids physiologique de ces deux courants semble identique dans le décours de la repolarisation chez l'homme.

Les courants I_{Kr} et I_{Ks} ont été caractérisés dans des myocytes de nombreuses espèces: le chien, le chat, le cobaye, l'homme, la souris, le lapin, le rat (141). Chez l'homme (148), le chien (121), le lapin (149), et le cobaye (150), ces deux courants sont des courants repolarisants majeurs (**Table 2**). Chez le chat et le rat, seul I_{Kr} est détecté. Chez les rongeurs, d'autres composantes de I_K sont présentes (151). Dans le myocyte ventriculaire de souris, deux courants potassiques dépendant du voltage, $I_{K,slow}$ et I_{ss} (ou sustained) ont été identifiés, dont les propriétés sont différentes de I_{to} (courant repolarisant majeur chez la souris). Alors que $I_{K,slow}$ est sensible à la 4-AP, le courant I_{ss} y est insensible. Ce dernier est activé lentement, et peut maintenir son activation jusqu'à 10 secondes lors des expériences de voltage-clamp. Ces 2 courants sont exprimés dans tous les myocytes ventriculaires, contrairement à I_{to} .

Table 2. Propriétés des deux composantes du courant potassique retardé rectifiant (5).

	I_{Ks}	I_{Kr}
Activation time constants (0 mV)	400, 2500 ms	50 ms
Rectification	Slight	Marked
Conductance ($[K^+]_o = 150$ mM)	1–3 pS	10 pS
Block by class III antiarrhythmic agent, E-4031	No	Yes
Activation by isoproterenol	Yes	No

4. Variations d'expression dans le temps et dans l'espace

Les courants potassiques font l'objet de modifications d'expression pendant la période fœtale, et lors du développement après la naissance. Par exemple, si les courants I_{Kr} et I_{Ks} sont tous les deux détectables pendant les périodes fœtale et néo-natale dans les myocytes ventriculaires de souris, ils disparaissent quasiment à l'âge adulte (152). À l'inverse, la densité de courant $I_{to,f}$ est faible pendant la période néo-natale pour augmenter ensuite largement. Cette donnée est également retrouvée sur le myocyte ventriculaire de chien (153), et sur le myocyte atrial de l'homme (154). Globalement, après la naissance, le potentiel d'action des myocytes ventriculaires se raccourcit, la phase 1 de la repolarisation devient plus marquée (14).

Il existe des différences marquées de densité de courant I_{to} dans les différentes régions du ventricule tant chez le chien (111), le chat, le furet, l'homme (155), la souris, le cobaye (156) ou le rat. Le chien a été le plus étudié. Dans le ventricule gauche, la densité de I_{to} est 5 à 6 fois plus importante dans l'épicarde et dans le midmyocarde que dans l'endocarde. La densité de I_{Ks} est plus faible dans les cellules M que dans l'endocarde et dans l'épicarde. Ces différences en densités de courant contribuent aux différences de potentiel d'action que l'on peut observer entre les différentes régions du cœur ou entre les différentes couches myocardiques.

5. Autres courants potassiques

a) *Potassique transitoire sortant, I_{to}*

Deux composantes, I_{to1} et I_{to2} ont été initialement décrites sur les fibres de Purkinje, et supposées représenter des conductances (157). Cependant, la deuxième composante correspond en réalité à un courant chlore (158). La première composante est bien un courant potassique, sensible à la 4-amydopyridine (4-AP) et indépendante du calcium (14). Il est maintenant clair qu'il existe deux types de courants transitoires potassiques dans les myocytes ventriculaires, $I_{to,f}$ (fast) et $I_{to,s}$ (slow), et leur distribution régionale diffère l'un de l'autre (159). Ces deux courants s'activent et s'inactivent rapidement, mais la récupération de l'inactivation est rapide pour l'un ($I_{to,f}$), et lente pour l'autre ($I_{to,s}$). Bien que $I_{to,f}$ soit présent dans la plupart des espèces mammifères, il ne peut être enregistré chez le cobaye que l'absence de calcium extracellulaire (160). Les propriétés électrophysiologiques de $I_{to,f}$ sont similaires quelle que soit l'espèce, laissant supposer que la structure moléculaire est également identique (142). En réalité, il est très vraisemblable que le canal $I_{to,f}$ est codé par les éléments de la sous-famille des sous-unités α de type Kv4 (141). Les différences inter-espèces concernent les propriétés biophysique de ce canal. Chez la souris, il existe des différences de distribution régionale de $I_{to,f}$ et $I_{to,s}$. Alors que $I_{to,s}$ est absent des parois libres des 2 ventricules, I_{to} représente 20% de la densité de courant du septum interventriculaire (151).

b) *Autres courants potassiques contribuant à la repolarisation*

Dans les myocytes ventriculaires de mammifère, I_{K1} participe à l'établissement du potentiel membranaire de repos, et contribue à la phase 3 de la repolarisation par sa partie la plus tardive (161). Il existe une forte rectification entrante attribuée à un bloc par le magnésium intra-cellulaire et par les polyamines. La conductance élevée de ces canaux à des valeurs de potentiel négatives traduit la contribution de I_{K1} au potentiel de repos membranaire. La conductance de ces canaux est beaucoup plus faible à des valeurs de potentiel de -40 mV. I_{K1} contribue cependant également à la phase 3 de la repolarisation du fait d'une "driving force" potassique élevée pendant la dépolarisation.

Le courant potassique I_{KATP} comporte une rectification entrante faible, et se trouve activé par l'ADP et inhibé par l'ATP (162). Ces canaux sont supposés représenter un lien entre le métabolisme cellulaire et le potentiel de membrane. L'activation du courant I_{KATP} joue un rôle dans la perte de potassium responsable du raccourcissement de la durée du potentiel d'action que l'on peut observer au cours de l'ischémie (163). Le raccourcissement de la durée du potentiel d'action limite l'entrée du calcium intracellulaire, donc diminue la contraction et limite l'utilisation d'ATP. L'ouverture de ces canaux joue probablement aussi un rôle dans la protection cardiaque consécutive au pré-conditionnement. Il n'existe pas d'hétérogénéité dans l'expression myocardique de ces canaux, contrairement aux canaux dépendant du voltage. Bien qu'ils restent inhibés à l'état de base, leur forte densité laisse entendre un rôle physiologique important.

6. Autres courants

a) I_f

Le courant I_f est un des courants impliqués dans l'automatisme des cellules du nœud sinusal. La lettre "f" correspond à "funny" compte tenu de ses caractéristiques électrophysiologiques particulières. En effet, son activation dépend à la fois des ions Na^+ et K^+ . Le courant est dépolarisant, mais activé par l'hyperpolarisation. Sa conductance est environ 1 pS, soit une valeur assez faible pour un canal non sélectif. Le potentiel d'activation

est autour de -50 mV à -40 mV. La régulation de l'activation du canal est dépendante à la fois de la stimulation cholinergique et adrénergique.

b) *Courant de base, pompes et échangeurs*

Un courant de base porté par les ions sodium a été identifié dans les cellules du nœud sino-auriculaire dont les caractéristiques électrophysiologiques en font un bon candidat pour participer à la pente de dépolarisation diastolique lente.

Les courants de pompe et d'échangeur ont pour utilité de rétablir les gradients électrochimiques après l'activation cellulaire. La Na-K ATPase transmembranaire génère un courant sortant en faisant sortir 3 ions Na^+ contre l'entrée de 2 ions Ca^{++} . L'échangeur Na-Ca génère un courant entrant pendant la durée de la dépolarisation diastolique, participant ainsi au courant de base des cellules nodales.

c) *Gap jonction*

La rapidité de progression du front d'activation myocardique est en partie liée à l'existence de gap-jonctions. Ces structures formées de connexines représentent des canaux ioniques de basse résistance facilitant le passage de l'impulsion électrique d'une cellule à l'autre. Il s'agit de canaux hydrophiles à large diamètre ($16 \text{ \AA}$) avec une sélectivité ionique faible. Certaines connexines sont régulées à la fois par le voltage et le temps

C. Intervalle QT

L'intervalle QT correspond à la durée séparant le début de la dépolarisation et la fin de la repolarisation du myocarde ventriculaire sur l'électrocardiogramme de surface.

1. Historique

L'électrocardiogramme (ECG) représente l'enregistrement des changements de potentiel du champ électrique cardiaque en fonction du temps. Sa découverte a permis le développement de l'étude des troubles du rythme. C'est à Waller (1856-1922) que l'on doit en 1887 le premier enregistrement du phénomène électrique cardiaque chez l'homme grâce à l'électromètre capillaire de Lippman (164). C'est cependant Einthoven, physiologiste Hollandais (1860-1927), qui développa la technique d'enregistrement électrocardiographique grâce au galvanomètre à corde (1). C'est également lui qui introduisit les désignations des différentes ondes de l'ECG encore utilisées actuellement : P, Q, R, S, T (**Figure 7**). Enfin il développa le concept de triangle dit d'Einthoven (165) toujours utilisé de nos jours en électrocardiographie standard.

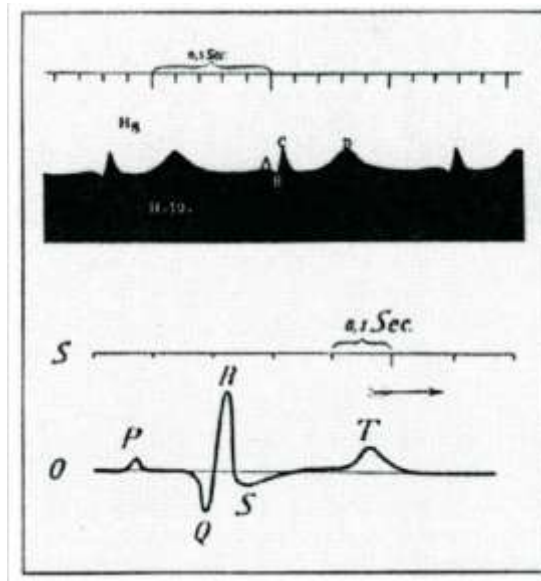


Figure 7. Enregistrement d'un ECG utilisant un électromètre capillaire (tracé du dessus) et un ECG extrapolé avec les ondes P, Q, R, S, et T (tracé du dessous)(1)

2. Bases théoriques de l'enregistrement ECG

À chaque instant, l'activité électrique cardiaque peut être représentée comme un dipôle constitué d'une charge positive et d'une charge négative séparées par une petite distance. Ce dipôle peut être représenté par un vecteur comportant une amplitude et une direction, dont la tête correspond par convention à l'extrémité positive. Immérgé dans un volume de conduction, ce vecteur donne lieu à un champ électrique. L'amplitude de la différence de potentiel peut être donnée selon la théorie de l'angle solide, soit

$$E_p = m \cos q / r^2$$

Où E_p est la différence de potentiel à un point p, r la distance entre le point p et la source, m la force de la source, et $\cos q$ le cosinus de l'angle formé par la ligne joignant le point p et le milieu du dipôle, et l'axe du dipôle. En accord avec cette formule, l'amplitude du potentiel enregistré est nulle si p est à la perpendiculaire du milieu du dipôle. Cette amplitude croît au fur et à mesure que p se retrouve dans l'axe du dipôle, et que la distance entre p et le milieu du dipôle diminue. Cette théorie n'est cependant qu'une approche puisqu'elle suppose que le volume conducteur est homogène et que le dipôle est situé au milieu de ce dipôle, ce qui constitue chez l'homme des approximations (166).

Pour mieux comprendre l'effet de la dépolarisation et de la repolarisation sur l'ECG, Craib a immergé une bande musculaire et des électrodes dans un milieu conducteur homogène (167). À l'état de repos (polarisé), la bande musculaire est entourée uniformément de charges positives et ne produit aucune différence de potentiel. Un résultat identique est obtenu lorsque toute la bande musculaire est à l'état activé (dépolarisée), entourée uniformément de charges négatives. À l'inverse, lorsque la bande musculaire est partiellement dépolarisée, on observe une différence de potentiel représentée par un dipôle. Ce dipôle se déplace avec le front de dépolarisation. L'électrode voyant fuir le dipôle inscrit une négativité, à l'inverse de celle qui voit arriver le dipôle qui inscrit une positivité. *In vitro*, le front de repolarisation suit la même direction que le front de dépolarisation. Le sens du dipôle est inversé par rapport à la situation précédente, et les électrodes inscrivent une déflexion de polarité opposée à celle enregistrée pendant la dépolarisation. *In vivo*, le front de repolarisation ventriculaire suit une direction opposée à celle du front de dépolarisation, tant au niveau de l'organe entier que des différentes sous-couches cellulaires. Si la dépolarisation

débute au niveau du septum interventriculaire pour envahir ensuite l'apex, la repolarisation est plus précoce à l'apex qu'au niveau du septum interventriculaire. De plus, la dépolarisation s'effectue de l'endocarde vers l'épicarde, alors que la repolarisation s'effectue de l'épicarde vers l'endocarde. La présence d'un gradient de pression transmural pourrait être un facteur explicatif, entraînant un allongement de la durée de l'état activé au niveau de l'endocarde et non de l'épicarde. L'augmentation de pression pendant la systole ventriculaire entraînerait une diminution de la perfusion coronaire des couches endocardiques (166). En réalité, des travaux récents ont retrouvé des variations d'expression des gènes codant pour certains courants repolarisants au sein des différentes sous-couches myocardiques pouvant expliquer des durées de potentiel d'action plus long au niveau de la couche midmyocardique, en comparaison aux couches endocardique et épicaudiques (139). Ces différences de durée de potentiel peuvent expliquer l'inversion innatendue du sens de la repolarisation cardiaque.

Le front de repolarisation ventriculaire suit une direction "doublement" opposée à celle du front de dépolarisation. La polarité de la repolarisation est donc la même que la polarité de la dépolarisation.

L'ECG représente l'activité électrique cardiaque globale, c'est-à-dire la somme des activités électriques élémentaires représentées par chacun des potentiels d'action cellulaires. Son enregistrement est basé sur les trois hypothèses d'Einthoven: i) l'activité électrique du cœur est équivalente à celle d'un dipôle dont la direction, l'orientation, et le moment varient au cours de la systole, mais dont l'origine reste fixe; ii) les membres sont de simples conducteurs linéaires, l'origine du dipôle se situe alors au sein d'un triangle équilatéral (triangle d'Einthoven) formé par les points R, L, F; iii) le corps constitue un milieu de résistivité homogène. Bien que ces hypothèses ne donnent qu'une approximation de la réalité, elles restent suffisantes pour le diagnostic électrocardiographique en pratique courante (168). L'enregistrement ECG standard est effectué en 12 dériviatiions, 6 dériviatiions périphériques (3 bipolaires, DI DII DIII, et 3 unipolaires, aVR aVL aVF) et 6 dériviatiions précordiales unipolaires (V1 à V6) selon une échelle de 25 mm/s (abscisse) et 10 mm/mV (ordonnée). Chaque dériviatiion permet d'enregistrer au cours du temps les variations d'amplitude du vecteur électrique cardiaque. L'amplitude d'enregistrement est d'autant plus importante que l'axe du vecteur cardiaque se rapproche de l'axe de la dériviatiion. Les dériviatiions périphériques permettent de calculer également l'axe des différentes ondes de l'ECG, et en particulier l'axe de l'onde T, selon le principe du triangle d'Einthoven. Les enregistrements bipolaires effectués à partir d'électrodes très éloignées donnent une information globale sur la dépolarisation et la repolarisation des ventricules, alors que les dériviatiions unipolaires reflètent davantage un évènement local survenant à proximité de l'électrode (169).

D'autres techniques d'enregistrement non invasif apportent un complément d'informations sur la repolarisation cardiaque: le vectocardiogramme et la cartographie ECG de surface. Le concept de vectocardiogramme (VCG) a été introduit en 1920 par Mann (170). Il peut être défini comme l'enregistrement du décours du vecteur cardiaque instantané. Les VCGs sont enregistrés selon 3 plans orthogonaux: frontal, transversal, et sagittal. Le système de dériviatiions de Franck (171) est le plus utilisé. Il correspond à 3 dériviatiions (x, y, et z) perpendiculaires 2 à 2 et égales, constituées grâce à un réseau de résistances reliées à différents points thoraciques. Le VCG ne se différencie de l'ECG que par la manière de représenter le champ électrique cardiaque. Si l'ECG permet de mieux appréhender les modifications temporelles, le VCG donne une meilleure idée des modifications spatiales du vecteur cardiaque. L'enregistrement de l'ECG a largement supplanté celui du VCG en pratique clinique, compte tenu de sa simplicité de réalisation et de lecture, mais aussi compte tenu des possibilités offertes par l'enregistrement ECG de pouvoir analyser de manière aisée les troubles du rythme ou de la conduction. Par contre, dans le domaine de la recherche, l'étude du VCG garde des applications. On peut en particulier citer les progrès technologiques effectués par l'équipe de Fayn et Rubel qui ont permis de développer un enregistrement VCG

indépendant de la position du cœur dans le thorax (système CAVIAR, **Figure 8**) (172). Ce système a donné lieu à des applications intéressantes dans le cadre de l'étude de la repolarisation ventriculaire à partir de banques de données Holter (enregistrement ECG de 24 heures) (173-176). En effet, dans ce dernier cas, l'étude de l'intervalle QT peut être rendue difficile par les modifications ambulatoires de la position du cœur dans le thorax, donnant lieu à des modifications apparentes (et artéfactuelles) du vecteur cardiaque.

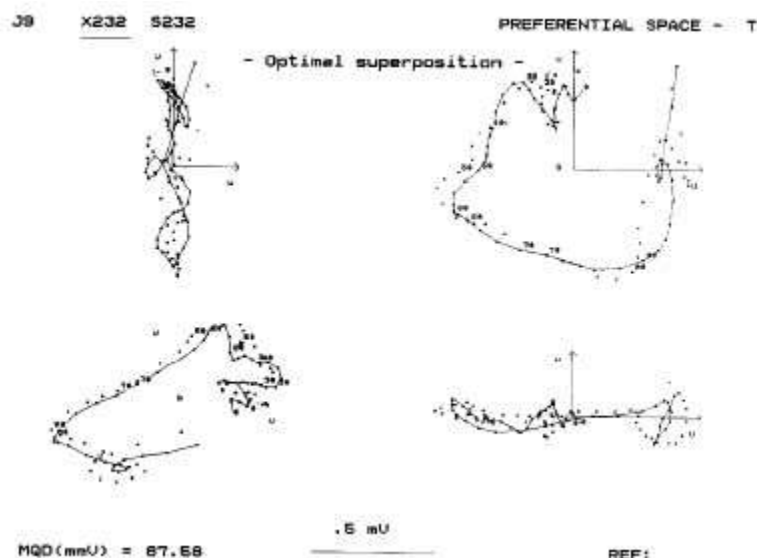


Figure 8. Boucle vectocardiographique enregistrée avec le système CAVIAR, et correspondant au segment ST (20).

La cartographie ECG de surface ("body surface potential mapping") apporte des informations supplémentaires, sous la forme d'une analyse régionale et précise de la repolarisation ventriculaire grâce à l'enregistrement d'une centaine (ou plus) d'électrogrammes unipolaires obtenus à partir d'électrodes réparties sur la surface du thorax. Ce type de technique permet de dresser des cartes de potentiels thoraciques de surface, qui sont exprimés soit en isochrones, soit en amplitude. Les complexités de réalisation technique et d'interprétation des résultats limitent l'expansion de cette procédure en routine clinique, mais reste d'intérêt dans le domaine de la recherche. Cette technique a été ré-actualisée récemment par l'équipe de Rudy grâce à un outil développé sur une vingtaine d'années (177). Un recueil de 240 signaux unipolaires est effectué grâce à un gilet porté par un sujet et muni d'électrodes. Les signaux recueillis sont intégrés selon une carte épicaudique isochrone ou isopotentielle sur une image 3D obtenue à partir d'un scanner. De cette manière, on peut reconstituer en 3D la cinétique d'activation, mais aussi de la repolarisation cardiaque par la mesure de l'ARI ("Activation Repolarization Interval"). L'ARI correspond à la durée du potentiel d'action épicaudique local. Il apparaît selon cette technique que la cinétique de repolarisation de l'épicaudique est indépendante de la cinétique d'activation de l'épicaudique, l'ensemble de l'épicaudique ayant une repolarisation synchrone. La cartographie de voltage en repolarisation est inversée par rapport à celle observée lors de l'activation.

D'autres méthodes, déclinées à partir des techniques décrites ci-dessus, existent pour appréhender la repolarisation ventriculaire comme la dynamique de l'intervalle QT (à partir de données Holter ou d'épreuves d'effort) ou la surface de l'onde T (169).

3. Technique de mesure

Le principe de mesure de l'intervalle QT, entre le début du QRS et la fin de l'onde T, représente un concept simple. Cependant, plusieurs aspects techniques de cette mesure ne font toujours pas l'objet de consensus.

a) *La dérivation*

La mesure de l'intervalle QT a souvent été faite sur DII (178) ou sur la dérivation inscrivant l'intervalle QT le plus long (179). Mais c'est parfois une moyenne de l'intervalle QT de toutes les dérivations qui a été proposée (180), ou le choix de la dérivation comportant l'onde T la plus large (181) ou la fin de l'onde T la plus nette (182), ou enfin DI (183) ou V2 (184). Finalement, Cowan et coll. ont démontré que l'intervalle QT le plus long est retrouvé sur la dérivation précordiale V2 ou V3 (185). Le choix de cette dérivation paraît donc souhaitable. La mesure de la fin de l'onde T en V2 chez le jeune enfant n'est cependant pas facile compte tenu de la morphologie souvent biphasique de l'onde T et d'une onde U ample.

b) *La fin de l'onde T*

L'onde T (la phase lente de l'ECG) se termine par un retour progressif à la ligne de base. Il n'est donc pas surprenant que la source d'erreur de mesure principale de l'intervalle QT soit la détermination de la fin de T. Ce débat a débuté, il y a 50 ans, lorsque Lepeshkin et Surawicz (186) ont proposé un algorithme complexe permettant de distinguer l'onde T et l'onde U. La plupart des auteurs continuent à mesurer l'intervalle QT de manière manuelle, mais plusieurs publications font état de mesures automatiques grâce à des algorithmes informatiques. La prolifération des publications concernant la "dispersion de la repolarisation", évaluée à partir de l'ECG 12 dérivations, a accentué le volume de publications dévolues à la mesure de l'intervalle QT. Ainsi, la durée de l'intervalle QT augmente si la vitesse d'enregistrement du papier passe de 25 mm/s à 50 mm/s, et si l'amplitude passe de 5 mm/mV à 10 mm/mV (187). La variabilité de mesure intra- et inter-observateurs tourne autour de 5% (188). Le "Common Standard for quantitative Electrocardiography (CSE) working project", projet conduit dans les années 80 par Willems illustre le défi que représente la détermination du début du QRS et de la fin de l'onde T (189).

Les algorithmes de mesure automatique de l'intervalle QT devraient permettre de progresser dans le domaine de la reproductibilité des mesures. Les plus répandus sont basés sur la notion de seuil (190), où la fin de l'onde T correspond, par exemple, au moment où la pente descendante maximale de l'onde T croise la ligne de base. D'autres approches basées sur la morphologie de l'onde T ont été proposées (191). La corrélation entre les mesures manuelles et automatiques est évaluée de manière variable, tantôt faible (192), tantôt bonne (191), probablement du fait du manque de reproductibilité des mesures manuelles. La mesure automatique de l'intervalle QT est particulièrement utile lorsque des dizaines de milliers de battements doivent être pris en compte, comme cela est le cas des enregistrements Holter ECG (24 heures d'enregistrement correspondent à 100 000 complexes QRST, en moyenne) (175). Dans tous les cas, mesure manuelle ou automatique, la diminution d'amplitude de l'onde T réduit la précision de la mesure (187, 193), et les algorithmes de mesure automatique sont souvent perturbés par l'existence d'onde T bifides ou biphasiques. La difficulté de la mesure de l'intervalle QT à partir d'enregistrements Holter tient au fait que cet enregistrement soit réalisé tantôt au repos, tantôt lors d'activités physiques qui génèrent alors un signal bruité. Il est clair que la sélection de battements peu bruités facilite la mesure de la fin de T, cependant une sélection trop radicale des complexes pourrait aussi entraîner la disparition des informations les plus pertinentes, obtenues par exemple à l'occasion d'effort, et contenant inmanquablement des artefacts. L'augmentation du rapport signal/bruit peut être obtenue par le moyennage des données ("data averaging") et la mesure d'un seul complexe QRST

"représentatif" ("template"), mais une autre approche consiste à effectuer une approche "en série" ("serial approach"), c'est-à-dire la moyenne arithmétique de nombreux complexes. Dans un cas comme dans l'autre, un nombre minimum de 50 complexes est souhaité (194). Certains logiciels optent pour la mesure de l'intervalle QTm (ou de l'intervalle QTa) qui correspond à la durée entre le pic (ou le début) de QRS et le sommet (apex) de l'onde T (195), le sommet de l'onde T semblant, en première approche, plus facile à mesurer que la fin de l'onde T. Facilité qui peut disparaître en présence d'une onde T biphasique ou bifide (QT long congénital de type 2 par exemple). Cette approche est critiquable car l'onde T devient plus symétrique avec l'augmentation de la stimulation adrénergique, de telle manière que la fréquence-dépendance de l'intervalle QTm (sommet de T) est plus marquée que celle de QTo (fin de T) (17).

Enfin, tout processus prolongeant le temps de dépolarisation cardiaque, comme un bloc de branche, entraîne un allongement de la durée du QRS et donc de l'intervalle QT. La meilleure solution dans cette dernière situation semble être de mesurer l'intervalle JT (196) (le point J correspond à la fin du complexe QRS) de telle manière à ne pas introduire un biais de mesure indépendant des caractéristiques de la repolarisation ventriculaire.

4. Participation des gradients transmural et apico-basal

De nombreux laboratoires ont démontré que le mur myocardique était constitué de plusieurs couches cellulaires qui diffèrent selon leurs propriétés électrophysiologiques: les cellules épicaudiques, les cellules endocardiques, et entre ces dernières, les cellules M. Selon les données expérimentales obtenues par Antzelevitch à partir du modèle canin de "arterially-perfused wedge" (segment myocardique perfusé), les courants découlant des gradients électriques de part et d'autre des cellules M, donnent lieu à des différences de potentiels qui sont responsables du dérours de l'onde T sur l'électrocardiogramme de surface (34). Les rapports entre ces deux courants opposés rendent compte de la hauteur et la largeur de l'onde T, ainsi que de la pente ascendante et descendante de cette dernière, voire d'une éventuelle encoche ("notch") (**Figure 9**). Le gradient de voltage résulte d'un plateau de potentiel plus positif dans les cellules M que dans les cellules épicaudiques et endocardiques, ainsi que des différences dans le dérours de la phase 3 du potentiel d'action de ces trois types cellulaires. À l'état de base (mais aussi en présence d'un QT long), les cellules épicaudiques sont les premières à se repolariser, et les cellules M les dernières. La repolarisation des cellules épicaudiques coïncide avec le sommet de l'onde T, alors que celle des cellules M coïncide avec la fin de l'onde T. La durée du potentiel d'action des cellules M détermine, selon ce modèle, la durée de l'intervalle QT dans un grand nombre de circonstances, physiologiques ou pathologiques. Dans ces conditions, on suppose que la différence de durée entre la fin et le sommet de l'intervalle QT peut correspondre à une mesure indirecte de la dispersion transmurale de la repolarisation (197).

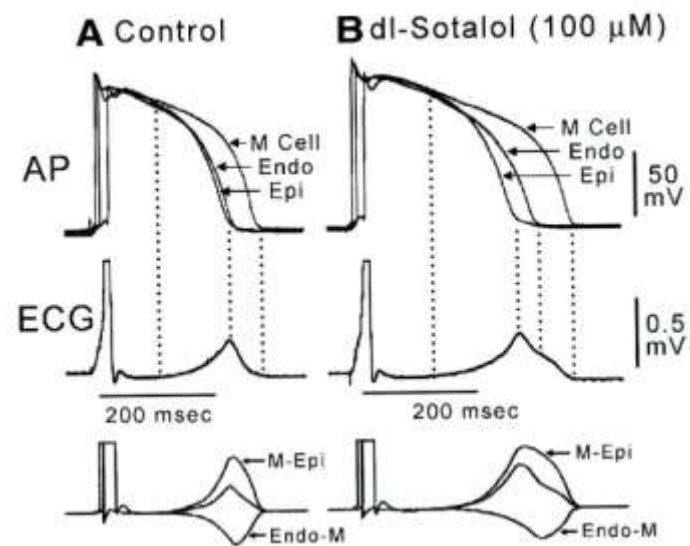


Figure 9. Potentiels d'action cellulaire et ECG transmurale à partir d'une préparation de segment myocardique canin perfusé. Le potentiel d'action (AP) est enregistré simultanément au niveau endocardique (Endo), épicaire (Epi) et midmyocardique (M) tant dans une situation contrôle (A), que après perfusion avec du dl-sotalol (B) à un cycle de stimulation identique. L'ECG est enregistré en transmyocardique. La partie descendante de l'onde T correspond à la repolarisation des cellules M. Les tracés du bas représentent le gradient de potentiel entre d'une part les cellules M et l'épicaire, et d'autre part les cellules M et l'endocarde. La sommation de ces deux gradients aboutit à un tracé proche de l'enregistrement de l'ECG transmyocardique. La perfusion de dl-sotalol allonge davantage la durée du potentiel d'action des cellules M que de l'endocarde et de l'épicaire entraînant la modification de durée et de morphologie de l'onde T, et une augmentation de la dispersion transmurale de la repolarisation (34).

D'autres études apportent des résultats différents. Ainsi Cohen et coll. ont publié en 1976 l'implication potentielle du gradient apico-basal dans la genèse de l'onde T (198), mais il faut aussi reconnaître que l'enregistrement de l'électrocardiogramme le long de l'axe apico-basal ne permet pas d'enregistrer d'onde T (199). De la même manière, l'enregistrement de l'électrocardiogramme dans l'axe longitudinal du segment myocardique découpé et perfusé selon la technique d'Antzelevitch donne un segment ST presque plat, alors que l'enregistrement effectué selon un axe transversal retrouve une onde T clairement dessinée (34). S'il existe de nombreuses publications documentant les cellules M *in vitro*, la plupart des études *in vivo* échouent à démontrer l'existence d'un gradient transmurale de repolarisation (136), en dehors de l'étude de El-Shérif et coll. effectuée sur des ventricules gauches de jeunes chiens (mesure de l'ARI) (135). Une récente étude de l'équipe de Rosen, réalisée dans des conditions non critiquables d'anesthésie, échoue elle aussi à démontrer *in vivo* un gradient transmurale de la repolarisation, mais objective clairement un gradient apico-basal (200). Il existe donc une polémique quant à la réalité du gradient transmurale de la repolarisation induit par l'existence des cellules M. *A fortiori*, les parts respectives des gradients transmurale et apico-basal ne sont pas encore clairement définies dans la genèse de l'onde T.

Signalons que les cellules M seraient également responsables d'une hétérogénéité de la repolarisation entre le ventricule gauche et le ventricule droit (201). La profondeur de l'encoche de phase 1 et l'intensité de I_{to} est plus importante dans l'épicaire du ventricule droit que dans l'épicaire du ventricule gauche. La responsabilité de cette hétérogénéité interventriculaire n'a pas été évaluée dans la genèse de l'onde T.

Selon les données *in vitro*, l'hétérogénéité transmurale de repolarisation ventriculaire pourrait également rendre compte de la surélévation du point J sur l'électrocardiogramme, encore appelé onde d'Osborn. Cette onde est plus ou moins marquée selon les espèces, mais peut être présente chez l'homme à l'état de base (202), tout en s'accroissant nettement dans deux circonstances pathologiques: l'hypothermie (203) et l'hypercalcémie (204). Selon le modèle d'Antzelevitch, cette onde est liée au gradient de potentiel existant entre d'une part les cellules M et les cellules épicaudiques, dont le dérours du potentiel d'action est marqué par une encoche en phase 1, et d'autre part les cellules endocardiques dépourvues de cette encoche (205). Rappelons que cette encoche en phase 1 du potentiel d'action est la conséquence du courant I_{to} , qui est justement accru dans les circonstances pathologiques qui majorent l'aspect de l'onde d'Osborn (206). On peut aussi observer que seule une séquence de dépolarisation physiologique, c'est-à-dire de l'endocarde vers l'épicarde, permet de reconstituer l'onde d'Osborn dans le modèle d'Antzelevitch. Si la dépolarisation s'effectue de manière anti-physiologique, le gradient de potentiel est masqué par la phase 0 et 1 des cellules endocardiques, et l'onde d'Osborn s'aplatit (206). De manière similaire, le temps de conduction transmurale ne doit pas être trop rapide (ou la paroi myocardique pas trop fine), faute de quoi l'on observe également une diminution de l'onde d'Osborn, ce qui explique également l'absence de cette onde dans les précordiales droites (204). L'onde d'Osborn pourrait être le résultat du gradient de distribution transmurale du courant I_{to} .

5. La dispersion de la repolarisation sur l'ECG standard

La dispersion de l'intervalle QT est habituellement définie par la différence entre l'intervalle QT le plus long et celui le plus court à partir d'un ECG 12 dériviations. Elle est de l'ordre d'une vingtaine de millisecondes chez le sujet normal. La constatation d'une différence de durée de l'intervalle QT selon la dérivation enregistrée date quasiment de la découverte de cette technique (207). Le fort regain d'intérêt à l'étude de ce phénomène date de l'article de l'équipe de Campbell en 1990 (208) qui suggère que la dispersion de QT pourrait refléter des différences régionales dans la durée du potentiel d'action, donc une hétérogénéité des périodes réfractaires, et donc un possible marqueur arythmogène. Le concept de base consiste à supposer que chaque dérivation représente préférentiellement l'activité électrique du myocarde adjacent. Cette hypothèse a été renforcée par quelques travaux expérimentaux comparant la dispersion de QT et une cartographie épicaudique *in vitro*, ainsi qu'une corrélation avec la dispersion des potentiels d'action monophasiques (209, 210).

La mesure de la dispersion de QT se fait rapidement et ne nécessite pas d'appareillage sophistiqué. C'est certainement une des raisons qui a favorisé une grande productivité d'articles cherchant à démontrer la valeur de ce paramètre en tant que facteur de risque arythmogène. Mais de nombreux doutes ont progressivement émergé remettant en question le substrat conceptuel, c'est-à-dire le lien entre dispersion de QT et hétérogénéité des périodes réfractaires (211). Pour résumer, il est fortement probable que la dispersion de QT représente principalement la combinaison d'erreurs de mesures et d'une morphologie anormale. En effet, la reproductibilité des mesures intra ou inter-observateurs n'est pas bonne (188) et il existe une large fourchette de valeurs normales (212). Par ailleurs, la projection d'un seul et même dipôle issu d'une boucle VCG de T dans différentes dériviatiions est à même de produire artificiellement une "dispersion de QT", alors qu'il est évident que l'hétérogénéité régionale des périodes réfractaire ne peut être ici que nulle (213, 214). Kors et coll. ont conclu que la dispersion de QT était liée à des projections différentes de la partie terminale de la boucle VCG de l'onde T dans les différentes dériviatiions de l'onde T (215). Ainsi, une "augmentation de la dispersion de QT" représente dans le meilleur des cas une anomalie non spécifique de la morphologie de la boucle VCG de l'onde T. Nul n'est besoin d'évoquer une dispersion régionale de la repolarisation pour expliquer ce phénomène. Enfin signalons que un grand

nombre d'auteurs ont "corrigé" la dispersion de QT en utilisant la formule de Bazett, alors qu'il a été démontré plus tard que ce paramètre était relativement indépendant de la fréquence cardiaque (216).

Ces observations, finalement décevantes, n'impliquent pas que la "dispersion de QT" ne comporte aucune information utile. Il existe peu de doute qu'il existe une augmentation de la dispersion de QT dans le syndrome du QT long (de l'ordre de 80 ms) ou acquis (208, 217, 218). La dispersion de QT est augmentée chez les patients porteurs du syndrome et développant des troubles du rythme (208), en présence d'épinéphrine (218), et diminue chez les enfants porteurs du syndrome après traitement β -bloquant (219). L'utilité clinique de la "dispersion de QT", au-delà de ses restrictions méthodologiques et physiopathologiques, est pour l'instant limitée et reste à démontrer par la réalisation d'études prospectives de grande envergure. D'autres approches, également basées sur l'analyse d'un seul battement (par opposition à l'étude de la dynamique temporelle de la repolarisation), ont vu le jour dans le domaine du syndrome du QT long (par exemple, "spatial T-wave complexity"), mais restent d'un développement relativement confidentiel (220).

D. Régulation non médicamenteuse

1. Cycle cardiaque

Le cycle cardiaque est un déterminant majeur de la durée de l'intervalle QT. Plus le cycle se raccourcit (ou plus la fréquence cardiaque s'accélère), plus l'intervalle QT se raccourcit également. L'existence d'une repolarisation ventriculaire longue au repos, et donc d'une période réfractaire longue, empêche la fusion de contractions successives (tétanos sur un muscle strié squelettique) qui serait impropre au bon fonctionnement de la pompe cardiaque. Le raccourcissement de l'intervalle QT, donc de la période réfractaire, lors du raccourcissement du cycle cardiaque rend possible l'augmentation de fréquence des battements cardiaques, par exemple lors d'un effort. Ces données sont connues depuis des décennies. Weidman a démontré en 1956 que l'augmentation rapide du potassium extracellulaire entraînait un raccourcissement de la durée du potentiel d'action cellulaire cardiaque (221). À l'étage moléculaire, ce phénomène semble être principalement lié à une désactivation incomplète du courant I_{Ks} lorsque le cycle se raccourcit (222). D'autres facteurs comme l'inhibition partielle de $I_{Ca,L}$ et l'augmentation de I_{to} du fait de l'accumulation de calcium intracytoplasmique, l'activation de I_{K1} secondaire à l'augmentation de potassium extracellulaire (inhibition des récepteurs muscariniques) participent au phénomène.

Compte tenu de la dépendance de l'intervalle QT à la fréquence, l'utilisation de formules de correction de l'intervalle QT s'est généralisée. L'objectif est de pouvoir comparer 2 mesures de QT entre elles indépendamment des variations de cycle cardiaque, ou encore de poser le diagnostic d'allongement du QT, malgré un cycle cardiaque long. Les formules de correction, telles qu'elles sont conçues chez l'homme, donnent, toutes, la valeur théorique de l'intervalle QT (appelé QT corrigé, ou QTc) pour un cycle cardiaque de 1000 millisecondes, soit une fréquence cardiaque de 60 par minute. La formule de Bazett (racine carrée) a été proposée il y a plus de 80 ans (223), et reste encore la plus utilisée. De nombreuses autres formules ont été proposées, toutes publiées à partir de données standard, c'est-à-dire d'enregistrement ECG de repos. Parmi celles-ci on note la formule de Fridericia (racine cubique) (224), celles de Sagie (Framingham) (225) linéaire, ou de Sarma (mono-exponentielle) (226).

Il est connu que la formule de Bazett "sur-corrige" l'intervalle QT à cycle court, en d'autre terme donne un intervalle QTc plus long qu'il ne l'est réellement si le cycle cardiaque était de 1000 ms (227). La formule de Fridericia donne une correction de meilleure qualité, tant sur l'ECG standard (au repos) (228) que sur des enregistrements ambulatoires (191). La relation QT-RR obtenue lors des épreuves d'effort est de nature exponentielle (229). L'usage de

formules de correction en dehors des circonstances relativement restreintes dans lesquelles elles ont été étudiées semble en réalité critiquable. Un exemple démonstratif est celui des variations circadiennes de l'intervalle QT que l'on observe chez un patient dépendant d'un stimulateur cardiaque et dont la fréquence cardiaque est fixe tout au long des 24 heures (26) (**Figure 10**). L'intervalle QT s'allonge d'environ 30 millisecondes la nuit, traduisant les modifications de l'équilibre neurovégétatif avec une prédominance nocturne du tonus vagal (230). Aucune formule de correction n'a, à ce jour, intégré les variations de l'intervalle QT liées aux variations de l'équilibre neurovégétatif, pas plus que celles qui sont provoquées par n'importe quel autre facteur modulant la repolarisation ventriculaire indépendamment des variations de fréquence cardiaque, comme les troubles ioniques, les canalopathies, ou l'ischémie myocardique, ce qui réduit de ce fait leur usage. De même, il persiste des variations de l'intervalle QTc sur les enregistrements Holter démontrant d'une manière différente le caractère imparfait des formules de corrections (alors qu'une formule "parfaite" devrait donner une valeur de QTc fixe sur 24 heures).

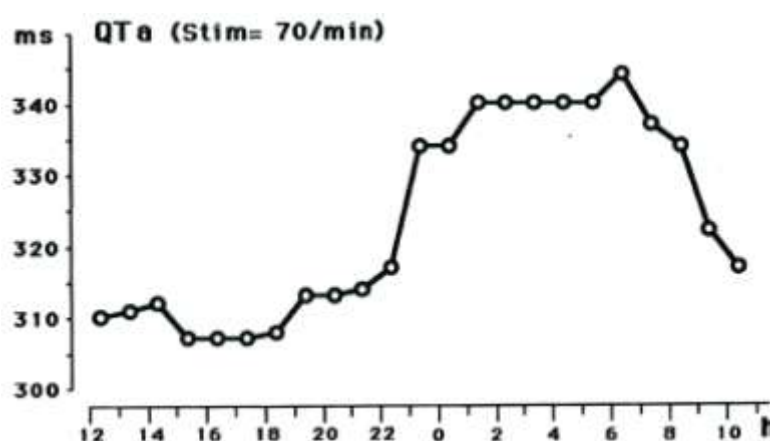


Figure 10. Variation de la durée de l'intervalle QT indépendante des variations de fréquence cardiaque. L'intervalle QTa (début de QRS-apex de T) varie de 30 ms environ au cours de 24 heures chez un patient porteur d'un stimulateur cardiaque dont la fréquence est fixée à 70/mn (26).

Malik a démontré que la relation liant l'intervalle QT à l'intervalle RR variait d'un individu à l'autre, et qu'une formule de correction devait ainsi être idéalement une donnée individuelle et personnalisée, calculée à partir de la relation QT-RR (231). Cependant, les variations de la durée du potentiel d'action ou de l'intervalle QT en fonction des variations du cycle ne se font pas de manière instantanée, mais comportent une certaine inertie. Ce phénomène, progressif, s'intercalant entre deux états stables ("steady-states"), est appelé courbe de restitution électrique et a été bien étudié par Franz en utilisant la technique de MAP chez l'homme (232). La courbe comporte une allure exponentielle, et l'intervalle QT s'adapte aux variations de fréquence en 2 phases. Une première phase d'adaptation rapide correspond à plus de 50% des variations attendues de l'intervalle QT et prend 1 minute, la deuxième phase étant plus lente et pouvant prendre plusieurs minutes (233). En d'autres termes, la relation QT-RR diffère selon que les données sont recueillies dans un environnement de fréquence stable ou instable, et en conséquence la formule de correction de l'intervalle QT ne peut être identique dans ces deux cas (191). Le phénomène d'hystérésis (234, 235) complique encore la courbe de restitution électrique. L'intervalle QT s'adapte en effet plus rapidement en présence d'une accélération de la fréquence cardiaque qu'en présence d'une décélération (233). La cinétique d'adaptation du QT à la fréquence ainsi que l'hystérésis semblent indépendants de la valeur de départ de la fréquence, ainsi que de l'amplitude de variation de la fréquence. L'existence de raccourcissement paradoxal de l'intervalle QT après une pause prolongée a

aussi été rapportée (236). Finalement, les mécanismes physiologiques qui sous-tendent la courbe de restitution et l'hystérésis restent incompris.

On peut concevoir l'application d'une formule de correction à une population, dès lors que l'on accepte une certaine marge d'erreur, et à condition de respecter des conditions de recueil de l'information électrique, qui correspondent aux conditions dans lesquelles la formule de correction a été validée. Par contre, l'étude individuelle de la repolarisation ventriculaire implique davantage une étude individuelle de la dynamique de l'intervalle QT, c'est-à-dire de la relation QT-RR (17).

L'étude de la relation QT-RR est rendue difficile par le fait que l'intervalle QT et l'intervalle RR sont dépendants des variations de la balance neurovégétative. Le raccourcissement de l'intervalle QT induit par un raccourcissement du cycle cardiaque ne peut pas être dissocié de l'effet direct de l'influence du système nerveux autonome (SNA) sur la repolarisation ventriculaire. Ainsi, les différentes approches non sélectives de la relation QT-RR, qui mêlent l'influence des variations de la fréquence cardiaque et du SNA, aboutissent à une relation curvilinéaire, de type exponentielle. Ce sont les cas des études qui se basent sur les épreuves d'effort (226, 237) ou sur la manœuvre de Valsalva (17) pour définir de nouvelles formules de correction de QT. Ici, et sauf particularité du protocole, la repolarisation ventriculaire est en situation d'adaptation continue. Or l'instabilité de la balance neurovégétative peut donner lieu à un comportement inhabituel de la repolarisation ventriculaire, comme, par exemple, l'allongement paradoxal et transitoire que l'on observe lors d'un à-coup adrénergique (238). Ces limitations sont moins importantes lors de la réalisation d'un tilt-test où les variations de fréquence cardiaque sont plus faibles, et où l'on étudie 2 situations relativement stables sur le plan neurovégétatif, l'orthostatisme et le décubitus. On a pu alors observer un allongement moyen de l'intervalle QT de 23 ms en décubitus, lorsque les mesures sont effectuées pour des mêmes valeurs de cycles cardiaque, évitant donc le biais potentiel d'une formule de correction (239).

Les approches sélectives de la relation QT-RR ont pour objectif de dissocier au maximum les effets intrinsèques de la fréquence cardiaque, des effets directs du SNA. Le contrôle de la fréquence cardiaque peut être obtenu par des *techniques d'électrophysiologie invasive*, mais dont la portée est limitée à la fois par la nature invasive et la faible durée. L'étude de patients chez lesquels ont été implantés des *stimulateurs cardiaques* représente une cohorte de sujets représentatifs d'une population bien particulière. La technique de *Holter* permet d'étudier des populations très diverses, et sur des durées prolongées (17). La stimulation endocavitaire à fréquence fixe représente un moyen pratique pour étudier la fréquence dépendance de l'intervalle QT. Plusieurs études, à commencer par celle de Ahnve (240), puis celles de Milne (26), Dickhuth (241), et Cappato (242) ont retrouvé une relation QT-RR linéaire à partir de petits groupes (10 à 20) de sujets sains. La pente de cette droite était autour de 0,160, à l'exception de Cappato qui retrouvait une pente à 0,220 (mais avec des sujets plus jeunes, et avec un protocole de stimulation plus court). Fananapazir (243) a retrouvé des pentes plus marquées lorsqu'elle étaient obtenues par stimulation auriculaire, et non ventriculaire. Enfin Horstmann (244) a confirmé, l'existence d'un délai d'adaptation de l'intervalle QT d'environ une minute lors de l'accélération de la fréquence, chez des patients porteurs de stimulateurs cardiaques asservis à la durée de l'intervalle QT.

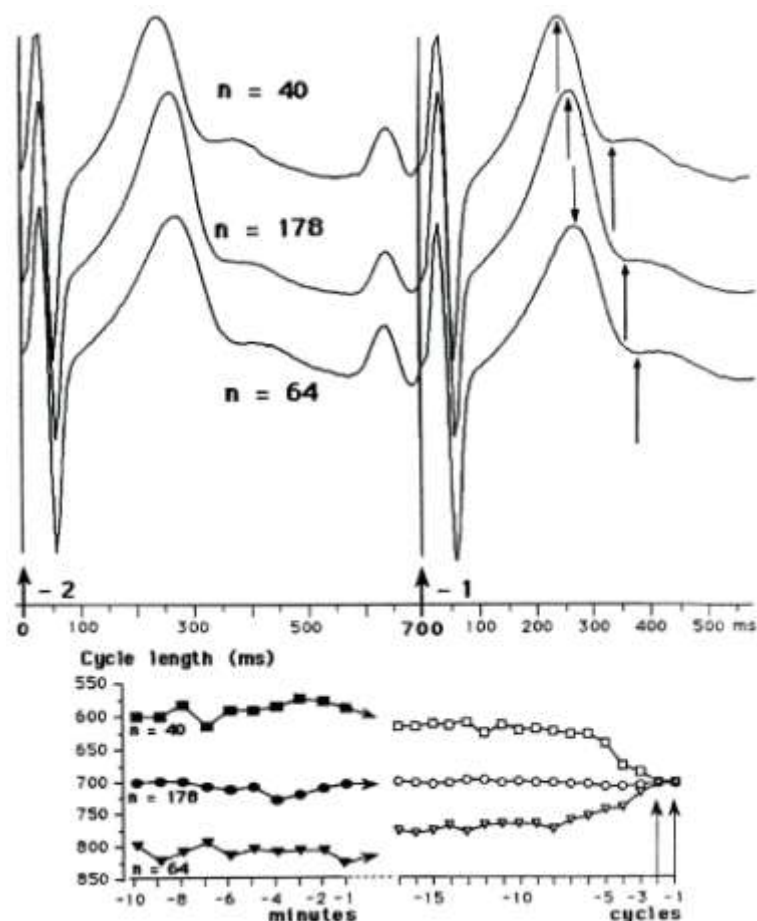


Figure 11. Influence de l'environnement de la fréquence cardiaque sur la valeur de l'intervalle QT. Trois populations de complexes QRST ont été sélectionnées au sein d'un enregistrement Holter de telle manière que la valeur du cycle qui les précède est identique, mais leur environnement de fréquence varie. Cet environnement de fréquence influence la durée de l'intervalle QT (17).

L'enregistrement Holter est une technique bien adaptée à l'étude non invasive de l'intervalle QT, car la sélection des complexes peut être faite selon la fréquence ou selon le moment de la journée, de telle manière que ces facteurs peuvent être étudiés indépendamment. Les périodes d'activité et de sommeil devraient être étudiées séparément (245, 246), et parfois également la période de réveil. La durée de l'intervalle QT est différente pour une même valeur du cycle cardiaque, selon la période pendant laquelle il est sélectionné (**Figure 11**) (17). Ce type de comparaison permet de plus d'éviter l'usage de formule de correction. On a ainsi étudié les variations circadiennes de l'intervalle QT à la fréquence de 60/mn (ΔQT_{60}). Cette différence, mesurée chez des sujets sains, est assez fixe selon les études, entre 16 et 19 ms (173, 175, 191, 246-248). La disparition de ces différences chez des patients transplantés cardiaques témoigne de l'influence potentielle du système nerveux autonome (249, 250).

Les variations de la dynamique de l'intervalle QT, c'est-à-dire de la relation QT/RR, peuvent aussi être étudiées selon les différents moments du nyctémère. L'école de Lariboisière a proposé d'appliquer à la relation QT-RR et au Holter, le concept de restitution électrique (175, 251). En pratique les complexes QRST sont sélectionnés grâce à un algorithme qui prend en compte à la fois la valeur du cycle cardiaque précédent, mais aussi l'environnement de fréquence qui précède le battement en question (**Figure 10**). Nous avons étudié la relation QT-RR, à partir de banques de données Holter enregistrées chez des sujets

sains, en utilisant les complexes QRST "tout venant", c'est-à-dire dans un environnement de fréquence quelconque (absence d'état stable ou "non steady-state"), ou en sélectionnant les complexes QRST dans un environnement de fréquence stable (état stable ou "steady-state") (191). Nous avons observé que la sélection de complexes QRST à l'état stable permettait de linéariser la relation QT-RR qui, en l'absence de cette sélection, était curvilinéaire. De plus, la pente de relation QT-RR à l'état stable est toujours plus marquée qu'en l'absence d'état stable. Dans tous les cas, à l'état stable ou non, la fréquence dépendance de l'intervalle QT (la pente QT-RR) est plus marquée le jour que la nuit. L'analyse de la relation QT-RR sur l'ensemble des 24 heures, à l'état stable ou non, donne une idée plus fautive qu'approximative sur la réalité de la fréquence dépendance de QT (175, 191).

2. Système nerveux autonome

Le système nerveux autonome contrôle la fréquence cardiaque et la contractilité myocardique à travers les variations du tonus nerveux sympathique et parasympathique. L'exercice ou le stress stimule l'activité sympathique ce qui entraîne une augmentation rapide et importante de la fréquence cardiaque, qui est associée à une diminution concomitante de la durée du potentiel d'action, et donc de l'intervalle QT, de telle manière à assurer un temps de remplissage diastolique adéquat.

Un rappel *anatomique* et *physiologique* du système nerveux autonome cardiaque est donné en annexe.

a) À l'échelle de la protéine et de la cellule

La régulation des courants ioniques des cellules cardiaques par le système nerveux autonome provoque des modifications des potentiels d'action cardiaque, et finalement est responsable de modification de la performance cardiaque. La stimulation sympathique, par la libération d'épinéphrine et de norépinéphrine, comporte des effets chronotrope positif, accélère le temps de conduction, et augmente la contractilité myocardique. À l'inverse, la stimulation parasympathique, par la libération d'acétylcholine, comporte des effets chronotrope négatif, ralentit le temps de conduction, et diminue la contractilité myocardique.

La *stimulation adrénergique* β est connue pour augmenter plusieurs courants ioniques: le courant entrant calcique $I_{Ca,L}$, et les courants sortants potassique I_{Ks} . L'augmentation de I_{Ks} tend à raccourcir la durée du potentiel d'action, alors que l'augmentation de $I_{Ca,L}$ tend à l'augmenter (252). *In vivo*, la stimulation sympathique entraîne un raccourcissement de la durée du potentiel d'action et une diminution de la dispersion des périodes réfractaires sur le myocarde ventriculaire canin, correspondant donc à une augmentation des courants sortants par rapport au courant entrant (253). Ces données ne sont cependant pas retrouvées lorsque le courant I_{Ks} est bloqué, ou "down régulé" (infarctus du myocarde). Ainsi, sur du myocarde canin perfusé, le blocage de I_{Ks} par du chromanol 293B aboutit à un allongement attendu du QT et de la durée du potentiel d'action sur l'ensemble des couches myocardiques, mais n'élargit l'onde T et n'entraîne pas de torsades de pointes. La même expérience effectuée en présence d'isoprotérénol (agoniste β_1 et β_2), raccourcit la durée du potentiel d'action des cellules endocardiques et épicaudiques, mais pas celle des cellules M, aboutissant alors à un élargissement de l'onde T et à une augmentation importante de la dispersion de la repolarisation (115). Ce comportement est vraisemblablement lié à une augmentation du courant I_{Ks} résiduel dans les cellules épicaudiques et endocardiques, mais pas dans les cellules M où I_{Ks} est intrinsèquement faible. Des torsades de pointes, spontanées ou provoquées par la stimulation, n'étaient observées dans cette expérience qu'en présence de 293B et d'isoprotérénol. Ces données illustrent le potentiel arythmogène de la stimulation sympathique en présence d'une diminution du courant I_{Ks} comme on peut l'observer chez les sujets porteurs du syndrome LQT1.

Le phénomène d'antagonisme accentué est décrit à l'échelon cellulaire, et des différences de comportement ont été retrouvées selon que l'on examine les couches épicaudiques ou endocardiques (206). En l'absence de catécholamines, l'acétylcholine n'exerce aucun effet sur les cellules endocardiques de chien, alors qu'elle entraîne un effet franc au niveau épicaudique (254). De faibles concentrations d'acétylcholine diminuent la pente ascendante de la phase 2 de ces cellules ("dome"), et augmentent par conséquent l'encoche de la phase 1 ("notch"). Globalement, on observe alors une prolongation de la durée du potentiel d'action. À l'inverse, de plus fortes concentrations d'acétylcholine peuvent aboutir à un raccourcissement marqué de la durée de ce potentiel. Ces effets de l'acétylcholine sur les cellules épicaudiques sont accentués en présence d'isoprénaline, et d'autant plus que la dose augmente. Bien que l'acétylcholine n'ait aucun effet sur I_{to} (255), ces phénomènes disparaissent en présence de 4-aminopyridine, mais aussi en présence d'atropine. Ils impliquent possiblement une inhibition de I_{Ca} et/ou une activation de I_{KACH} . Un effet direct de la stimulation vagale a déjà été rapporté chez l'homme (256).

L'isoprénaline produit également des effets différents sur l'épicaud et l'endocarde. Les catécholamines atténuent l'encoche de phase 1 des cellules épicaudiques du fait de l'augmentation qu'elles induisent sur le courant I_{Ca} , et diminuent de ce fait la durée du potentiel d'action. De ce fait également, le potentiel d'action des cellules épicaudiques se raccourcit plus que celui des cellules endocardiques. On note cependant que les catécholamines exercent une influence sur tous les courants majeurs intervenant dans les phases 1 et 3 du potentiel d'action, dont I_{to} , I_{Ca} , I_K , et I_{Cl} (activé par l'AMPc et le Ca) (158, 257, 258).

i) Courant sodique

Le clonage du canal sodique a permis de mettre en évidence plusieurs sites de phosphorylation. Des expériences *in vitro* on démontré qu'il existait 3 sites de phosphorylation sur la boucle intracytoplasmique située entre le 1^{er} et le 2^{ème} domaine de la sous-unité α . Ces sites peuvent être phosphorylés par l'AMPc dépendante de la protéine-kinase A, ce qui provoque une diminution de 50% de l'intensité du courant, sans modifier la cinétique ou la voltage-dépendance du courant. Le courant sodique peut être modulé par d'autres cascades enzymatiques, en particulier au niveau d'un deuxième site de phosphorylation dépendant de la protéine kinase C. Ce site est situé sur la boucle intracytoplasmique entre le 3^{ème} et 4^{ème} domaine de la sous-unité α , déjà porteuse de la porte d'inactivation "h". La phosphorylation entraîne une diminution de l'amplitude du courant et un ralentissement de l'inactivation (15).

ii) Courant calcique de type L

La régulation des canaux calciques de type L est supposée jouer un rôle majeur dans les effets inotrope et chronotrope positifs induits par la stimulation sympathique. Les catécholamines entraînent un déplacement du plateau du potentiel d'action des cellules ventriculaires vers des valeurs plus positives, et augmentent la pente de dépolarisation diastolique lente des cellules automatiques. Ces effets ont été rattachés à une augmentation du courant calcique de type L, et non de type T. L'augmentation de ce courant est sous la dépendance de l'activation d'une protéine G, de manière directe ou de manière indirecte grâce au deuxième messager, l'AMPc. Comment la phosphorylation du canal peut-elle induire une augmentation d'amplitude du courant? Grâce aux études réalisées en patch, il est apparu que l'augmentation du courant provoquée par la stimulation adrénergique était liée à une augmentation de la probabilité d'ouverture du canal. La stimulation des récepteurs muscariniques par l'acétylcholine produit une diminution de la conductance de $I_{Ca,L}$ sans modifier la cinétique du canal sur les cellules nodales. À l'état de base, et sur des cellules cardiaques isolées, la stimulation muscarinique est de peu d'effet sur le courant calcique. Cependant, l'effet de la stimulation muscarinique apparaît et augmente lorsque le courant

calcique est lui-même soumis à une stimulation adrénergique. Cette inhibition fait partie du phénomène d'antagonisme accentué de la stimulation vagale par rapport à la stimulation sympathique. Le site de cette inhibition implique probablement une protéine G_i qui vient inhiber l'adénylate cyclase (15).

iii) Courant potassique retardé rectifiant

Le courant potassique retardé rectifiant est modulé par la stimulation sympathique. En présence d'une stimulation adrénergique, seules les variations de I_{Ks} sont responsables des variations de I_K . Cet effet pourrait être lié à la protéine-kinase A, et il existe en voltage-clamp un décalage de l'activation vers des potentiels plus négatifs (**Figure 12**). D'après les expériences réalisées en patch-clamp, il semble que l'augmentation de I_{Ks} induite par la stimulation β soit liée à une augmentation de la probabilité d'ouverture du canal. Des expériences effectuées sur des cellules de Purkinje ont retrouvé une augmentation de la conductance du canal induite par la stimulation β , associée avec une accélération de l'activation, et un décalage négatif de la courbe d'activation (259). De même que pour le courant $I_{Ca,L}$, il existe avec I_{Ks} un antagonisme accentué du système parasympathique. Le site de cet antagonisme est aussi *situé en amont de l'activation de la protéine-kinase A par l'AMPC*. Le courant I_K est également modulé par la protéine-kinase C qui pourrait phosphoryler le canal sur un autre site. Ainsi, contrairement à la protéine-kinase A, la protéine-kinase C ne provoque pas de déplacement du niveau de potentiel de la courbe d'activation, mais en modifie sa courbe (15).

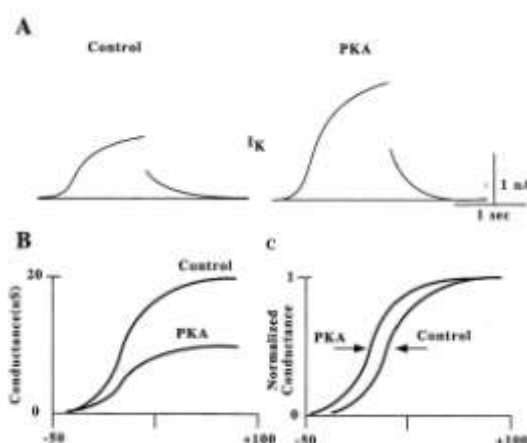


Figure 12. Régulation du courant potassique retardé rectifiant (I_K) par la stimulation sympathique. A. La protéine kinase A (PKA) augmente l'amplitude de I_K . B. La protéine kinase A diminue la conductance de I_K . C. La protéine kinase A décale la courbe d'activation vers des valeurs plus négative (15).

iv) Courant I_f

La stimulation adrénergique entraîne une augmentation du courant I_f (absent des myocytes ventriculaires) associée à un déplacement de la courbe d'activation vers des valeurs plus positives. Les études en patch-clamp montrent que cet effet est lié à une augmentation de la probabilité d'ouverture des canaux. Il semble par ailleurs que certaines cellules du nœud sino-auriculaire soient douées d'une plus grande sensibilité à la stimulation β adrénergique que d'autres. Il est possible que le rôle de I_f soit de transformer un site de pacemaker accessoire en site de stimulation principal sous l'impulsion de l'augmentation de I_f . La stimulation muscarinique entraîne un déplacement de la courbe d'activation dans le sens opposé à celui de la β stimulation. L'inhibition de I_f par l'acétylcholine est supprimé par la

pertussis toxine suggérant l'implication d'une protéine G, qui elle-même agit par l'intermédiaire d'un second messager, en l'occurrence une diminution de l'AMPc (15).

v) *Régulation sympathique des protéines canalaire*s

La régulation des protéines canalaire par la stimulation sympathique s'effectue par l'intermédiaire d'une "compartementalisation" de la protéine kinase A AMPc dépendante et de protéine phosphatases, obtenue par l'association avec des protéines d'accroche, les AKAPs (A Kinase Anchoring Proteins) (21). Les AKAPs sont des protéines de structure diverse dont la fonction commune est l'accrochage de protéine kinase A et C (PKA et PKC), ainsi que de la protéine phosphatase 1 (PP1) (260). L'accrochage de ces AKAPs avec d'autres protéines partenaires permet aux enzymes de régulation d'être présentes à haute concentration sur le site de localisation du substrat dans la cellule (261). Des complexes de signalisation sont également formés et sont indispensables à la coordination des différentes séquences. La modification de ces complexes peut provoquer un déséquilibre de la régulation de la voie de signalisation.

Marx et coll. ont été les premiers à mettre en évidence la coordination de la régulation protéine-protéine via un complexe appelé Leucine/Isoleucine Zipper (LIZ) dans le cas du canal calcique et des récepteurs à la ryanodine RyR2 (262). Ce domaine LIZ est une structure α -hélicoïdale comportant la répétition de 7 acides aminés de type (abcdefg)_n, les résidus a et d étant hydrophobes. Le même type de régulation s'applique également au canal potassique KCNQ1/KCNE1, et ce mode de régulation a été étudié par des expériences de mutagenèse (263). La substitution de un ou plusieurs "d" par une alanine diminue la fonction de médiation du complexe sans modifier la structure en hélice.

Il est maintenant reconnu que le fonctionnement du canal potassique KCNQ1/KCNE1 est coordonné par la liaison avec la protéine cible yotiao par l'intermédiaire d'un motif de type LZ au niveau de l'extrémité C terminale de KCNQ1 (264). Les enzymes PKA et PP1 qui se lient à yotiao et sont recrutés directement pour réguler le canal par phosphorylation de KCNQ1 sur un résidu aminé Ser (**Figure 13**) (265). La conséquence en est une augmentation importante de l'activité de ce canal, un décalage de l'activation du canal vers des valeurs hyperpolarisées, et une diminution de la vitesse de désactivation (21). Ainsi la stimulation sympathique entraîne une augmentation de la réserve de repolarisation qui permet de contrer l'augmentation du courant entrant calcique. Les mutations héritées, comme les mutations dirigées, peuvent supprimer la liaison entre le motif LZ de KCNQ1 et yotiao, sans modifier la structure α -hélicoïdale de la protéine. La mutation G589D sur la position "e" du motif LZ perturbe la liaison de yotiao à KCNQ1, et de ce fait supprime la régulation sympathique de ce canal (266). Ainsi, les patients atteints de syndrome LQT1, et porteurs de cette mutation, présentent une régulation anormale de l'intervalle QT lors des épisodes de "mental stress" ou à l'épreuve d'effort (267).

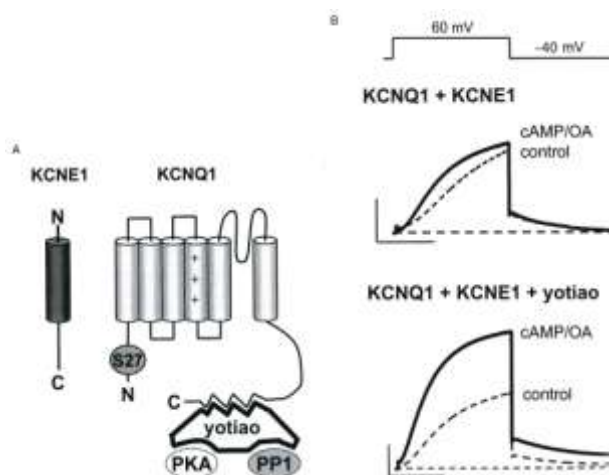


Figure 13. *A. Complexe macromoléculaire associant KCNE1, KCNQ1, et yotiao. B. Enregistrement des potentiels de membrane en l'absence (control) et en présence du complexe intra-cellulaire AMPc – acide okadaïque dans des cellules transfectées avec KCNE1-KCNQ1 (en haut) ou KCNE1-KCNQ1-yotiao (en bas). La transfection des cellules avec yotiao est nécessaire à la régulation des courants exprimés (21).*

Kurokawa et coll. ont démontré que l'expression de la réserve de repolarisation de KCNQ1/KCNE1 sous l'influence de la stimulation sympathique nécessitait à la fois la présence de la sous-unité α KCNQ1 et sa sous-unité régulatrice KCNE1, même si la phosphorylation de KCNQ1 n'était pas dépendante de KCNE1 (268). En particulier, en l'absence de KCNE1, la phosphorylation de KCNQ1 ne provoque pas de déplacement du seuil d'activation vers des valeurs hyperpolarisées. Ainsi, le rôle de transduction de KCNE1 peut être perturbé chez les patients atteints de LQT5, et représente un exemple de découplage des signaux entre le cerveau et le cœur dans le syndrome du QT long. C'est le cas de la mutation D76N sur KCNE1.

On voit donc que les mutations G589D et D76N représentent deux exemples de perturbation de la régulation sympathique responsable de deux formes de syndrome de QT long. Dans les deux cas, il existe un déséquilibre favorable au courant calcique dépolarisant, et pouvant aussi favoriser des mécanismes arythmiques impliqués dans la genèse des torsades de pointes: les post-dépolarisations précoces (269).

b) À l'échelle de l'organe

L'étude de l'influence du système nerveux autonome sur la repolarisation ventriculaire a donné lieu à de nombreuses données, et de nombreuses contradictions, liées au moins en partie à des protocoles d'étude très divers. L'usage de diverses formules de correction, donnant lieu selon le cas à une surestimation ou une sous-estimation de la valeur de QT rend l'analyse des données encore plus difficile.

L'intervalle QTc s'allonge la nuit d'une valeur qui est assez discordante selon les études, environ 30 ms pour Ong (230), mais 95 ms pour Molnar (270). La variation de posture, le décubitus par rapport à l'orthostatisme, ainsi que les séjours prolongés dans l'espace allongent également l'intervalle QTc (271, 272).

Quelques études ont tenté de s'affranchir de l'influence de la fréquence cardiaque et du SNA en effectuant des mesures de QT à une même valeur de cycle et après blocage pharmacologique du SNA (273). Les comparaisons interindividuelles peuvent être rendues difficiles par le fait que la réponse d'un individu donnée à un blocage pharmacologique du SNA peut dépendre de l'équilibre préexistant de la balance neurovégétative (274). Cependant, on a pu observer que la stimulation sympathique allongeait l'intervalle QTc alors que le β -

blocage le raccourcissait. Le même raisonnement peu s'appliquer à la stimulation α -adrénergique. Par contre le blocage parasympathique allonge aussi l'intervalle QTc. À l'inverse, Browne retrouve un allongement de l'intervalle QTc après β -blocage (propanolol), et un raccourcissement après blocage du SNA (246).

L'étude des variations du SNA chez des patients dont la fréquence cardiaque est contrôlée par stimulation endocavitaire apparaît plus sûre au niveau méthodologique. Selon Ahnve, le β -blocage (propranolol) ne modifie pas de manière significative la durée de l'intervalle QT lorsque la fréquence cardiaque est maintenue constante (240). Par contre, le blocage parasympathique (atropine) induit un raccourcissement de l'intervalle QT (5%) indépendant de la valeur de la fréquence, chez les sujets préalablement β -bloqués. Il conclut que l'activité cholinergique comporte un effet direct sur la repolarisation ventriculaire. Cappato conclue lui aussi un à effet direct probable de la stimulation vagale sur la repolarisation ventriculaire: en effet, la pente de la relation QT/RR ($0,22 \pm 0,12$) n'est pas modifiée par le β -blocage, mais est significativement plus faible après blocage du SNA ($0,10 \pm 0,04$) (242). Dans cette étude, l'intervalle QTc était significativement plus court après β -blocage qu'à l'état de base, alors que l'on ne retrouvait aucune différence après blocage du SNA. Mais à valeur de cycle cardiaque égale, les résultats sont différents, avec un allongement de l'intervalle QT sous β -blocage, et un raccourcissement après blocage du SNA. Cependant la plupart des études testant l'influence du β -blocage à court terme sur l'intervalle QT, ne retrouvent aucune effet sur la repolarisation ventriculaire (243, 246, 247). Par contre, la prescription chronique de β -bloquants (metoprolol) allonge l'intervalle QT chez des patients dont la fréquence cardiaque est contrôlée par stimulation auriculaire. La fréquence-dépendance de l'intervalle QT est elle aussi modifiée par le β -blocage chronique, et ce de manière variable selon le cycle nyctéméral: l'aténolol réduit la pente QT/RR le jour mais pas la nuit (275). Ainsi l'effet du β -blocage sur la repolarisation ventriculaire semble être dépendant du tonus neurovégétatif de base, et en particulier du tonus sympathique. Les conditions, dans lesquelles l'effet du β -blocage est étudié, sont donc d'importance. Arrowood a tenté de différencier l'effet des catécholamines circulantes de l'effet de l'innervation du myocarde sur l'intervalle QT. Il a donc comparé la relation QT/RR de patients transplantés cardiaques à celle de sujets témoins en utilisant soit des épreuves d'effort, soit des manœuvres dynamiques comme la manœuvre de Valsalva, sans retrouver de différence entre les deux groupes de sujets (276).

Ces données apparaissent globalement en contradiction. D'un côté, la fréquence-dépendance de l'intervalle QT est plus marquée le jour que la nuit sur les données Holter. D'un autre côté, Cappato ne retrouve aucun effet du β -blocage sur la relation QT-RR, alors que le blocage du SNA tend à augmenter la fréquence-dépendance de QT lorsque cette relation est étudiée à partir d'expériences de stimulation cardiaque effectuées en période d'éveil. Il faut ici encore avoir recours au principe de l'antagonisme accentué décrit par Morady et coll. en 1988 (277, 278) pour réconcilier ces informations. Cette étude réalisée chez l'homme démontre que la stimulation cholinergique allonge la période réfractaire ventriculaire, et que cet allongement s'accroît en présence d'une stimulation adrénérergique. Ainsi, puisque le tonus adrénérergique est plus élevé le jour, on peut supposer que le tonus cholinergique l'est aussi, expliquant alors une fréquence-dépendance de QT plus élevée le jour que la nuit. Ce raisonnement n'écarte pas la possibilité d'avoir une prédominance relative du tonus cholinergique la nuit, même si ce tonus est, en valeur absolue, plus faible. Ainsi, si la durée de l'intervalle QT semble dépendre de la quantité de catécholamines circulantes, la dynamique du QT semble, quant à elle, dépendre davantage du tonus cholinergique (17).

3. La durée de l'intervalle QT

Quelle est la limite supérieure de la norme de la durée de l'intervalle QTc? Cette valeur limite est souvent considérée comme 440 ms tant par la formule de Bazett que par la formule de Fridericia. Cette définition remonte aux années 70 où Haynes et coll. rapportent que la prolongation de l'intervalle QTc au-delà de la valeur de 440 ms était observée plus souvent chez les survivants d'arrêts cardiaques (survenus en dehors de l'hôpital), que chez des sujets témoins (279). Une valeur de QTc au-delà de 440 ms était identifiée à la même période par Schwartz et Wolf comme prédictive de mort subite chez des patients ayant présenté un infarctus de myocarde (280). Les raisons précises pour lesquelles la valeur de 440 ms a été retenue ne sont pas très claires, en dehors de la référence faite par Haynes à "Electrocardiographic Text Book" publié par l'American Heart Association en 1956 (281). Dans ce livre, la valeur normale de QTc, selon Bazett, était donnée entre 350 ms et 430 ms. Quelques années plus tôt, Kissin et coll. (282) avaient également retenu à partir d'un nomogramme les valeurs de 420 ms pour les hommes et 430 ms pour les femmes comme la limite supérieure de la norme de l'intervalle QTc selon Bazett. Par contre, en 1993, les limites supérieures de l'intervalle QTc ont été reconsidérées par Schwartz et coll. (283) en se basant d'une part sur le chevauchement des valeurs de QTc entre les porteurs génotypés du syndrome du QT long et les non-porteurs de ce syndrome, et d'autre part sur l'existence d'un raccourcissement de l'intervalle QTc chez les hommes après la puberté. Les valeurs limites supérieures de la norme ont ainsi été proposées à la hausse, soit 450 ms pour les hommes, et 460 ms pour les femmes, intégrées dans un "score" à visée diagnostique dans le syndrome du QT long, utilisant à la fois les données ECG et les données cliniques. En réalité, il ne me semble pas exister actuellement dans la littérature de données suffisamment larges pour formuler de manière précise une valeur limite pour la durée de l'intervalle QTc, en fonction de l'âge et du sexe. Dans ces conditions, il peut être acceptable de conserver pour des raisons en partie historiques la valeur de 440 ms comme limite supérieure de la norme lors de l'utilisation de formules de correction.

4. Sexe

a) *Données humaines*

Les molécules allongeant la repolarisation ventriculaire, comme le d-sotalol ou l'érythromycine, induisent plus souvent des torsades de pointe chez la femme que chez l'homme (284, 285). Bien que cette observation soit le plus souvent attribuée à l'existence d'un intervalle QTc plus long chez la femme que chez l'homme, Makkar et coll. ont retrouvé une tendance similaire chez les femmes, à intervalle QTc égal (286). Le sexe féminin est aussi un risque de syncope et de mort subite chez les patients atteints du syndrome de Romano-Ward (287), et les torsades de pointes sont plus fréquentes chez les femmes en présence d'un bloc auriculo-ventriculaire (288).

Bazett a été le premier à observer chez la femme un allongement moyen de l'intervalle QTc de 24 ms, soit 6%, par rapport à l'homme, ainsi que l'existence d'une fréquence cardiaque de repos plus rapide que celle de l'homme (223). D'autres études ont confirmé un allongement de l'intervalle QTc variant entre 2% et 6% chez la femme (289, 290). Plusieurs études, basées en particulier sur des enregistrements Holter ECG, ont retrouvé que les variations de fréquence-dépendance de l'intervalle QT étaient fonction du sexe, du cycle nyctéméral et de l'âge. La fréquence-dépendance de l'intervalle QT est plus marquée chez les femmes que chez les hommes (291-293), en d'autres termes, l'allongement de l'intervalle QT parallèlement à l'allongement du cycle cardiaque est plus important chez la femme. Des données complémentaires ont été récemment publiées concernant la durée séparant le sommet et la fin de l'onde T (Ts-f), car cet intervalle donne une approche non invasive de la dispersion

transmurale de repolarisation ventriculaire (111, 114). Contrairement à la durée totale de la repolarisation ventriculaire (intervalle QTc), la durée Ts-f est plus courte chez la femme que chez l'homme. Des études dynamiques effectuées sur des banques de données de sujets sains ont montré que la durée Ts-f comportait une fréquence dépendance, avec un allongement de cette durée dépendant de l'allongement de la durée du cycle cardiaque (294). Cette fréquence dépendance est plus marquée chez la femme que chez l'homme. Aucune donnée de ce type n'est disponible chez des patients atteints du syndrome du QT long, ou ayant fait des torsades de pointes induites par un médicament. Sur le plan morphologique, on peut observer que les pentes ascendante et descendante de l'onde T sont plus faibles chez la femme que chez l'homme.

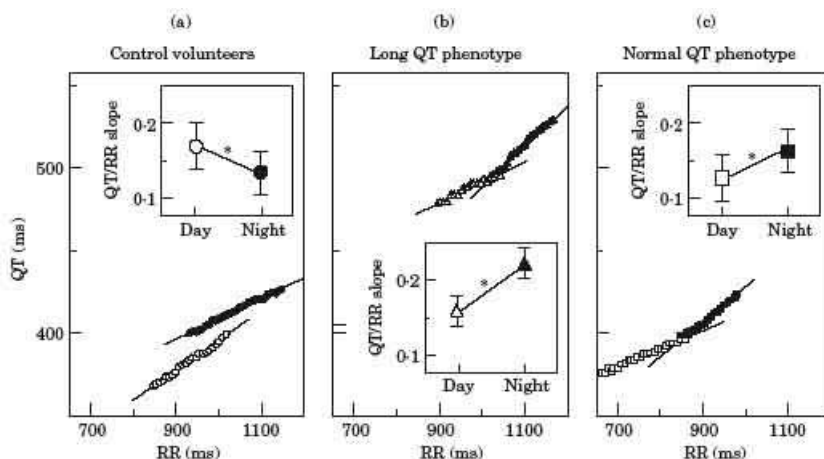


Figure 14. Variations circadiennes de la fréquence dépendance de l'intervalle QT dans une famille atteinte de LQT1. Les cercles vides représentent des valeurs diurnes et les cercles noirs des valeurs nocturnes. Les hommes porteurs normalisent la durée de l'intervalle QT après l'adolescence, contrairement aux femmes porteuses. Chez les sujets sains (control), la fréquence dépendance de l'intervalle QT est plus marquée le jour que la nuit. Il persiste chez les hommes porteurs (normal QT phenotype) une anomalie de la fréquence dépendance de l'intervalle QT, identique à celle observée chez les femmes porteuses (long QT phenotype). Cette anomalie est une fréquence dépendance de l'intervalle QT plus marquée la nuit que le jour (inversion) (voir (33) pour détails).

Les différences de durée de l'intervalle QT n'apparaissent qu'à partir de la puberté, pour disparaître à nouveau vers l'âge de 50 ans. Rautaharju suggère que les différences de durée sont la conséquence d'un raccourcissement chez l'homme plutôt qu'un allongement chez la femme (290). Le raccourcissement de l'intervalle QTc a été également décrit chez des patients atteints de syndrome du QT long, à partir de larges enquêtes rétrospectives (295, 296). Les données longitudinales sont rares. Nous avons publié une étude multidisciplinaire concernant une famille Rennaise atteinte du syndrome de type LQT1, suivie cliniquement pendant plus de 30 ans (**Figure 14**) (33, 297). L'intervalle QTc était allongé chez tous les enfants atteints, dont certains étaient très symptomatiques, et s'est complètement normalisé chez tous les hommes, mais chez aucune femme. Les patients mâles dont l'intervalle QT s'était normalisé ("porteurs sains") conservaient cependant une dynamique anormale de l'intervalle QT, telle qu'elle pouvait être étudiée sur la base d'enregistrements Holter ECG. Les "porteurs sains", comme les sujets atteints (enfant et femmes adultes atteints) présentaient une inversion nycthémérale de la fréquence-dépendance de l'intervalle QT. La fréquence-dépendance de l'intervalle QT était plus marquée la nuit que le jour chez les sujets porteurs de la mutation, avec ou sans allongement de l'intervalle QT, alors qu'elle est plus marquée le jour que la nuit chez les sujets non-porteurs de la mutation. Ces données peuvent être rapprochées de la

diminution du pourcentage d'hommes, mais pas de femmes, atteints du syndrome du QT long au cours du vieillissement (298), qui pourrait correspondre simplement à une augmentation de porteurs sains de QT long à l'âge adulte chez les hommes. L'ensemble de ces données suggèrent que les variations de taux et d'activité des hormones sexuelles à la puberté contribuent aux modifications de l'intervalle QTc liées au sexe.

Le raccourcissement de l'intervalle QT observé à la puberté chez les hommes laisse entendre que les androgènes, plutôt que les œstrogènes, et particulièrement la testostérone, sont responsables de ce phénomène. À l'appui de cette hypothèse peut on observer que les hommes orchidectomisés allongent leur repolarisation, et que les femmes présentant une virilisation raccourcissent leur repolarisation (299). À l'inverse, plusieurs observations plaident contre la participation de l'œstrogène et de la progestérone dans la modulation de la repolarisation ventriculaire. Ainsi, le risque de développer des torsades de pointes induites par le d,l-sotalol est semblable avant et après la ménopause (300). La substitution œstro-progestative ne modifie pas l'intervalle QTc après la ménopause. Il n'existe pas de variation de la durée de l'intervalle QT en fonction de la concentration d'œstradiol chez les femmes non ménopausées (301). L'interprétation d'une augmentation du risque d'événements cardiaques dans le post-partum chez les sujets atteints de syndrome de QT long est plus difficile à interpréter puisque cette période est caractérisée à la fois par une augmentation de la stimulation adrénergique, et une augmentation de la sécrétion des hormones œstrogène et progestérone (302). Enfin, il existe une augmentation du risque de torsades de pointes induites par les médicaments pendant les règles et la phase ovulatoire qui sont marquées par une modification du rapport des taux d'œstrogènes et de progestérone (303).

b) Données animales

Des récepteurs aux œstrogènes et androgènes existent au niveau myocardique, et ces récepteurs sont en mesure de modifier l'expression des gènes cardiaques (304-307). Plusieurs études ont démontré que l'œstrogène pouvait modifier le niveau d'expression de l'ARNm d'un canal potassique lent dans l'utérus de rat (308, 309) ou la trompe utérine de lapin. L'œstradiol peut également modifier l'expression de courants calciques, sensibles à la nitrendipine, sur le cœur de rat (310).

i) Repolarisation

Liu et coll. ont étudié la repolarisation ventriculaire sur des cœurs de lapin isolés-perfusés, dont le nœud auriculo-ventriculaire a été détruit par cautérisation, permettant une étude sur des gammes de fréquence larges, incluant des fréquences lentes (311). La durée de l'intervalle QT est plus longue chez la femelle que chez le mâle. Cet allongement n'est démasqué qu'à des cycles longs (2300 ms) et non physiologiques (cycle sinusal de repos à 400 ms). Ce comportement de la repolarisation correspond à une fréquence-dépendance de l'intervalle QT plus marquée chez la femelle, phénomène également observé chez la femme par rapport à l'homme. Il existe un allongement du DPA₃₀ (Durée du Potentiel d'Action à 30% de la repolarisation) sur le muscle papillaire du lapin femelle par rapport au mâle (312), ce qui laisse supposer des différences concernant les courants responsables de la repolarisation précoce. Liu et coll. ont retrouvé une densité de courant potassique (I_{K1} et I_{Kr}) plus faible chez la femelle que chez le mâle (311).

Chez le lapin femelle, les médicaments bloqueurs de HERG entraînent un allongement de QT, un allongement du DPA₉₀, une incidence de PDP, et un risque de torsade de pointes plus grand que chez le mâle (313). Aucune donnée expérimentale n'a pu mettre en évidence une modulation sexuelle du gradient de repolarisation transmural ou du gradient de densité de courant potassique. Il existe par contre un gradient de courant $I_{Ca,L}$ chez la femelle, mais pas chez le mâle, courant qui contribue à la genèse des PDP (314).

Chez le lapin mâle, l'orchidectomie entraîne une diminution du taux plasmatique de testostérone et une augmentation des PDP induites par le dofétilide (312), ce qui confirme l'hypothèse d'un rôle protecteur des hormones mâles, initialement proposée par Drici et coll. (315). L'existence d'un risque rythmique plus important chez le lapin mâle pré-pubère, à l'inverse du lapin post-pubère, laisse supposer un facteur favorisant, possiblement hormonal, indépendant de la durée de l'intervalle QT (316). À l'inverse, l'ovariectomie aboutit à une diminution de l'effet proarythmique du dofétilide, sans que l'on observe de modification importante du taux d'œstrogène, faisant suggérer la participation d'un facteur hormonal non ovarien, FSH ou LH, ou un facteur ovarien non œstrogénique, par exemple pituitaire (312). Un traitement chronique par hormones sexuelles ou placebo chez des lapins ovariectomisés aboutit à une modification de la durée du potentiel d'action, qui est plus longue si le lapin est traité par œstrogène que s'il est traité par dihydrotestostérone (DHT), avec des valeurs intermédiaires pour le placebo (315, 317). L'utilisation de E 4031, un bloqueur spécifique de I_{Kr} , induit un effet plus marqué (allongement de l'intervalle QT et genèse de PDP) dans le groupe de lapins traités par œstrogènes (317). Drici et coll. ont démontré que, tant chez les lapins traités par œstrogènes que chez ceux traités par DHT, il existait une diminution ("down regulation") de l'expression des gènes (ARNm) codant pour certains canaux potassiques ($Kv1.5$ pour I_{Kur} , $KCNE1$) alors que le niveau de celui codant pour $HERG$ restait inchangé en comparaison du traitement par placebo. L'allongement de l'intervalle QTc induit par la quinidine était plus important dans le groupe traité par œstrogène (+20%) que dans le groupe traité par DHT (+12%). Cette réponse n'était pas corrélée au niveau d'expression des gènes codant pour les courants potassique étudiés (315).

Donc les hormones sexuelles modulent de manière importante la repolarisation ventriculaire. L'allongement du QT et du PA, ainsi que l'accentuation de la réponse observés chez les lapins traités par œstrogènes reproduit les caractéristiques du lapin femelle. Les caractéristiques électrophysiologiques retrouvées chez le lapin traité par dihydrotestostérone sont semblables à celles qui sont retrouvées chez le lapin mâle.

ii) *Courants ioniques*

L'existence d'une dispersion transmurale du courant calcique lent, $I_{Ca,L}$, chez le lapin femelle est en rapport avec une plus grande conductance calcique dans l'épicarde que dans l'endocarde (314). Cette dispersion de $I_{Ca,L}$ n'est pas observée chez le lapin mâle. L'orchidectomie, ainsi que les traitements par œstrogène ou DHT n'ont aucun effet sur $I_{Ca,L}$. Par contre, l'ovariectomie supprime le gradient calcique transmural (314). Chez les lapins ovariectomisés, le traitement, tant par œstrogènes que par DHT, modifie les propriétés de $I_{Ca,L}$ en augmentant la conductance et en décalant ("shift") la courbe d'activation vers des valeurs plus négatives, ce de manière plus marquée au niveau de l'épicarde qu'au niveau de l'endocarde (314). Compte tenu du fait que les taux d'œstradiol et de DHT sont semblables chez le lapin femelle ovariectomisé ou non, il est probable que d'autres facteurs hormonaux (progestérone, FSH, LH, GnRH) puisse jouer un rôle dans la modulation de $I_{Ca,L}$.

Peu de données sont disponibles à propos des variations sexuelles des courants potassiques. Liu et coll. ont étudié 3 courants potassiques chez le lapin. Ils n'ont pas retrouvé de différence de densité du courant I_{to} , mais n'ont pas étudié la cinétique de ce courant (311). Ils ont observé une petite différence de densité de courant I_{K1} à -50 mV, et une diminution de 20% de la densité de I_{Kr} chez les femelles. La diminution de densité de I_{Kr} pourrait expliquer l'augmentation de fréquence-dépendance de l'intervalle QT observée chez la femelle.

iii) *Effets sur la transcription*

Les hormones sexuelles font partie des molécules capables de modifier l'activité des cellules par régulation des gènes (318). Ces hormones se lient à des récepteurs intranucléaires, et forment des complexes qui eux-même vont se fixer sur des séquences particulières sur

l'ADN appelées "Hormone Response Element (HRE), aboutissant ensuite à une modification de la transcription des gènes. Liu et coll. ont identifié une séquence HRE fonctionnelle au niveau cardiaque, dont le gène code pour la sous-unité α du canal calcique de type L. Cette information peut être rapprochée de l'augmentation du nombre de récepteur à la nitrendipine, un bloqueur calcique, ainsi que de l'augmentation de densité de courant $I_{Ca,L}$ épicaudique, que l'on retrouve après traitement œstrogénique chronique chez des rats ovariectomisés de type SHR (310).

Par contre, les résultats obtenus à partir de souris transgéniques, dont le récepteur à l'œstrogène a été supprimé ("knockout" = KO), est un peu discordant. Il existe une augmentation de densité du courant $I_{Ca,L}$ et un allongement important de l'intervalle QT (+70%) chez les souris dont le récepteur à l'œstrogène est absent (319).

c) Conclusion (320)

Les données cliniques indiquent que le sexe féminin est un facteur de risque de torsade de pointes induites par les médicaments, de syncope et de mort subite, ce que l'on peut rapprocher de l'existence d'un intervalle QTc plus long chez la femme que chez l'homme. Tant les données cliniques, que les données expérimentales impliquent les hormones sexuelles, l'œstrogène et la testostérone, comme des facteurs déterminants les différences de repolarisation ventriculaire entre les 2 sexes. Selon les informations obtenues in vitro, l'œstradiol et la DHT ne sont cependant pas les seuls déterminants de ces différences, et il est probable que des facteurs hormonaux non œstrogéniques et non gonadiques interviennent aussi. L'œstradiol et la DHT sont également des facteurs importants pouvant expliquer l'augmentation de l'effet proarythmique observé en réponse aux bloqueurs de I_{Kr} dans le sexe féminin. Les mécanismes exacts qui sous-tendent ces modulations restent encore à éclaircir.

À l'échelon cellulaire, l'existence d'un gradient transmural du courant $I_{Ca,L}$ contribue en partie à l'allongement de l'intervalle QT chez le lapin femelle. Ces éléments, en association avec une diminution du courant I_{Kr} , peuvent aboutir à une plus grande fréquence de PDP chez la femelle que chez le mâle, favorisant le caractère proarythmique des médicaments bloqueurs de I_{Kr} . Enfin, bien que la DHT protège le lapin mâle de l'effet arythmogène de bloqueur de I_{Kr} , cette hormone n'exerce aucun effet sur le courant $I_{Ca,L}$, chez le mâle. La DHT pourrait donc exercer un effet protecteur par la modulation d'autres courants impliqués dans la repolarisation.

5. Âge

Les données concernant l'évolution de l'intervalle QT au cours du vieillissement sont à la fois anciennes et succinctes. Alimurung et coll. (321) ont rapporté en 1949 une large série de patients normaux décrivant l'évolution de l'intervalle QT de la naissance jusqu'à l'âge de 13 ans. Les 517 enfants ont été divisés en 12 tranches d'âge, et la valeur de l'intervalle QT a été corrigée selon la formule de Bazett (racine carrée) (223), ainsi que celle d'Ashman (logarithmique) (322). Selon la formule de Bazett, la valeur moyenne de QTc est de 404 ± 26 ms (alors qu'elle est de 378 ± 25 ms selon la formule d'Ashman). Cette valeur, selon la formule de Bazett, évolue de 386 ± 19 ms à la naissance à 416 ± 25 ms entre l'âge de 6 et 13 ans. La progression est régulièrement croissante en dehors de la période allant de 1 à 4 mois où le QTc mesure 410 ± 24 ms, alors qu'il est plus court entre 5 mois et 1 an (391 ± 22 ms). Il n'existe pas de différence de durée de QTc entre les 2 sexes entre la naissance et l'âge de 13 ans. Certaines valeurs étaient loin des valeurs moyennes et pourraient faire soulever rétrospectivement des interrogations. L'intervalle QTc le plus long était en effet de 500 ms pour un cycle de 520 ms chez un enfant de 9 ans. L'intervalle QTc le plus court était de 289 ms pour un cycle de 465 ms chez un enfant de 6 mois. Une étude rapporte l'évolution de

l'intervalle QTc au cours du vieillissement au-delà de la puberté et jusqu'à un âge avancé. On observe un allongement de QTc de 3 à 6 ms par décennie (323).

Peu de données ont été publiées quant à l'évolution de la fréquence-dépendance de l'intervalle QT au cours du vieillissement. La fréquence-dépendance de l'intervalle QT est plus marquée le jour que la nuit (**Figure 14**), dans les deux sexes (173, 293), mais cette variation circadienne disparaît au-delà de 50 ans (293). Aucune donnée n'est actuellement disponible concernant l'évolution du comportement dynamique de l'intervalle QT dès la naissance et dans l'enfance, et en particulier ses variations selon le sexe et le cycle nycthémal.

Encore moins d'informations sont connues à l'étage cellulaire, bien que le chien et la souris, depuis l'ère de la transgénèse, aient fait l'objet recherche. À la naissance, il n'existe pas d'hétérogénéité de la repolarisation ventriculaire chez le chien. L'aspect en "spike and dome" est absent des cellules épicaudiques, et apparaît progressivement au cours des premiers mois de vie pour atteindre un niveau de stabilité entre le 3^{ème} et le 5^{ème} mois. L'apparition progressive d'une encoche dans le décours du potentiel d'action semble être parallèle au développement du courant I_{to} (111, 153). Ce type d'évolution a été également observé sur des cellules atriales humaines (154), mais aussi sur des fibres de Purkinje de chien ou sur des myocytes ventriculaires de rat (117).

6. Troubles ioniques

L'allongement de l'intervalle QT dans le contexte d'une hypokaliémie est un fait connu de longue date de même que l'augmentation du risque de torsades de pointes médicamenteuses (95). Cet allongement de l'intervalle QT est en rapport avec une diminution du courant I_{Kr} , induite par la diminution de la concentration de potassium extracellulaire $[K^+]_o$ (324). Cet effet est cependant considéré comme paradoxal, car la diminution de $[K^+]_o$ devrait entraîner une augmentation de I_{Kr} , du fait de l'augmentation du gradient électrochimique pour le K^+ . En réalité, il existe une compétition entre les ions Na^+ et K^+ au niveau d'un site d'attache proche de l'orifice extérieur du canal potassique (325), ce qui explique que la diminution de $[K^+]_o$ entraîne une diminution de cette compétition, et donc une augmentation de l'effet de blocage des ions Na^+ , d'où la diminution paradoxale du courant I_{Kr} . De plus, la diminution de $[K^+]_o$ augmente la probabilité d'une inactivation rapide de I_{Kr} , donc diminuant le nombre de canaux HERG ouverts, expliquant là aussi une diminution du courant $[K^+]_o$ (326). Enfin, Roden et coll. ont démontré que l'effet de blocage de I_{Kr} par les médicaments est fortement sous la dépendance de $[K^+]_o$. La diminution de $[K^+]_o$ de 8 mM à 1 mM divise par 10 à 40 la concentration de quinidine ou de dofétilide nécessaire à l'obtention de l' IC_{50} (327). L'augmentation de la probabilité d'obtenir des torsades de pointes médicamenteuses en présence d'une hypokaliémie s'explique donc par une diminution du courant et une augmentation du pouvoir inhibiteur des bloqueurs de HERG.

L'hypocalcémie est également connue pour induire un allongement de l'intervalle QT qui passe par un allongement de la phase 2 du potentiel d'action (328). Son mécanisme électrophysiologique n'est pas clairement donné dans la littérature. L'hypomagnésémie est le plus souvent associée à une hypokaliémie, et de ce fait les descriptions des anomalies électrocardiographiques se rejoignent. Les troubles isolés de la natrémie ne modifient pas l'intervalle QT (328).

7. Situations pathologiques

a) Neurologique

Les désordres cérébrovasculaires entraînent des anomalies de la repolarisation ventriculaire, et sont connus depuis plus de 50 ans (328). Ces anomalies sont observées le

plus souvent dans les hémorragies sous-arachnoïdiennes, mais ont été aussi décrites dans l'accident vasculaire cérébral ischémique, l'hémorragie intracrânienne, le traumatisme crânien, la neurochirurgie, la méningite aiguë, certaines tumeurs intracrâniennes volumineuses, et enfin l'épilepsie (329). Elles correspondent à un sous-décalage du segment ST, à une onde T plate ou inversée, à une onde U proéminente, et enfin à un allongement de l'intervalle QTc. Une onde Q peut également être observée, de telle manière que le tableau global puisse mimer celui d'un infarctus du myocarde. Elles sont particulièrement nettes dans les hémorragies sous-arachnoïdiennes où leur prévalence oscille entre 50% à 90% selon les publications. Dans ce sous-groupe, des accès de torsade de pointes ont pu être détectés dans 4% des cas (330). La règle est un retour au "statu quo ante" de l'électrocardiogramme au bout d'un délai qui peut atteindre 8 semaines. La physiopathologie de ces anomalies n'est pas encore bien éclaircie. Une des hypothèses est celle d'une ischémie myocardique, basée sur des données autopsiques et échographiques, mais aussi biologiques (élévation fréquente de la troponine I) (331). Le lien entre le désordre cérébrovasculaires et l'ischémie pourrait être représenté par un à-coup adrénergique, chez des patients ayant par ailleurs une forte probabilité de cardiopathie ischémique (332). Cependant, des anomalies de la repolarisation ventriculaire ont été observées chez des jeunes gens victimes d'une hémorragie sous-arachnoïdienne à la suite d'un accident de la voie publique, de telle manière que l'hypothèse d'une cardiopathie ischémique sous-jacente n'est sûrement pas exclusive. L'idée est celle d'une suractivité adrénergique induisant un spasme coronaire telle qu'elle peut s'observer dans le phéochromocytome, ou telle qu'elle peut être expérimentalement reproduite par injection de catécholamines ou stimulation de certaines régions cérébrales, comme l'hypothalamus ou l'insula (333). L'absence d'anomalies myocardiques objectivables dans certains de ces cas ouvre la porte à d'autres hypothèses physiopathologiques, dont celle d'un désordre neurovégétatif favorisé par une lésion de l'hypothalamus (334). Cette hypothèse est renforcée par la description récente d'allongement de l'intervalle QTc dans un sous-groupe de patients présentant une sclérose en plaques avec dysfonction neurovégétative (335). Ces observations avaient également été corroborées avec un modèle animal d'encéphalomyélite chez lequel on retrouvait aussi un allongement de la repolarisation ventriculaire. Il n'existe cependant aucune publication de torsade de pointes chez ces patients atteints de sclérose en plaques, et la mort subite ne fait pas partie des causes habituelles de décès.

b) Hypothyroïdie

La triiodotyronine, forme active de l'hormone thyroïdienne, influence le fonctionnement des cardiomyocytes, et en particulier leur repolarisation (336). Le métabolisme de la tyroxine en triiodotyronine n'est pas assuré par les cardiomyocytes. Il existe des transporteurs spécifiques de la triiodotyronine au niveau de la membrane plasmique, et une grande partie de l'action de cette hormone est réalisée par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires, permettant *in fine* une activation transcriptomale, et un effet hormonal. Cependant, une partie de l'effet de la triiodotyronine pourrait suivre un mécanisme extranucléaire et non transcriptomal, c'est-à-dire un effet direct au niveau des canaux ioniques, en particulier potassiques (337).

Plusieurs revues récentes ne citent pas l'hypothyroïdie comme cause potentielle d'un allongement de l'intervalle QT, ou plus exactement comme cause potentielle de syndrome du QT long acquis (30, 338). Pourtant, l'hypothyroïdie (le myxœdème) est une cause connue d'allongement de la repolarisation ventriculaire, en dehors de l'hypothyroïdie congénitale (339), et cette donnée repose tant sur des faits cliniques (336, 340, 341) que sur des éléments expérimentaux (336, 342). Cette absence tient peut-être au fait que l'hypothyroïdie, même si elle peut donner lieu à un allongement important de la repolarisation ventriculaire associé à une bradycardie marquée, deux facteurs arythmogènes, ne donne que rarement de trouble du

rythme. Néanmoins des torsades de pointes ont été rapportées dans la littérature liées à une hypothyroïdie apparemment isolée ou non (340, 343, 344). La relative rareté des torsades de pointes dans le contexte d'une hypothyroïdie peut être rapprochée du caractère très peu arythmogène de l'amiodarone, tout du moins lorsque ce produit n'est pas associé à un autre facteur arythmogène, comme une hypokaliémie. En effet, il est bien connu que l'amiodarone exerce un effet sur le métabolisme thyroïdien, en freinant la transformation de la tétraiodotyronine en triiodotyronine, à tel point que le syndrome de "basse T3" fait presque partie de la signature de la prise chronique de l'amiodarone (336). Est-ce que le faible effet arythmogène de l'amiodarone est lié à son action sur le métabolisme thyroïdien ? Est-ce que le faible potentiel arythmogène du myxœdème est lié à une diminution de l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation ventriculaire, à l'instar de ce qui est observé avec l'amiodarone (129, 131) ? Il ne semble pas que ces deux questions soient résolues. Cependant plusieurs travaux récents tentent de progresser dans la compréhension des effets électrophysiologiques cellulaires de l'hypothyroïdie. Une étude effectuée sur le cobaye a démontré que l'allongement de l'intervalle QTc observé *in vivo*, correspondait en patch-clamp à une diminution de densité de I_{Ks} estimée à 65% (342). Il n'y avait pas de modification significative des courants I_{Kr} , I_{K1} , $I_{Ca,L}$, et I_{Na} . Le Bouter et coll., dans notre laboratoire, ont étudié l'expression des gènes puis effectué des mesure en patch-clamp chez des souris hypothyroïdiennes chez lesquelles existait un allongement induit le l'intervalle QT (345). On peut observer une diminution des densités des courants $I_{to,f}$ et $I_{K,slow}$, rendant parfaitement compte de l'allongement de l'intervalle QTc chez les souris, au vu de l'importance fonctionnelle de ces deux courants dans la repolarisation ventriculaire de la souris. Par contre, il existe une surexpression des sous-unités KCNQ1 et KCNE1 correspondant à une augmentation de densité de I_{Ks} , sans probable conséquence physiologique chez la souris.

c) *Autres causes*

Les empoisonnements par les organophosphorés aboutissent à une intoxication atropinique par fixation, puis phosphorylation et désactivation de l'acétylcholinestérase. La symptomatologie est faite de signes de type muscariniques et nicotiniques. Il existe un allongement de l'intervalle QTc (346).

L'intoxication par les métaux lourds, particulièrement l'arsenic, peut aboutir à un allongement de l'intervalle QTc, pouvant persister des mois, ainsi qu'à des torsades de pointe (347).

L'injection de produits de contraste iodés peut s'accompagner de modifications de l'ECG, dont des troubles de la repolarisation incluant un allongement de l'intervalle QTc (348). Cette toxicité est expliquée au moins en partie par une hyperosmolarité, et a diminué par l'usage de produits à faible osmolarité.

L'hypothermie: La définition de l'onde d'Osborn et sa physiopathologie supposée ont été données plus haut (349). Plusieurs publications font état d'un allongement de la durée du potentiel d'action et de l'intervalle QTc dans l'hypothermie (350, 351), ainsi que la normalisation progressive après réchauffement (352). On ne retrouve cependant pas dans la littérature de publication associant hypothermie et torsade de pointes. L'effet précis de l'hypothermie sur les densités de courant, et sur la dispersion transmurale de la repolarisation, n'est pas publié à ma connaissance. En présence d'une chute de 5°C de la température rectale, l'amplitude d'allongement de l'intervalle QT sur un modèle de cobaye anesthésié est de l'ordre de grandeur de celui observé après injection de 30µg/kg de dofétilide, à fréquence cardiaque identique (données personnelles non publiées).

La cocaïne allonge la repolarisation ventriculaire en bloquant HERG (353, 354), et plusieurs publications font état de torsades de pointes induites par ce produit (355, 356). Si un blocage de HERG est obtenu à faible concentration, le courant I_{Na} est bloqué à plus forte

concentration, de telle manière que deux présentations cliniques ont pu être décrites: certains usagers occasionnels présentent des torsades de pointes, alors que en présence d'une overdose, on observe davantage des tachycardies ventriculaires lentes, favorisées par le blocage du courant sodique (356, 357). La méthadone, qui est un produit utilisé à titre de substitutif dans le cadre de cure de désintoxication, peut également induire un allongement de l'intervalle QT et des torsades de pointes (358). La méthadone bloque également HERG (359). Le mécanisme est cependant plus complexe car le métabolisme de la méthadone passe par le cytochrome CYP3A4, et peut donc donner lieu à une compétition avec d'autres molécules bloqueurs de HERG et métabolisées par la même voie (360). Les accidents rythmiques surviennent lors de l'association de plusieurs facteurs favorisants.

Les patients infectés par le virus HIV ont une plus forte prévalence que dans la population non-infectée de présenter un allongement de l'intervalle QTc, et des cas de torsade de pointes ont été décrits (361). Plusieurs publications font état de syndrome de QT long acquis induit par la pentamidine, antiparasitaire utilisé dans le traitement des infections à pneumocystis carinii (362, 363). Plus récemment, un effet de blocage de HERG a été démontré avec les agents antiviraux de type inhibiteurs de la protéase qui sont utilisés pour lutter contre le HIV (364). Ces médicaments prédisposent donc également à la survenue d'un syndrome du QT long.

La dysautonomie neurovégétative chez le diabétique est associée à un allongement de l'intervalle QT, et ce groupe de patient est associé à une augmentation du risque de mort subite (365). Coumel et coll. ont retrouvé une diminution (voire une disparition) de la fréquence dépendance de l'intervalle QT pendant la période diurne dans ce groupe de patients, plus particulièrement chez ceux ayant une dysautonomie forte, à partir de banque de données Holter (366).

La cachexie et les régimes hyperprotidiques peuvent provoquer un allongement de l'intervalle QTc (367, 368), et la survenue de torsades de pointes (369). Le mécanisme est probablement lié aux troubles ioniques induits par ces situations cliniques, en particulier l'hypomagnésémie, dans un contexte individuel favorisant.

L'association entre allongement de l'intervalle QTc, infarctus du myocarde, et majoration du risque de mort subite, est connu depuis bientôt 30 ans (280). L'impact de l'ischémie sur la repolarisation ventriculaire reste cependant un des sujets les plus difficiles à aborder compte tenu de sa complexité. En effet, il faut tenir compte ici de multiples facteurs qui interagissent et qui évoluent dans le temps, comme les modifications du potentiel de membrane diastolique, le couplage cellulaire, ou l'architecture tissulaire (370). Les torsades de pointes ont été décrites à la phase aigue de l'infarctus (371), et une publication assez récente a relancé le débat (372), tout en limitant cette entité dans une gamme de probabilité très faible. Pour mémoire, des torsades de pointes associées à un allongement transitoire de l'intervalle QTc ont été décrites récemment dans le syndrome de Takotsubo, dont la physiopathologie, ischémique ou métabolique, reste encore discutée (373).

Insuffisance cardiaque et hypertrophie ventriculaire: La prolongation du potentiel d'action est lié à une réduction de densité du courant I_{to} , et dans une moindre mesure I_{K1} (374).

Phéochromocytome: de rares cas de torsades de pointes associées à un allongement de l'intervalle QT et à un phéochromocytome ont été décrits (375, 376). Le syndrome du QT long disparaît lors du traitement du phéochromocytome.

E. Activité déclenchée et torsades de pointes

Deux types de mécanismes électrophysiologiques peuvent participer à la survenue de troubles du rythme cardiaque (6, 16): les anomalies de la genèse de l'influx, et les anomalies de la propagation de l'influx, c'est-à-dire les mouvements de réentrée, dont la description date du début du siècle dernier (377, 378). Les torsades de pointes, associées au syndrome du QT

long, combinent vraisemblablement ces deux mécanismes. Ce trouble du rythme serait déclenché par des post-dépolarisations précoces, et serait entretenu par un mouvement de réentrée.

1. Anomalies de la genèse de l'influx

Les anomalies de la genèse de l'influx peuvent revêtir 2 formes, l'automaticité anormale et l'activité déclenchée.

a) Automaticité anormale

L'automaticité est considérée comme anormale dès lors qu'elle provient de cellules, auriculaires ou ventriculaires, qui n'expriment pas spontanément d'activité automatique. Cet automatisme anormal peut survenir si le potentiel membranaire est déplacé vers des valeurs plus positives, autour de -60 mV, comme par exemple dans un tissu ischémique. L'automaticité anormale peut également survenir sur des cellules douées normalement d'une certaine automaticité, comme les fibres de Purkinje, en diminuant le taux de potassium extracellulaire, en abaissant le pH, par une dépolarisation partielle de la membrane (379). L'automaticité anormale est sensible aux inhibiteurs calciques, et peu sensible au phénomène d'inhibition post-stimulative (380). L'inhibition post-stimulative est une caractéristique de l'automaticité normale et correspond à une diminution de l'activité automatique de cellules à la suite d'une salve de stimulation rapide, à laquelle succède une reprise progressive de l'automaticité de départ. Ce phénomène est attribué à l'activité hyperpolarisante de la Na-K ATPase membranaire s'opposant aux courants dépolarisants participant à la phase de dépolarisation diastolique lente, et donc ralentissant l'activité automatique. L'augmentation d'activité de la Na-K ATPase membranaire est provoquée par l'afflux d'ions sodium dans la cellule à la suite du raccourcissement du cycle de stimulation. Il est donc clair que le phénomène "d'overdrive suppression" s'atténue, voire disparaît dès lors que la conductance sodique devient plus faible comme c'est le cas dans les cellules nodales, dépendante du calcium (6). Ce phénomène s'atténue aussi en présence d'une automaticité anormale dépendante de la dépolarisation partielle de la membrane, inhibant alors partiellement le courant sodique. L'inhibition du courant sodique explique également que l'automaticité anormale soit dépendante de courants dépolarisants calciques. La fréquence de l'automaticité anormale est notablement supérieure à celle de l'automaticité normale, et cette fréquence est dépendante du niveau de dépolarisation de la cellule. Comme dans l'automaticité normale, l'automaticité anormale est augmentée par la stimulation adrénergique, et par la diminution du potassium extracellulaire (379, 381). Cliniquement, l'automaticité anormale semble être particulièrement impliquée dans les tachycardies survenant 24-72 heures à la suite d'un infarctus du myocarde, ou dans les 15-30 minutes suivant une occlusion coronaire. Comme cela a été proposé par Janse (382), les zones entourant la zone ischémisée pourraient être partiellement dépolarisées par une augmentation du potassium extracellulaire, ou bien par des "courants de lésion" se développant par interaction électrotonique entre des zones riches en potassium extracellulaire (ischémie) et d'autres zones fonctionnant dans un environnement potassique normal.

b) Activité déclenchée

L'activité déclenchée correspond à des potentiels d'action dépendants de la survenue de post-dépolarisations (383, 384). Les post-dépolarisations sont des oscillations du potentiel membranaire survenant pendant ou juste après un potentiel d'action (385-387). L'activité déclenchée peut être la source d'un nouveau post-potentiel, aboutissant à un auto-entretien de l'activité électrique anormale. Il existe deux formes de post-dépolarisations: les post-

dépolarisations précoces (PDP), survenant pendant les phases 2 et 3 du potentiel d'action, et les post-dépolarisations tardives (PDT) survenant pendant la période diastolique (**Figure 15**).

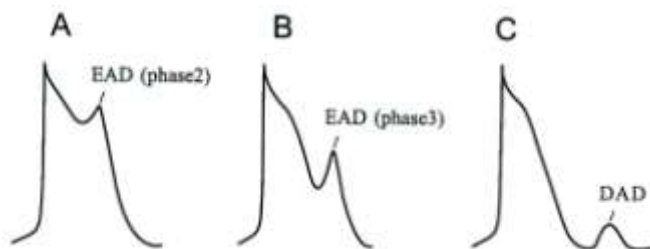


Figure 15. Représentation schématique de post-dépolarisations précoces (EAD) en phase 2 ou 3, et de post-dépolarisations tardives (DAD) (6).

i) Post-dépolarisations précoces

On distingue les post-dépolarisation précoces dites "de phase 2" qui surviennent pendant le plateau du potentiel d'action (ou sur un potentiel supérieur à -30mV), et celles dites "de phase 3" qui surviennent pendant la repolarisation (ou sur un potentiel inférieur à -30mV). Bien que ces post-dépolarisations puissent survenir dans des conditions semblables, elles diffèrent morphologiquement et *pharmacologiquement*. Les post-dépolarisations précoces peuvent être le résultat d'une diminution du courant sortant ou d'une augmentation du courant entrant, ou l'association des deux. Comme cela est indiqué ci-dessous (**Table 3**), on peut répertorier une grande variété de facteurs favorisant la survenue de ces post-potentiels (6). Les deux types de PDP peuvent être observés sur les cellules de Purkinje, par contre, seules les PDP de type 2 sont habituellement observées sur les préparations ventriculaires standards (388).

Table 3. Circonstances favorisant l'émergence de post-dépolarisations précoces (6)

1. Slow rate (sinus bradycardia, complete AV block etc.)
2. Stretch
3. Hypokalemia
4. Hypoxia
5. Acidosis
6. Low $[\text{K}]_o$
7. Low $[\text{Ca}]_o$
8. Low $[\text{Mg}]_o$
9. Class I A antiarrhythmic drugs (quinidine, disopyramide, procainamide)
10. Class I B antiarrhythmic drugs (lidocaine, tocainide, mexiletine)
11. Class I C antiarrhythmic drugs (flecainide, encainide, indecainide)
12. Class III antiarrhythmic drugs (amiodarone, sotalol, clofidium, bretylium)
13. Phenothiazine
14. Tricyclic and tetracyclic antidepressants
15. Erythromycin
16. Antihistaminics
17. Cesium
18. Amiloride
19. Barium

✓ Mécanisme ionique

La conductance de la membrane est très faible pendant le plateau du potentiel d'action. Il en découle qu'une modification, même faible, de la résultante des courants entrants et sortants

peut entraîner un changement important du niveau de potentiel de la membrane. Les post-dépolarisations précoces peuvent résulter d'une diminution des courants sortants (I_K , I_{K1} , I_{pump} , I_{to}), ou d'une augmentation des courants entrants (courant de fenêtre sodique ou calcique). Le courant le plus probablement responsable est le courant de fenêtre calcique de type L (6, 16, 389). Les courants de fenêtre sont des courants qui apparaissent dans une étroite gamme de voltage située entre l'activation et l'inactivation du canal (**Figure 16**). Dans cette "fenêtre" de voltage, les courants peuvent passer de l'état activé à inactivé, puis à l'état fermé. Ainsi, les canaux calciques qui s'inactivent à la suite de la dépolarisation membranaire peuvent se réactiver lorsque la membrane se retrouve, pendant la repolarisation, à des niveaux de potentiel où le courant $I_{Ca,L}$ est actif. Un discret décalage du potentiel de membrane vers des valeurs plus négatives, tel que celui produit par des bloqueurs des canaux potassiques (quinidine, césium, ...), permet d'activer les canaux calciques fermés (6). Les PDPs se développent préférentiellement au niveau des cellules M et du tissu de Purkinje, mais ne peuvent que difficilement être obtenues sur les cellules épicrodiques ou endocardiennes. Ces données sont liées à l'existence d'un courant repolarisant I_{Ks} fort dans les cellules épicrodiques et endocardiennes, majorant la "réserve de repolarisation", à l'inverse des cellules M (121). De la même manière, l'inhibition pharmacologique *in vitro* de I_{Ks} et de I_{Kr} favorise la survenue de PDP (390). Il semble cependant exister des différences importantes entre les PDP qui surviennent avec les cellules M par rapport à celles qui surviennent avec le tissu de Purkinje. Dans le premier cas, les PDP sont très sensibles au calcium intracellulaire, alors qu'elles y sont totalement insensibles dans le deuxième cas (391). Enfin, l'étude de modèle canin *in vivo* de torsade de pointes sont compatibles avec l'éclosion de PDP au niveau de la couche mid-myocardiennne, anticipant l'émergence de torsade de pointes (392).

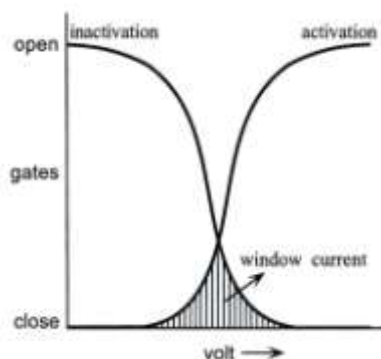


Figure 16. Principe du courant de fenêtre. Représentation schématique des courbes d'activation et d'inactivation du courant calcique. Il existe une fenêtre (zone hachurée) où le courant peut passer alors que le canal est dans un état incomplètement activé et inactivé (6).

✓ Fréquence-dépendance

Les PDP sont favorisées par la fréquence cardiaque (ou la fréquence de stimulation) basse. Les molécules comportant un effet de classe III (bloqueur de HERG) favorisent la survenue de PDP à fréquence basse et les suppriment à fréquence élevée (393). Par contre, les PDP induites par la stimulation β -adrénergique apparaissent à fréquence élevée (389). Des données plus récentes ont montré que, en présence d'un bloqueur de HERG, la stimulation adrénérergique, ou l'accélération de la fréquence, induisait des PDP uniquement au niveau des cellules mid-myocardiennes, mais au niveau des cellules de l'épicrode, de l'endocarde, ou même du Purkinje (391).

✓ Profil pharmacologique

L'hypokaliémie aboutit à une diminution de la conductance potassique de la membrane, et donc à une prolongation de la durée du potentiel d'action. En présence d'une bradycardie, qui allonge également la durée du potentiel d'action, l'hypokaliémie représente un facteur important de prédisposition à la survenue de post-dépolarisations précoces. La bradycardie favorise également la survenue des PDP sur des fibres de Purkinje en présence de quinidine. La quinidine (mais aussi le N-acétyl procainamide) bloque le courant I_{Kr} en suivant une fréquence-dépendance inversée, c'est-à-dire que les effets de blocage s'accroissent lorsque la fréquence de stimulation se ralentit (127). L'effet proarythmique de la quinidine, c'est-à-dire la survenue de PDP et d'activité déclenchée est abolie par l'augmentation du magnésium extracellulaire. L'effet de ce dernier correspondrait à un déplacement du potentiel seuil du courant calcique vers des valeurs plus négatives, de telle manière que même en présence de PDP, le courant calcique ne puisse atteindre sa valeur de déclenchement.

Le rôle du courant calcique de fenêtre de type L dans le déclenchement des PDP de phase 2 a été rendu probable par plusieurs expériences utilisant un agoniste du courant calcique, le Bay K8644 (269, 394). Le Bay K8644 augmente le courant $I_{Ca,L}$ en augmentant la durée d'ouverture des canaux calciques, ce qui aboutit à l'allongement de la durée du potentiel d'action et à la survenue de PDP. À l'inverse, des bloqueurs calciques, comme la nifédipine et le vérapamil, inhibent la survenue d'activité déclenchée, avec un effet mineur sur la durée du potentiel d'action et la présence de PDP. L'effet de la stimulation β adrénergique est bivalent puisqu'elle entraîne d'une part une augmentation du courant calcique favorisant les PDP, et d'autre part une accélération de la fréquence cardiaque raccourcissant la durée du potentiel d'action, et donc supprimant les PDP.

ii) *Post-dépolarisations tardives*

✓ Mécanisme ionique

Les post-dépolarisations tardives (PDT) ont été d'abord mises en évidence sur des fibres de Purkinje exposées à des concentrations toxiques de digitalique (395) ou élevées de catécholamines (389). Les digitaliques entraînent une inhibition de la Na-K ATPase transmembranaire, aboutissant à une augmentation du sodium intracellulaire ce qui entraîne une libération du calcium du réticulum sarcoplasmique et une inhibition du de l'échangeur Na-Ca. Le résultat final est l'apparition d'une surcharge calcique intracellulaire qui active un courant calcique transitoire entrant, I_{ti} , responsable des post-dépolarisations tardives. Il est maintenant clair que les post-dépolarisations tardives peuvent survenir en l'absence d'intoxication digitalique. Les circonstances favorisant regroupent la stimulation β adrénergique, l'hypertrophie, l'ischémie, la diminution du potassium extracellulaire, causes connues pour augmenter le taux de calcium intracellulaire, ce qui favorise l'activation de I_{ti} . Les PDT ont été initialement caractérisées sur du tissu de Purkinje, et peuvent également être mises en évidence au niveau des cellules M. Elles sont par contre rares au niveau des cellules épicaudiques et endocardiques. Là encore, la faible densité de courant I_{Ks} et la diminution de réserve de repolarisation qui en découle semblent favoriser la survenue des PDT. La réduction pharmacologique de I_{Ks} associée à une stimulation adrénergique a permis de retrouver des PDT au niveau épicaudique et endocardique (396). Toutes les interventions en mesure de modifier le taux de calcium intracellulaire peuvent moduler la survenue de PDT.

✓ Fréquence-dépendance

L'amplitude et le nombre des post-dépolarisations tardives augmentent avec la durée et la fréquence de la stimulation (6, 389). En l'absence d'inhibition de la Na-K ATPase, les post-dépolarisations tardives ne surviennent que dans une certaine gamme de fréquence. En effet, au-delà d'une certaine fréquence, l'activation de la Na-K ATPase vient s'opposer au courant dépolarisant par son activité hyperpolarisante.

L'activité déclenchée induite par les post-dépolarisations précoces peut être interrompue par une extrasystole, ce qui rend cette technique peu utile pour faire le diagnostic différentiel entre ce type de tachycardie et les tachycardies par réentrée.

✓ Profil pharmacologique

Les post-dépolarisations tardives sont sensibles à l'adénosine, qui peut être utilisée, dans une certaine mesure, comme test diagnostique (6).

✓ Implications cliniques

Les troubles du rythme, impliquant des post-dépolarisations tardives et sensibles à l'adénosine, sont nombreux (6): tachycardies atriales et ventriculaires de l'intoxication digitalique, les tachycardies ventriculaires (TV) à la phase aiguë de l'infarctus du myocarde ou observées lors de la reperfusion myocardique, certaines TV dite "adenosine-sensibles". Ces TV regroupent la TV de Gallavardin et la TV catécholergique qui sont toutes les deux des TV monomorphes à type de retard gauche axe droit évoquant une origine dans l'infundibulum pulmonaire. Il semble aussi que ces post-dépolarisations puissent être impliquées dans les torsades de pointes survenant chez les patients atteints de la forme 1 du syndrome du QT long (396).

iii) *Implications cliniques: le syndrome du QT long*

Les PDP, et l'activité déclenchée qui en résulte, sont probablement impliquées dans la genèse des torsades de pointes survenant dans la forme acquise du syndrome du QT long (même si les post-dépolarisations tant précoces que tardives sont également présentes dans l'hypertrophie cardiaque ou l'insuffisance cardiaque) (16). Dans cette forme clinique, les torsades de pointes sont favorisées par les pauses et la bradycardie, au même titre que le sont les PDP. La relation entre les PDP et les torsades de pointes a été suggérée initialement par les expériences de Brachmann dans les années 80 (397). Ce dernier a démontré chez le chien que des circonstances identiques, c'est-à-dire l'association de césium et d'une bradycardie (bloc auriculo-ventriculaire provoqué et permanent *in vivo*) donnaient lieu *in vivo* à un allongement de l'intervalle QT et des torsades de pointes, et *in vitro*, sur des fibres de Purkinje, à un allongement du potentiel d'action et des PDP. Plus récemment, des PDP et de l'activité déclenchée ont été enregistrés à partir de potentiels d'action monophasiques chez des patients atteints de syndrome du QT long (398). Cette même technique appliquée sur des cœurs isolés-perfusés de lapin a permis de recueillir de manière synchrone des PDP endocardiques et des tachycardies ventriculaires polymorphes (399). Les doutes concernant la possible association causale entre les PDP et la survenue de torsades de pointes étaient liés à l'absence de survenue de ces PDP dans les cellules cardiaques autres que les fibres de Purkinje, dont la masse globale semblait bien faible pour pouvoir rendre compte à elles seules de l'initiation de ces tachycardies. La découverte des cellules M, dont la masse est supérieure à celle des fibres de Purkinje, et leur propriété de pouvoir également développer des PDP et de l'activité déclenchée, ont à nouveau renforcé le lien entre PDP et torsades de pointes.

On peut finalement regrouper plusieurs arguments plaidant en faveur du lien entre PDP et torsades de pointes:

1. Les torsades de pointes surviennent en présence d'un allongement de l'intervalle QT comme les PDP surviennent en présence d'un allongement du potentiel d'action.
2. Les activités ectopiques sont favorisées par la bradycardie ou les pauses, et sont prévenues par la stimulation rapide.
3. Le couplage de la première extrasystole déclenchante est relativement long.
4. L'hypokaliémie est un facteur favorisant. Plus le taux de potassium est élevé, plus les extrasystoles sont rares, et plus la fréquence de survenue des PDP s'abaisse.
5. Un taux de magnésium bas est un facteur favorisant. L'administration de magnésium peut prévenir la survenue de torsades de pointes sans pour autant modifier la durée de l'intervalle QT.

6. Les listes des produits capables d'induire des PDP et des torsades de pointes sont en grande partie superposables
7. Les patients atteints du syndrome du QT long congénital peuvent bénéficier de l'ablation du ganglion stellaire gauche, avec une diminution de la fréquence de survenue des torsades de pointes. Parallèlement, les PDP peuvent être sensibles à la stimulation β adrénergique.

2. Anomalies de la propagation de l'influx: la réentrée

Selon la description originale de Mines en 1914 (378), la réentrée se définit comme la propagation de l'influx cardiaque autour d'un obstacle, donnant lieu à une excitation répétitive du cœur à une fréquence déterminée par la vitesse de conduction et le périmètre de l'obstacle.

Cependant, toutes les réentrées ne sont pas circulaires. Par exemple, le modèle électrophysiologique rendant compte de la survenue d'extrasystoles ventriculaires à couplage court, naissant dans le tissu de Purkinje, est appelé "réflexion", et survient sur un substrat axial et non-circulaire. De très nombreux types de tachycardies sont expliqués par un mouvement de réentrée "classique" autour d'un obstacle anatomique. D'autres tachycardies utilisent une zone de bloc fonctionnel ("vortex") en demeure de l'obstacle anatomique. Le modèle le plus répandu est celui du "leading circle", dont une forme plus complexe est représentée par la réentrée en spirale. Cette dernière forme pourrait rendre compte ou participer au mécanisme de tachycardies plus complexes comme les torsades de pointes.

a) *Réflexion*

La présence d'une zone de très faible conduction (sans qu'il y ait de bloc) sur une voie linéaire peut donner lieu à une réentrée de l'excitation, sans avoir recours à un mouvement circulaire. Le principe réside dans la transmission électrotonique de l'influx cardiaque d'un segment proximal vers un segment distal grâce à un segment intermédiaire incapable de se dépolariser, mais pouvant transmettre l'influx de manière passive et lente. Le segment distal dépolarisé peut alors se comporter à son tour comme la source du courant, et renvoyer l'influx cardiaque de manière passive à travers le même segment intermédiaire vers le segment proximal qui sera sorti de sa période réfractaire. Ce mouvement d'aller-et-retour de l'influx cardiaque entre deux segments sains à travers un segment intermédiaire aux propriétés de conduction altérées décrit la réentrée par réflexion. Ce mécanisme peut expliquer la survenue de certaines extrasystoles (400).

Le modèle le plus simple pour approcher ce mécanisme est celui du sucrose gap (401, 402). La réentrée par réflexion est bien sûr dépendante des propriétés de conduction et de la longueur du segment intermédiaire, ainsi que de l'excitabilité des segments proximal et distal. Le comportement du phénomène de réflexion est dépendant de la fréquence de stimulation avec une absence de réentrée à fréquence basse (conduction 1/1) et élevée (conduction 2/1). La réentrée par réflexion survient pour des fréquences de stimulation intermédiaires, ce qui revient à voir apparaître des extrasystoles dans une fenêtre de fréquence. Les antiarythmiques ralentissant la conduction à travers le segment intermédiaire induisent un déplacement de la fenêtre de réentrée vers des fréquences plus basses.

b) *Réentrée circulaire*

Le concept de réentrée circulaire "classique" autour d'un obstacle anatomique peut s'appliquer à un grand nombre de tachycardies rencontrées dans la pratique clinique (**Figure 17**) (378). La réentrée regroupe un certain nombre de caractéristiques:

1. Un circuit anatomique prédéterminé intact.
2. Le déclenchement et l'arrêt de la réentrée par une extrasystole. Cependant, certaines tachycardies automatiques peuvent être déclenchées par

- extrasystoles, et certaines réentrées peuvent avoir un déclenchement quasi-spontané.
3. La nécessité d'un bloc unidirectionnel. Dans la plupart des cas, le bloc unidirectionnel survient dans la zone du circuit où la période réfractaire est la plus longue. La survenue du bloc peut être consécutive à une accélération de la fréquence sinusale, une extrasystole, des variations du tonus neurovégétatif, un antiarythmique, ou encore une ischémie.
 4. Une zone de conduction lente facilitant l'initiation et la pérennisation du circuit. Cette zone peut fournir le site de bloc unidirectionnel à l'occasion d'une stimulation prématurée.
 5. Le temps de rotation autour du circuit doit dépasser la durée de la période réfractaire de tous les éléments du circuit. Ainsi, la longueur d'onde, que l'on calcule comme le produit de la période réfractaire par la vitesse de conduction (et qui s'exprime donc par unité de distance), doit être plus courte que le périmètre du circuit (403). La zone excitable séparant le front de l'influx cardiaque de la queue de cet influx, encore en période réfractaire, définit un intervalle d'excitabilité. Cette notion de longueur d'onde a cependant été partiellement remise en question avec le concept de "micro-réentrée", tel qu'il a été développé par Cranefield (404, 405), puis Sasyniuk et Mendes (406). Ces derniers ont ainsi démontré qu'il pouvait exister une abréviation marquée de la durée du potentiel d'action (et donc de la période réfractaire) à proximité immédiate du site de bloc sur un modèle de réentrée sur fibres de Purkinje de chien, permettant ainsi de réduire la longueur d'onde d'un mouvement de réentrée.
 6. L'arrêt de la tachycardie et l'impossibilité de son re-déclenchement sont obtenus "après ablation" d'un des éléments du circuit de réentrée. La technique "d'ablation" (to ablate= supprimer) utilise le plus souvent un courant de radiofréquence qui est transmis à la distalité d'un cathéter-électrode positionné avec précision dans les cavités cardiaques, en regard d'une zone participant au circuit de réentrée. La suppression de l'intégralité électrophysiologique du circuit permet d'une part de guérir le patient de son trouble du rythme, mais aussi de confirmer "expérimentalement" la participation de la zone considérée au mouvement de réentrée. On réalise ainsi l'ablation de la branche droite du faisceau de His dans certaines tachycardies ventriculaires par réentrée de branche à branche, d'une voie accessoire (faisceau de Kent) dans les tachycardies réciproques du syndrome de Wolff Parkinson White, ou de l'isthme cavo-tricuspidé dans le flutter auriculaire commun.

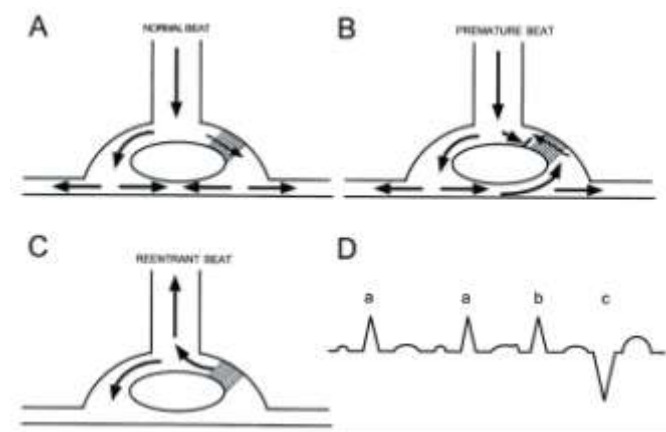


Figure 17. Représentation schématique d'un mouvement de réentrée circulaire avec obstacle anatomique (6).

c) *Réentrée fonctionnelle*

La première description de réentrée fonctionnelle a été donnée par Garrey en 1924 sur le cœur de tortue (407). Garrey avait suggéré que le point de stimulation cardiaque pût représenter l'épicentre de la rotation circulaire de l'influx. En 1946, Wiener et Rosenblueth développent à Mexico le premier modèle mathématique de mouvement de réentrée circulaire, renforçant l'idée d'une réentrée anatomique, mais ne permettant pas de confirmer le concept de réentrée fonctionnelle (408).

i) *"Leading circle"*

En 1973, Allesie et coll., à Maastricht en Hollande, apportent pour la première fois la démonstration que le maintien d'un mouvement de réentrée circulaire n'impose pas l'existence d'un obstacle anatomique (409-411). On déclenche, *in vitro* sur des oreillettes de lapin, une tachycardie par réentrée confirmée par une cartographie multi-électrodes. Le mouvement de réentrée s'effectue autour d'une zone dont la mesure de potentiel montre qu'elle est excitée mais non dépolarisée, se trouvant donc en période réfractaire relative permanente. En l'absence d'obstacle anatomique, le mouvement de réentrée est déterminé par la plus petite boucle compatible avec les données électrophysiologiques du tissu, en particulier sa période réfractaire. Dans ce cas, le front de propagation de l'influx est en contact avec sa queue qui est en période réfractaire relative. En d'autres termes, il n'existe pas d'intervalle d'excitabilité dans ce modèle de réentrée et la longueur du circuit est très proche de la longueur d'onde de la réentrée. Il n'est pas possible d'interrompre la tachycardie par extra-stimulation, et le mouvement est relativement instable car sensible aux propriétés électrophysiologiques du tissu, comme une augmentation de la période réfractaire. Cependant le modèle de "leading circle" est resté relativement théorique, s'adaptant mal en particulier de certaines propriétés électrophysiologiques inhérentes à la réentrée fonctionnelle, comme le phénomène de dérive, qui entraîne un déplacement battement à battement de l'épicentre de la réentrée.

ii) *Réentrée par anisotropie*

La propagation du potentiel d'action ne s'effectue pas uniquement en fonction des propriétés électriques, comme la période réfractaire et de l'excitabilité, mais aussi par le degré d'anisotropie entre les cellules (6). L'anisotropie provient de l'arrangement parallèle des fibres myocardiques et de la pauvreté des connections électriques dans le sens transversal. La vitesse de propagation dans le muscle cardiaque est 3 à 5 fois plus rapide dans le sens longitudinal que dans le sens transversal. Il a été suggéré que l'anisotropie structurelle pût constituer la base à une hétérogénéité des propriétés fonctionnelles, et permettre le démarrage et le maintien d'un mouvement de réentrée. Un mouvement de réentrée anisotropique a pu être démontré autour d'une ligne de bloc fonctionnelle située dans la zone épicaudique ischémisée en marge d'un infarctus du myocarde. Dans ce modèle, la zone de bloc unidirectionnel suit l'axe des fibres, et les zones de conduction lente sont représentées par les deux points de pivotements autour de la ligne.

Cependant le modèle de la réentrée par anisotropie reste relativement théorique pour plusieurs raisons:

1. La ligne de bloc ne suit pas strictement l'axe des fibres.
2. Il existe des changements de la direction de la ligne de bloc, survenant battement à battement, que l'on peut difficilement attribuer à l'anisotropie.
3. La zone de conduction la plus lente correspond aux zones de pivot de l'influx, quelques soit l'orientation des fibres.

4. Les propriétés anisotropiques du tissu cardiaque ont été impliquées dans la survenue d'une zone de "gap".

Finalement, la propagation anisotropique joue probablement un rôle dans le mécanisme des troubles du rythme cardiaque, mais en association avec d'autres facteurs comme les points de pivotement de l'influx et la structure macroscopique des tissus.

iii) *Figure en 8*

La réentrée selon une figure en 8 a été considérée comme un modèle important pour la survenue de troubles du rythme dans le contexte de l'infarctus du myocarde (412). Le modèle est celui de deux mouvements de réentrée fonctionnelle, tel qu'il sont décrit dans les réentrées par anisotropie, tournant en sens inverse l'un par rapport à l'autre, et partageant un isthme commune. La description de cet isthme est d'une importance stratégique, si l'on se projette dans le contexte du traitement de la tachycardie, c'est-à-dire de la suppression de cet isthme par radiofréquence. De fait cet isthme peut être détruit par radiofréquence. Le caractère purement fonctionnel de ce modèle est, comme dans le cas précédent très controversé.

d) *Réentrée en spirale*

El-Sherif et coll. (135) ont développé un modèle canin de QT long et de torsade de pointes. Il est devenu possible d'établir une cartographie de l'activation des torsades de pointes *in vivo* en utilisant des enregistrements unipolaires. Les mouvements de réentrée enregistrés correspondent à des mouvements complexes dits "en spirale", concept initialement introduit par Wiener et Rosenbluth (408). Le chapitre qui suit permet de mieux comprendre ces mouvements de réentrée complexes (6, 10, 16).

i) *Organisation spontanée d'un substrat excitable*

Une onde d'excitation peut donner lieu à un mouvement de réentrée en spirale sur tout substrat excitable. Ces ondes d'excitation comportent une période de rotation proche de la valeur de la période réfractaire. Par exemple, dans la réaction chimique de Belousov-Zhabotinsky, la force motrice est représentée par un gradient de concentration, en l'occurrence l'oxydation catalytique de l'acide malonique par du bromate dans de l'eau en présence d'un pH faible. Bien qu'il existe de nombreuses différences entre un modèle chimique et le tissu cardiaque (inhomogène, anisotropique), la réaction de Belousov-Zhabotinsky a servi de base pour le développement de modèles numériques permettant l'étude de la propagation bi ou tridimensionnelle de l'influx cardiaque (413). Le plus surprenant est que la prédiction de l'organisation en spirale de l'influx cardiaque basé sur ce type de modèles a été confirmée expérimentalement (399).

ii) *Propagation en spirale*

Le front de propagation d'une onde d'excitation linéaire ou circulaire est suivi par une bande de récupération. La distance entre le front et la queue de l'onde de propagation représente la longueur d'onde. La valeur de la longueur d'onde est à peu près égale au produit de la durée du potentiel d'action et de la vitesse de propagation du front d'activation. Lorsque la propagation se fait de manière plane ou circulaire, la vitesse de propagation est stable en tout point de l'onde d'activation, et le front et la queue de l'onde ne se rejoignent pas. À l'inverse, lorsque la propagation se fait en spirale (**Figure 18**), le front et la queue de l'onde sont en contact, au point de "cassure". Les points se situant à distance du noyau de la spirale ont un mouvement divergent, alors que ceux se trouvant à proximité du centre ont un mouvement convergent. La propagation en spirale est dépendante de la courbure du front d'activation qui ne peut dépasser une valeur critique.

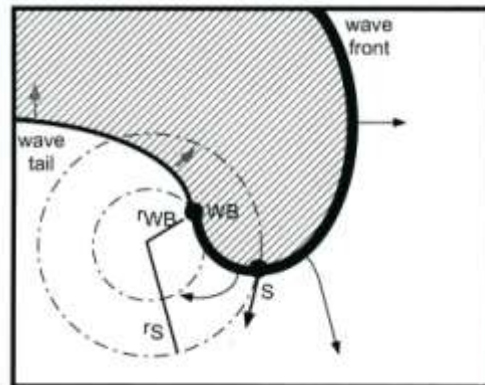


Figure 18. Représentation schématique d'un mouvement de réentrée en spirale dans un milieu homogène. Le trait gras épais représente le front d'activation. La zone hachurée représente la zone dépolarisée (queue de l'onde). Le front d'activation présente à la fois une courbure variable et une vitesse de conduction variable. Donc la trajectoire de chaque point du front d'activation varie selon sa position. Les points extérieurs suivent une trajectoire divergente, alors que les points intérieurs suivent une trajectoire convergente. A la jonction de ces deux types de points, le point S suit une trajectoire circulaire (rayon r_S) (6).

iii) *Le centre de la spirale: une zone de bloc fonctionnel?*

Dans le modèle de la réentrée fonctionnelle, par exemple le "leading circle", le centre du mouvement de réentrée est supposé être une zone de bloc fonctionnel du fait de l'effet dépolarisant de l'onde d'activation. Des observations expérimentales, montrant un déplacement battement-à-battement de ce centre, sont en opposition avec cette théorie. Dans le modèle de la réentrée en spirale, le noyau autour duquel se fait la réentrée n'est pas une vraie zone de bloc, mais correspond à une région non excitée du fait de la courbure marquée de "la tête" de la spirale. Par ailleurs, l'anisotropie du tissu n'est plus considérée comme un élément majeur de la constitution du mouvement de réentrée, que cela soit autour d'un obstacle anatomique ou fonctionnel. Lorsque la réentrée s'effectue autour d'une ligne, les zones de conduction lente peuvent survenir dans le sens longitudinal des fibres du fait du phénomène de courbure, alors que la conduction la plus rapide survient transversalement aux fibres (414).

iv) *Ondes et ondelettes*

La réentrée en spirale peut ainsi correspondre à la cassure d'une onde d'excitation donnant lieu à un mouvement de rotation en spirale autour d'une zone centrale non excitée (415). La dynamique de ce type de mouvement peut être beaucoup plus complexe en ce sens que la cassure d'une onde d'excitation, sur un obstacle fonctionnel ou anatomique, peut aboutir à de multiples "ondelettes", qui peuvent ensuite soit s'auto-entretenir, soit s'annihiler, et expliquer des modes d'activation spatio-temporelle plus complexes comme ceux observés dans la fibrillation auriculaire.

Le concept de courbure de l'onde d'activation et de cassure permet de mieux comprendre plusieurs autres phénomènes:

1. Initiation de la réentrée. L'initiation de la réentrée peut survenir dans un milieu totalement homogène tant sur le plan anatomique que fonctionnel. La seule condition tient alors à une hétérogénéité transitoire du milieu, qui peut résulter, au niveau cardiaque, dans l'application de deux stimuli judicieusement synchronisés, appliqués en 2 sites différents, et qui vont interagir pour donner lieu à l'initiation d'un mouvement en spirale ("cross-field stimulation").

2. Dimension du noyau de la spirale et excitabilité. La dimension et la forme du noyau de la spirale peuvent changer en fonction de l'excitabilité du milieu. Plus l'excitabilité du milieu est faible, plus la courbure du front de l'onde d'excitation est faible, et donc plus la taille du cœur de la spirale augmente, ainsi que la période de rotation.
3. Intervalle d'excitation. Il est possible de démontrer l'existence d'une réentrée en spirale comportant un intervalle d'excitation. Les conditions sont la présence d'un milieu de propagation homogène et une courbure marquée du front de l'onde, donc une vitesse de propagation lente. Des observations récentes sont en faveur d'un rôle actif du noyau de la spirale dans la genèse d'un intervalle d'excitation, en favorisant une repolarisation plus précoce de la queue de l'onde. Ce phénomène est observé sur une distance de 1 cm à partir du noyau de la spirale, et correspond à un phénomène d'interaction électrotonique. D'après des simulations effectuées en suivant le modèle de Rudy et Luo, ce même phénomène explique pourquoi la durée du potentiel d'action des cellules situées dans l'intervalle d'excitation d'un mouvement de réentrée en spirale est plus court que celui que l'on obtiendrait après la propagation d'un influx plan (414). C'est également ce qui pourrait expliquer l'installation d'une réentrée en spirale au sein de structures cardiaques de petite taille comme un cœur de souris, aboutissant à des fréquences d'activation bien supérieure à celles que l'on pourrait obtenir en présence d'une onde d'excitation plane.
4. Réentrée en huit. Le mouvement de réentrée suivant une figure en huit, décrit initialement par El-Sherif (412), correspond à deux mouvements de réentrée en spirale tournant en sens inverse et séparés par une petite distance. Tant les données obtenues à partir de simulations que celles obtenues expérimentalement par cartographie optique sont en faveur d'une augmentation de la vitesse de conduction dans la voie commune aux 2 spirales, probablement du fait de l'existence d'un front d'activation à courbure concave à ce niveau.
5. Phénomène de dérive. Le phénomène de dérive du noyau de la spirale (**Figure 19**) a été démontré expérimentalement dans différents milieux ainsi que par simulation sur ordinateur. Les principaux paramètres qui influencent le phénomène de dérive sont des gradients dans la durée du potentiel d'action et dans la vitesse de conduction. Le sens de la dérive se fait alors vers les potentiels d'action les plus longs et vers les zones dont la vitesse de conduction est la plus faible. La dérive peut également se produire le long de l'interface entre deux tissus ayant des propriétés électrophysiologiques différentes, par exemple deux vitesses de conduction différentes (416). La vitesse de la dérive sur du myocarde isolé peut représenter de 10 à 30% de la vitesse de déplacement d'un front d'activation plan.

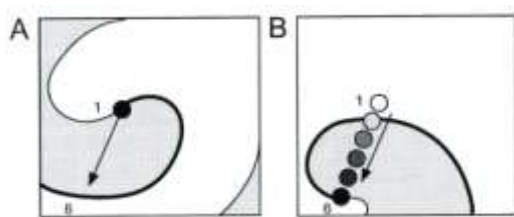


Figure 19. Phénomène de dérive de la spirale. Le centre de la rotation de la spirale passe progressivement du point 1 au point 6 (8).

6. Dérive et torsade de pointes. Le phénomène de dérive pourrait être à la base de phénotypes électrocardiographiques complexes, comme les tachycardies

ventriculaires polymorphes, ce qui a été étayé par la technique de cartographie optique. L'explication tient à un effet Doppler induit par la dérive, c'est-à-dire que la vitesse d'activation est plus rapide en avant que en arrière du noyau dérivant de la spirale, donnant ainsi lieu à deux cycles d'activation dominants (**Figure 20**). On peut rapprocher de cette idée les premières explications physiopathologiques justifiant le caractère régulièrement irrégulier des tachycardies étiquetées "torsade de pointes", qui supposaient l'existence de "deux foyers opposés variables" (3). La morphologie de torsade avait pu être reproduite par la stimulation d'un cœur de chien par 2 électrodes positionnées chacune sur un ventricule, et stimulant à 2 fréquences légèrement différentes. L'existence de 2 foyers différents n'est pas apparue comme plausible. Par contre, les deux cycles d'activation dominants pourraient être représentés par l'activation située en avant et en arrière d'une seule et même spirale dérivante. Cette hypothèse a pu être confirmée *in vitro* sur cœur de Langendorff.

7. Phénomène d'ancrage. Le phénomène d'ancrage d'une spirale dérivante autour d'un obstacle, constitué par exemple par une hétérogénéité du tissu, peut expliquer la transformation d'une tachycardie polymorphe à une tachycardie monomorphe. Les études théoriques suggèrent que la taille de l'obstacle qui va servir de zone d'ancrage doit être égale au moins à la taille du noyau de la spirale dérivante.

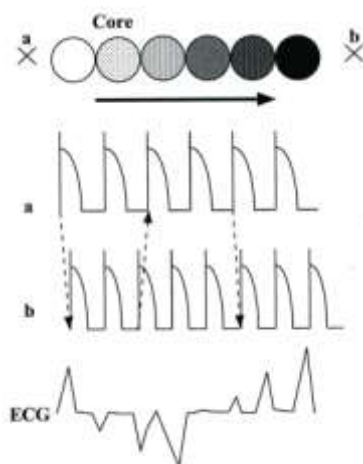


Figure 20. Effet Doppler. La fréquence d'activation produite par une réentrée en spirale dérivante du point a vers le point b est plus lente si elle est enregistrée en a qu'en b. La séquence d'activation peut changer d'un battement à un autre battement comme indiqué par les flèches (8).

Finalement, il existe deux hypothèses principales permettant d'expliquer la cassure d'une onde et la formation de plusieurs ondelettes. La première, la plus classique, est celle proposée par Moe et coll. en 1964 (417). Le concept de base est représenté par une hétérogénéité spatiale de la période réfractaire, comme on peut l'observer pendant la fibrillation auriculaire, et qui crée le substrat à des blocs de conduction ainsi qu'à une fragmentation des ondes de propagation, aboutissant à l'apparition et à la disparition continue de petits circuits de réentrée, qui se déplacent sur le substrat. L'autre hypothèse, formulée il y a moins de 10 ans, est dénommée hypothèse restitutive (418). Cette théorie stipule que la cassure de l'onde de propagation survient lorsque la pente de restitution de la durée du potentiel d'action est inférieure à 1 (pente de restitution définie par le changement de durée du potentiel d'action en fonction de la durée de la diastole précédente). Une troisième hypothèse a vu le jour plus

récemment, permettant d'expliquer la pérennisation d'une fibrillation ventriculaire (voire auriculaire). Cette théorie, dénommée conduction fibrillatoire (419), suppose l'existence d'une source unique à haute fréquence ("rotor") qui se propage avec un degré de bloc variable au reste du ventricule, par exemple.

v) *Organisation tridimensionnelle en rouleaux*

Aucune technologie ne permet actuellement d'effectuer de manière suffisamment précise une étude de la propagation dans le temps et dans les trois dimensions de l'espace. Les données sont donc principalement issues de modèles numériques (8, 10). Basé sur ces modèles (420), on a pu observer que les réentrées tridimensionnelles prennent un aspect de rouleau qui tourne autour d'un axe (filament). Le rouleau et l'axe représentent une projection tridimensionnelle des concepts bidimensionnels de spirale et de noyau. Cet axe n'est pas rigide et peut donc prendre des formes variées. L'existence d'un axe rectiligne donne en surface de la structure tridimensionnelle un aspect de réentrée du type spirale. Par contre, si l'axe prend une forme de U ou de O, l'aspect de la tachycardie en surface de la structure sera respectivement une double spirale créant une figure en huit et une tachycardie focale (421) (**Figure 21**). Les données théoriques prévoient que la forme de l'axe, autour duquel tourne le rouleau, dépend de la géométrie de la zone frontière entre le tissu normal et le tissu dont la période réfractaire est, par exemple, allongée. Enfin, cet axe peut être lui-même l'objet d'une dérive et d'une modification de sa géométrie, en fonction des zones d'ancrage rencontrées, donnant alors à la tachycardie un comportement encore plus complexe. Les données théoriques prédisent également que la vitesse de dérive et le raccourcissement de l'axe sont fonction de la courbure du filament. Plus l'axe est large, plus la dérive et le raccourcissement opèrent lentement, plus le mouvement de réentrée est durable.

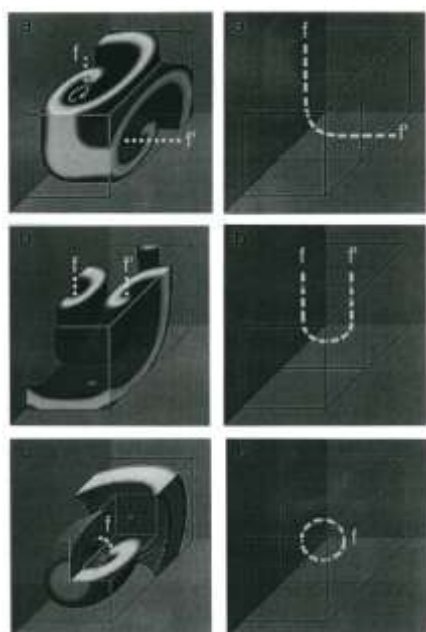


Figure 21. Différentes configurations donnant un aspect de réentrée en spirale en trois dimensions (10).

3. Physiopathologie des torsades de pointes

Les torsades de pointes représentent un trouble du rythme ventriculaire complexe qui a généré l'étude de nombreux modèles expérimentaux pour en cerner la physiopathologie (422). L'analyse critique de ces différents modèles suppose que l'on définisse préalablement les

items nécessaires et suffisants permettant de retenir ou non le diagnostic de torsade de pointes. Ces items sont au nombre de trois: 1) une tachycardie ventriculaire de morphologie caractéristique comportant une modification progressive de l'axe des QRS avec rotation autour de la ligne isoélectrique 2) l'existence d'un allongement de l'intervalle QT 3) La résolution spontanée de la tachycardie, malgré de rares dégradations en fibrillations ventriculaires (422). La réalisation de la plupart de ces modèles repose sur une association arythmogène retrouvée dans le syndrome du QT long acquis: bradycardie et prolongation de la repolarisation ventriculaire. La bradycardie est réalisée soit par bloc auriculo-ventriculaire (destruction physique ou chimique du nœud auriculo-ventriculaire), soit par stimulation vagale (stimulation électrique des afférences tronculaires vagales). L'allongement de la repolarisation ventriculaire repose sur l'usage d'un activateur du courant sodique tardif (comme l'anthopleurine-A) ou d'un bloqueur d'un courant potassique (comme le dofétilide pour I_{Kr}). À l'inverse de la plupart des tachycardies qui surviennent sur un substrat myocardique hétérogène, les torsades de pointes surviennent sur une anomalie homogène du myocarde (13).

a) Modèles expérimentaux de torsade de pointes

i) Modèles in vitro

La plupart des modèles *in vitro* de torsade de pointes utilisent des cœurs perfusés-isolés selon la technique de Langendorff. D'Alnoncourt et coll. (423) ont étudié des cœurs de cochon isolés-perfusés. Des tachycardies ventriculaires polymorphes ont été déclenchées par stimulation bifocale et quasi-phasique des ventricules droit et gauche, reproduisant expérimentalement l'hypothèse de Dessertenne de "deux foyers ventriculaires opposés variables" (3). Cependant, ces tachycardies sont survenues en l'absence d'allongement de l'intervalle QT.

Zabel et coll. ont utilisé des cœurs de lapin isolés-perfusés en reproduisant les circonstances favorisant la survenue d'un QT long et de torsades: une bradycardie, réalisée par bloc auriculo-ventriculaire, l'utilisation d'un bloqueur de I_{Kr} (clofilium ou d-l sotalol ou érythromycine), et éventuellement une hypokaliémie. Des torsades de pointes ont pu être enregistrées dans ces circonstances. L'accélération de la fréquence cardiaque, ainsi que l'utilisation de $MgSO_4$, ont eu un effet antiarythmique. Les tachycardies survenaient d'autant plus facilement que la kaliémie était basse. L'enregistrement de potentiels monophasiques retrouve des post-dépolarisations précoces. Asano et coll. (399) ont publié un modèle semblable en utilisant cette fois la quinidine et le E4031 (bloqueur spécifique de I_{Kr}). L'enregistrement de l'activation cardiaque, et plus précisément épicardique, a été obtenu par cartographie optique, en utilisant un colorant sensible aux modifications de potentiel. Les auteurs ont enregistré des activités multifocales sous-endocardiques interprétées comme des post-dépolarisations précoces. Cette activité pouvait aussi correspondre, en l'absence de confirmation par des enregistrements trans-membranaires, à des micro-réentrées ou à des interactions électrotoniques entre différentes couches cellulaires. Il existait une modification de l'axe du QRS corrélée au caractère multifocal des post-dépolarisations précoces. L'aspect de "torsade" ne pouvait cependant être reproduit qu'à la suite du déclenchement, secondaire aux post-dépolarisations précoces, d'un mouvement de réentrée en spirale comportant une dérive progressive de son centre.

Les données *in vitro* obtenues par des modèles expérimentaux "classiques" ont été enrichies par l'étude de modèles mathématiques appliqués sur ordinateur. Abildskov et Lux (424) ont observé que le mécanisme qui avait la meilleure probabilité de reproduire une tachycardie évoquant morphologiquement une torsade de pointes comportait un mouvement de réentrée en huit, déclenché par un extrastimulus naissant d'une région à période réfractaire plus courte, et se propageant avec un mouvement de dérive. Dans ce modèle, la stimulation

adrénergique, en raccourcissant les périodes réfractaires et en anticipant l'extrastimulus, facilite, le déclenchement des arythmies à l'image de ce que l'on peut observer dans le syndrome du QT long congénital (425).

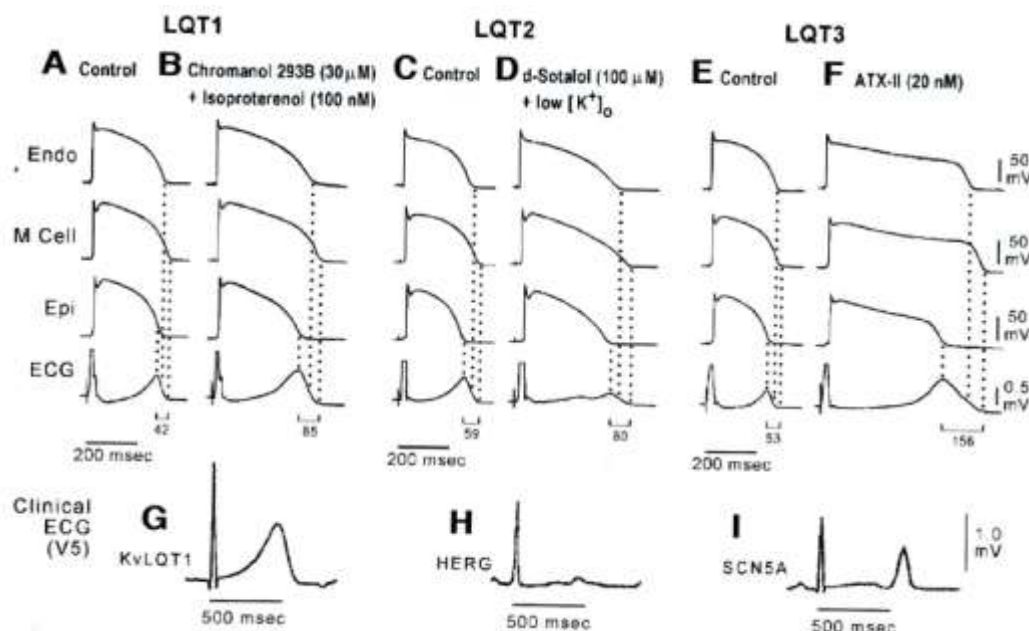


Figure 22. Potentiels d'action membranaire enregistrés dans un modèle de QT long mimant LQT1, LQT2, et LQT3 à partir d'un segment perfusé de cœur de chien, selon la technique décrite par Antzelevitch et coll. (voir texte pour détail) (16).

Antzelevitch a mis au point un modèle de QT long à partir de sa technique de segment myocardique canin perfusé. Cette technique permet de reproduire différentes formes de modèle de QT long congénital, grâce à des manoeuvres pharmacologiques, et d'étudier éventuellement les troubles du rythme à type de torsade de pointes que l'on peut déclencher (16, 426). Un des intérêts de cette technique est qu'elle permet de rapprocher des données électrophysiologiques cellulaires, récoltées au niveau de l'épicarde, du mid-myocarde, et de l'endocarde des données électrocardiographiques (**Figure 22**). Le bloqueur spécifique de I_{Ks} , le chromanol 293B, a été utilisé pour mimer le syndrome du QT long de type 1. Le blocage isolé de I_{Ks} génère une prolongation homogène de la repolarisation, et donc de la période réfractaire, dans les 3 couches myocardiques étudiées. Il est alors impossible d'induire une quelconque arythmie ventriculaire. L'addition d'une stimulation adrénergique, grâce à l'isoprénaline, entraîne un raccourcissement de la durée du potentiel d'action au niveau épicaire et endocarde, mais une prolongation paradoxale du potentiel d'action, ou l'absence de modification, au niveau mid-myocarde. La morphologie, et dans une certaine mesure la durée, de l'intervalle QT se modifient, donnant lieu à l'aspect caractéristique de la forme 1 du QT long, c'est-à-dire une onde T à large base, à pente ascendante douce, et à pente descendante brutale. La majoration de l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation ventriculaire, aboutit, dans ce modèle, à la survenue de troubles du rythme évoquant fortement à l'ECG des torsades de pointes, soit de manière spontanée, soit de manière déclenchée par extrasystole (115). Le recours de la stimulation adrénergique dans ce modèle est parfaitement en accord avec la sensibilité connue des patients porteurs de la forme 1 du QT long aux catécholamines (427-429).

Le d-sotalol, bloqueur spécifique de I_{Kr} , a été utilisé pour reproduire la forme 2 du QT long, ainsi que la forme la plus commune de QT long acquis. On observe ici un allongement

plus important de la durée du potentiel d'action des cellules M que des cellules épicaudiques et endocaudiques, une augmentation franche de la dispersion transmurale de la repolarisation, un allongement de l'intervalle QT avec un aplatissement de l'onde T, et enfin le développement de torsades de pointes. L'association à une hypokaliémie donne lieu à une modification supplémentaire de l'onde T qui prend une forme biphasique, caractéristique du syndrome du QT long type 2 (430). Enfin l'isoprénaline majeure encore la dispersion de la repolarisation ventriculaire, et augmente la fréquence des tachycardies spontanées (431).

L'ATX-II majeure le courant retardé sodique, et a donc été utilisé pour reproduire la forme 3 du syndrome du QT long (430). L'ATX-II majeure la dispersion transmurale de la repolarisation en augmentant de manière privilégiée la durée du potentiel d'action des cellules M par rapports aux autres couches myocardiques. L'intervalle QT prend aussi une morphologie assez évocatrice de la forme 3 du syndrome avec un allongement important de l'intervalle QT et un retard d'apparition de l'onde T. L'effet privilégié de ce produit sur les cellules M, mais dans une moindre mesure aussi sur les cellules épicaudiques, est expliqué par l'augmentation de la densité de ce courant sur ces cellules, à l'état de base (122). On observe dans ce modèle une fréquence dépendance relativement marquée de l'intervalle QT, et un déclenchement des tachycardies à des fréquences basses. La réponse à la stimulation ou à l'inhibition β -adrénergique est très proche de ce que l'on peut observer en clinique dans la forme 3 du syndrome du QT long. La présence d'isoprénaline diminue la dispersion transmurale de la repolarisation et diminue la survenue de tachycardies, alors que le β blocage a l'effet inverse (431).

ii) *Modèles in vivo*

Les expériences *in vitro* et *in silico*, ne peuvent se substituer à l'expérimentation *in vivo*. De nombreux modèles *in vivo* ont été conçus, basés sur l'étude du chien ou du lapin, le plus souvent sous anesthésie générale, dont l'allongement de l'intervalle QT et les troubles du rythme sont induits. La création d'un modèle animal de syndrome du QT long développant des arythmies à type de torsade de pointes reste un défi, bien que la transgénèse chez la souris ait apporté récemment des éléments nouveaux.

✓ Chien

Weissenburger et coll. ont développé un modèle canin de QT long acquis en associant bradycardie (bloc auriculo-ventriculaire) et hypokaliémie (fortes doses de diurétiques pendant plusieurs semaines). Les accès de torsade de pointes ont pu être obtenus sous quinidine (bloc de I_{Na} et I_{Kr}) ou sotalol (bloc de I_{Kr}). L'activité déclenchée et les tachycardies étaient largement réduites par la mexilétine (bloc de I_{Na}) (432), laissant supposer la participation du courant sodique dans la genèse de l'activité déclenchée.

Dans le modèle induit par l'association césium (bloc de I_f , I_K , I_{K1}) et bloc auriculo-ventriculaire (397, 433), des post-dépolarisations précoces pouvaient être enregistrées tant *in vitro* que *in vivo*. L'activité déclenchée et les tachycardies qui en résultaient étaient supprimées par l'accélération de la fréquence cardiaque (stimulation) ou la tétrodoxtine (bloc I_{Na}) (397). L'utilisation du césium pour construire un modèle de syndrome du QT long a cependant été critiquée du fait de son profil pharmacologique et métabolique complexe (434).

L'équipe de El-Sherif a utilisé un modèle de QT long induit par l'anthopleurine-A (AP-A, ralentissement de l'inactivation de I_{Na}) mimant donc le syndrome du QT long de type 3 (gain de fonction du courant sodique), dont la bradycardie était contrôlée par écrasement du nœud sinusal et la stimulation vagale. La première étude réalisée en 1988 a retrouvé une activité déclenchée naissant principalement du réseau de Purkinje, et donnant naissance à des tachycardies polymorphes s'interrompant spontanément ou se dégradant en fibrillation ventriculaire. Cette activité arythmogène pouvait être supprimée par l'accélération de la fréquence cardiaque (stimulation) ou l'utilisation de différents bloqueurs sodiques (435). Le même modèle a ensuite été utilisé pour réaliser des cartographies isochrones et

tridimensionnelles, de l'activation et de la repolarisation cardiaque, en dehors et pendant les épisodes de torsade de pointes (**Figure 23**) (135, 392). La cartographie de la repolarisation cardiaque reposait sur la mesure de l'ARI à partir de multiples enregistrements unipolaires trans-myocardiques obtenus grâce à 64 aiguilles transmyocardiques comportant chacune 6 électrodes. L'ARI ("Activation Recovery Interval") correspond à la durée séparant la valeur minimum de la dérivée première du QRS à la valeur maximum de la dérivée première de l'onde T (correspondant grossièrement au mi-parcours de la pente descendante de l'onde T). Cette valeur est en effet corrélée à la période réfractaire effective myocardique, c'est-à-dire la valeur de couplage la plus longue non suivie par une capture ventriculaire lors de protocoles de stimulation (436). À l'état de base, la dispersion transmurale de l'ARI est en moyenne de 37 ms pour un cycle de 1100 ms, les valeurs d'ARI les plus élevées étant retrouvées dans le mid-myocarde. Sous AP-A, il existe une augmentation importante de la dispersion transmurale de l'ARI, jusqu'à une valeur moyenne de 103 ms pour un cycle de 1100 ms, principalement dépendante d'une augmentation des valeurs d'ARI dans la zone mid-myocardique. Ces valeurs de dispersion transmurale sont proches de celles observées par l'équipe d'Antzelevitch dans des préparations *in vitro* (437), ce qui laisse supposer une interaction électrotonique plus faible que prévu entre les couches myocardiques à potentiel d'action long et court. Ce résultat pourrait s'expliquer par un certain "découplage" électrique, en particulier entre la couche mid-myocardique et la couche épicaudique. Il est à rapprocher des observations effectuées par Drouin et coll. sur le cœur humain, où l'orientation géométrique de l'épicarde apparaît perpendiculaire à celui du mid-myocarde (120).

La cartographie isochrone d'activation démontre que l'activation focale et prématurée déclenchant les tachycardies provient toujours de la zone sous-endocardique. Les auteurs suggèrent que cette activité corresponde à des post-dépolarisations précoces naissant du tissu de Purkinje et conduites au myocarde. Bien que les cellules M aient été identifiées dans les couches sous-endocardiques profondes, en particulier au niveau des muscles papillaires, du septum, et des trabécules (132), les auteurs avancent plusieurs arguments allant contre leur responsabilité dans la genèse des post-dépolarisations précoces *in vivo*:

1. Dans les études *in vitro*, les fibres de Purkinje génèrent des PDP à des concentrations d'AP-A plus faibles que pour les cellules M
2. Dans les cartographies *in vivo*, l'activité focale naissait presque toujours des couches sous-endocardiques les plus superficielles.
3. L'activité focale donnant lieu à des accès de tachycardie naît de couches à période réfractaire "courte", le sous-endocarde, pour se diriger ensuite vers des couches à période réfractaire plus longue, le mid-myocarde. Cette observation est cohérente avec le mécanisme de réentrée.

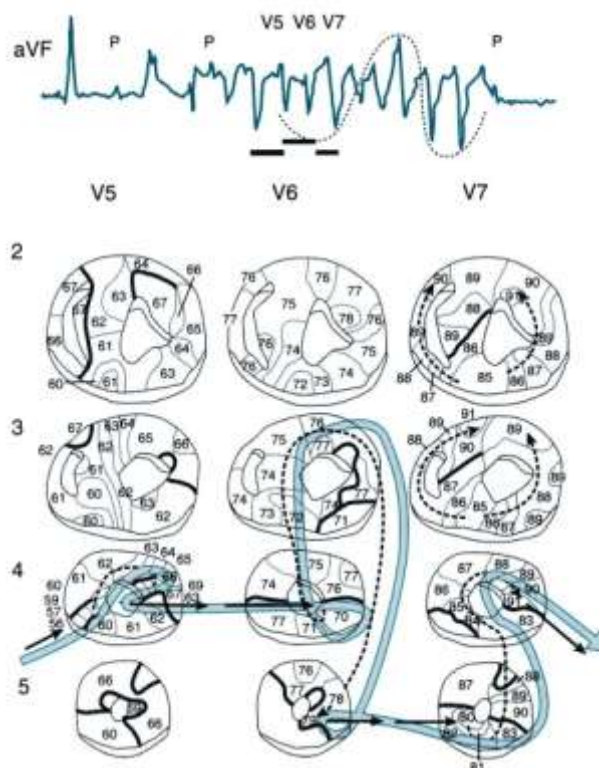


Figure 23. Activation ventriculaire tridimensionnelle d'un accès de torsade de pointes selon le modèle développé par El Sherif et coll. (13). Les cartes sont représentées comme si le cœur était découpé transversalement en 5 sections, de la base vers l'apex. L'activation isochrone est dessinée et numérotée par ordre croissant, avec des intervalles de 20 ms. Les zones de bloc fonctionnel sont représentées par des lignes plus épaisses. Les barres sur l'ECG correspondent à la durée étudiée pour chaque battement illustré sur la figure. Chaque battement de la torsade de pointes correspond à un mouvement de réentrée différent.

Dans l'étude publiée par le groupe de El-Sherif en 1997, la plupart des tachycardies étaient spontanément résolutes. Ces tachycardies étaient liées à des mouvements de réentrée correspondant à des mouvements en spirale (ou rouleaux en tridimensionnel) tournant autour des cavités ventriculaires. La rotation de l'axe des QRS autour de la ligne isoélectrique était due à la division d'un mouvement de réentrée en simple spirale en un mouvement de réentrée en deux spirales tournant simultanément, l'une autour de la cavité ventriculaire droite, l'autre autour de la cavité ventriculaire gauche ou au sein de la paroi libre du ventricule gauche, en sens horaire ou anti-horaire. L'initiation du mécanisme de division était induite par la survenue d'un bloc fonctionnel entre, d'une part la paroi libre du ventricule droit, et d'autre part le septum interventriculaire. L'interruption de la réentrée autour de la cavité ventriculaire droite était due au même mécanisme ou à une collision entre deux front d'activation. À l'inverse de la paroi ventriculaire gauche, la cartographie ne mettait pas en évidence de zone de conduction lente dans la paroi ventriculaire droite. Le bloc fonctionnel, survenant à la jonction entre la paroi libre ventriculaire droite et le septum interventriculaire, pouvait donc relever d'une modification brutale de l'impédance du circuit en rapport avec la modification géométrique structurale soudaine (438). Enfin, une limitation de ce type d'étude est secondaire à la capacité de résolution spatiale qui varie de 1 à 2 mm dans le sens transmurale, à 4 à 8 mm dans le sens longitudinal, et qui ne permet donc pas toujours de discriminer une activité focale d'une micro-réentrée.

La stimulation cardiaque a également été utilisée, par exemple pour reproduire un aspect électrocardiographique de torsade de pointes par stimulation bifocale sur un modèle de chien

après infarctus du myocarde (439). Vos et coll. ont testé la valeur proarythmique de la séquence de couplage "short-long-short" (440) sur la survenue de torsade de pointes dans un modèle de chien anesthésié, avec ou sans d-sotalol (441). La probabilité de survenue de torsade de pointes était augmentée par le sotalol, ainsi que par une modification du cycle cardiaque. Cependant le protocole "short-long-short" avait un effet proarythmique seulement identique au protocole de stimulation classique "8+1". L'utilisation de MgSO_4 , d'isoprotérénol, ou la stimulation cardiaque permanente prévenait la survenue des troubles du rythme. Sachant que les torsades de pointes ne sont pas inductibles dans le syndrome du QT long acquis chez l'homme, il est cependant difficile de considérer les torsades de pointes induites chez le chien comme un modèle de torsade de pointes.

✓ Lapin

Différents bloqueurs potassiques (442, 443) ont été utilisés dans des modèles de lapin à QT long anesthésiés par de l'alpha-chloralose, dont la fréquence cardiaque a été ralentie, soit par bloc auriculo-ventriculaire, soit par stimulation des récepteurs muscariniques (422). Néanmoins les tachycardies à type de torsade de pointes ne surviennent qu'en présence de méthoxamine, un agoniste des récepteurs α_1 (444, 445), et sont supprimées par la lidocaïne, bloqueur du courant sodique (446). On suppose que l'augmentation du taux de calcium libre intracellulaire provoqué par la stimulation sympathique participe, en combinaison avec le bloqueur potassique, à la genèse d'une activité déclenchée dépendante du calcium. La projection des informations issues de ce type de modèle à l'homme est rendue difficile par deux caractéristiques particulières: d'une part, la forte densité de récepteurs α_1 chez le lapin en comparaison des autres espèces (447), et par voie de conséquence sa forte sensibilité à la méthoxamine, d'autre part l'hypokaliémie induite par l'anesthésique utilisé, l'alpha-chloralose.

✓ Souris transgénique

L'utilisation de la souris comme modèle d'étude des troubles du rythme va croissant compte tenu des facilités de manipulations génétiques rendues possibles par l'amélioration des techniques, ainsi que par la connaissance poussée du génome murin. De plus, la taille de l'animal, et sa vitesse de reproduction, facilitent sa gestion en laboratoire. Enfin, des développements technologiques récents ont permis l'application à la souris, de techniques très sophistiquées, initialement développées chez l'homme, et ce malgré la petite taille de son cœur et la valeur élevée de sa fréquence cardiaque (600 à 700/mn, soit 10 fois plus rapide que chez l'homme) (448). Citons l'électrocardiogramme en haute résolution, la télémétrie, l'exploration électrophysiologique endocavitaire percutanée (permettant l'enregistrement du potentiel Hisien ou la réalisation d'une stimulation ventriculaire programmée), enfin l'échographie cardiaque. Plusieurs techniques sont également disponibles pour manipuler l'expression des canaux *in vivo*: par exemple, le promoteur α -MHC (chaîne lourde α de la myosine) permet d'orienter l'expression de sous-unités canalaire mutées vers le cœur, ou encore la recombinaison homologue peut interrompre l'expression de gènes codant pour des sous-unités canalaire ioniques (449). Ainsi, l'usage de modèle transgénique a largement participé ces dernières années à préciser la relation existant entre un gène codant pour sa sous-unité canalaire, et la fonction du canal ionique, tout particulièrement pour les canaux potassiques. Les modèles transgéniques permettent ici de combler une lacune des explorations *in vitro*, car celles-ci s'avèrent insuffisamment sélectives pour disséquer de manière fine les différentes composantes des courants ioniques représentées à l'échelon moléculaire par les différentes sous-unités canalaire. Les modèles transgéniques permettent par ailleurs de tester *in vivo* des hypothèses électrophysiologiques formulées à partir de modèles mathématiques.

Cependant, les potentiels d'action murins tant à l'étage atrial que ventriculaire, ainsi que les propriétés des courants ioniques qui les déterminent, sont notablement différents de ceux enregistrés chez les plus gros animaux, en particulier chez l'homme (450). Bien que la phase

0 du potentiel d'action soit similaire chez la souris et chez l'homme, portée dans les deux cas par un courant sodique entrant, la repolarisation est notablement différente. Cette différence est principalement liée à des variations d'expression des canaux potassiques, mais aussi à une modification du rôle fonctionnel de ces canaux. Par exemple, la contribution des courants I_{Kr} et I_{Ks} à la repolarisation des cellules myocardiques murines est inexistante (151), alors qu'il s'agit de deux courants repolarisants majeurs chez des grands mammifères (148). Le courant repolarisant majeur chez la souris est le courant I_{To} fast (I_{To1}) (451), alors que sa contribution est beaucoup plus modeste chez l'homme, puisqu'il contribue à la phase 1 de la repolarisation, et ce de manière plus ou moins marquée selon les couches cellulaires (111). Plusieurs approches transgéniques basées sur la dominance négative ont permis de démontrer que des sous-unités Kv4 codaient pour $I_{to,f}$ et qu'il y avait deux composantes distinctes de $I_{K,slow}$. Une approche complémentaire de délétion ciblée des sous-unités régulatrices Kv α et Kv β a révélé que les sous-unités principales correspondant aux courants $I_{to,f}$, $I_{to,s}$, et I_{Kslow1} étaient respectivement Kv4.2 et KChIP2, Kv1.4, et Kv1.5. Les courants I_{K1} et I_{KATP} reposent sur les sous-unités Kir2.1 et Kir6.2 (449, 450). Il est également intéressant d'observer que, malgré la suppression transgénique de différents courants potassiques repolarisants, le potentiel d'action de la souris peut ne pas s'allonger, laissant donc supposer l'existence de voies de secours ou de compensation permettant la repolarisation cellulaire. Une explication plus triviale pourrait aussi tenir à des conditions expérimentales variables selon les études, en particulier en ce qui concerne la température et les fréquences de stimulations avec lesquelles les données in vitro sont acquises (449).

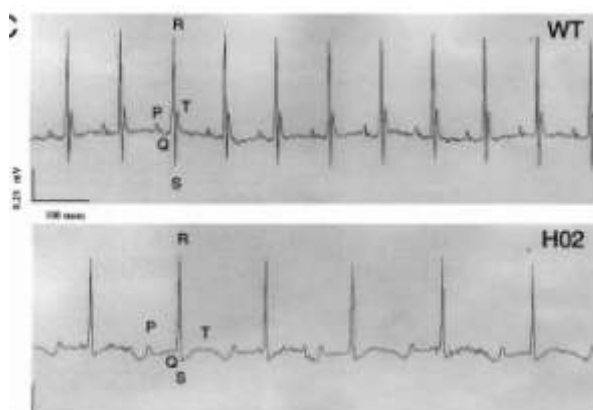


Figure 24. Enregistrement ECG en DI chez une souris standard (WT, wild type) et chez une souris invalidée fonctionnellement sur le gène KVLQT1 (lignée HO2). On observe chez la souris transgénique un élargissement de l'onde P, de l'intervalle PR et de l'intervalle QT, ainsi qu'une bradycardie (31).

Plusieurs modèles de souris transgéniques ont été proposés dans le cadre du syndrome du QT long (448). Bien que le courant I_{Ks} soit très faible dans les cellules cardiaque murines, plusieurs modèles ont visé à reproduire le *syndrome du QT long type 1* de l'homme. La délétion de KCNQ1 (exon 1) n'entraîne aucune manifestation électrocardiographique, mais il existe chez les souris homozygotes une surdité complète ainsi qu'un mouvement circulaire caractéristique, et un élargissement gastrique consécutif à un déficit de cellules gastriques pariétales (452). Cette atteinte extracardiaque est à rapprocher de l'expression de Kcnq1 dans de multiples épithéliums murins (453). L'atteinte extracardiaque de ces souris mime celle des patients atteints de la forme grave récessive homozygote du syndrome du QT long, le syndrome de Jervell et Lange-Nielsen (454). Un deuxième modèle de souris "délétées" (KO) de KCNQ1 (exon 2) présente un phénotype extracardiaque semblable, par contre, on observe

un allongement de l'intervalle QT mais pas de modification de la repolarisation *in vitro* sur cœur perfusé (455). Une autre approche a été proposée par notre laboratoire en réalisant une invalidation fonctionnelle de KvLQT1 murin par l'isoforme 2 humaine de KvLQT1 (tronquée en N-terminal), dominant négatif de l'isoforme 1, tant chez l'homme que chez la souris (140). On observe ici (**Figure 24**) un allongement important de la repolarisation ventriculaire tant *in vivo* que *in vitro*, mais aussi une dysfonction sinusale, un élargissement de l'onde P de l'ECG, et un allongement de la conduction auriculo-ventriculaire à l'étage nodal (31). Ce modèle comporte un remodelage complexe de l'expression des canaux ioniques, aboutissant à une réduction marquée de la densité de courant I_{to} et I_{K1} , sans modification histologique ou fonctionnelle pouvant évoquer une insuffisance cardiaque. La sévérité du phénotype, de même que la diminution de densité des courants touchés, est directement liée à la quantité de transgène produit. Le génome murin comporte un gène HERG, appelé *Merg1*, qui s'exprime dans le cœur, et dont la délétion ou l'invalidation fonctionnelle n'entraîne aucune anomalie de la repolarisation ventriculaire (456), et ne peut donc se rapprocher du syndrome humain LQT2. La *forme 3 du syndrome du QT long* comporte un gain de fonction sur le courant sodique SCN5A. La mutation Δ -KPG est responsable de certains cas de syndrome LQT3 (457), et donne lieu chez la souris transgénique présentant la même mutation un phénotype très proche, avec un allongement de l'intervalle QT, des post-dépolarisations précoces, et des troubles du rythme ventriculaire, parfois polymorphes (458). Le syndrome du QT long de type 4 est lié à une mutation sur une protéine d'accroche membranaire, et non à une mutation touchant une sous-unité canalaire ou régulatrice (459). Dans le cœur de souris, l'ankyrine-B mutée génère une élévation anormale du calcium intracellulaire qui pourrait être consécutive à une anomalie de fonctionnement de la Na-K ATPase membranaire, entraînant une augmentation d'activité de l'échangeur Na-Ca. Le phénotype cardiaque des souris LQT4 comporte, comme chez l'homme, un allongement de l'intervalle QT, une dysfonction sinusale, et des troubles du rythme d'effort. La *forme 5 du syndrome QT long* est liée à une mutation sur KCNE1, codant pour la sous-unité régulatrice de KvLQT1. Le trait phénotypique le plus marquant des souris *Kcne1* $-/-$ est un comportement "shaker-walzer" ainsi qu'une surdité, attribuée à un défaut de sécrétion de K^+ transépithélial dans l'oreille interne, et à un collapsus de certains espaces riches en endolymph (460). Ce trait phénotypique est commun aux patients atteints de syndrome de Jervell et Lange-Nielsen lié à une mutation sur KCNE1 (461). La repolarisation ventriculaire n'est pas perturbée chez les souris *Kcne1* $-/-$, quel que soit le type de transgénèse (délétion "simple", ou substitution par LacZ) (460, 462), là aussi du fait que le gène n'est quasiment pas exprimé dans le cœur murin à l'âge adulte (463). Néanmoins, une augmentation de la fréquence dépendance de l'intervalle QT est retrouvée dans un de ces modèles, comme il a pu être observé chez l'homme dans le cadre du syndrome du QT long de type 1, même en présence d'un intervalle QT normal (33). Le syndrome d'Andersen comporte un phénotype complexe touchant les muscles squelettique et cardiaque, se manifestant par une paralysie périodique et un syndrome du QT long, et comporte également des anomalies du développement (cranio-facial et thoracique) (464). Ce syndrome est en rapport avec des mutations sur KCNJ2 codant pour Kir2.1 responsable du courant I_{K1} . Les souris mutées sur Kir2.1 décèdent précocement, et les études périnatales retrouvent, outre une fente palatine également observée dans le syndrome d'Andersen, un allongement du potentiel d'action (465).

Peu de torsades de pointes murines ont été publiées dans la littérature. Le plus beau tracé est sans aucun doute celui enregistré par Alain Corbier sur notre modèle de souris invalidée fonctionnelle pour KCNQ1, après une injection intraveineuse de lactobionate d'érythromycine (**Figure 25**). Aucune étude systématique n'a malheureusement été réalisée. La souris a également peu été utilisée comme animal de screening des médicaments bloqueurs de HERG. Là encore, à ma connaissance, la seule étude convaincante émane de notre laboratoire dans le même modèle de souris transgénique (466). J'ai pu démontrer que ce modèle d souris

permettait de discerner efficacement les bloqueurs de HERG, des bloqueurs des autres courants ioniques (I_{Na} , I_{to} , I_{Ks}). La distinction de la réponse aux différentes substances prend en compte à la fois les données sur la repolarisation ventriculaire, mais aussi la fréquence cardiaque et la conduction auriculo ventriculaire.



Figure 25: Accès de torsade pointes chez une souris transgénique. Souris invalidée *KvLQT1* (lignée H02) chez laquelle est injecté de l'érythromycine lactobionate en intra-veineux. On observe un allongement progressif de l'intervalle QT avec ESV tombant dans l'onde T et déclenchant des accès de torsade de pointes résolutifs. C=tracé contrôle; E1', E2', et E3'=tracés à 1, 2, et 3 minutes après l'injection.

Les modèles de souris transgéniques ne sont pas exempts de limitations. Dans certains cas, il existe des différences phénotypiques entre les individus d'un même type de souris (très proches sur le plan génétique), alors que les souris sont porteuses de la même mutation. Ces différences restent mal éclaircies, car elles peuvent répondre à des phénomènes différents, voire multiples. La manipulation génétique elle-même peut être mise en cause, en d'autres termes, l'utilisation d'un transgène dominant-négatif en comparaison à une délétion ciblée. Mais on peut aussi incriminer des variations phénotypiques entre les différentes souches de souris utilisées (C57BL6, FVB, ou 129sV), l'induction d'un remodelage cardiaque complexe, ou les effets secondaires cardiaques ou extra cardiaques liés à la suppression d'un courant ionique (449). Certaines différences pourraient aussi être liées à une surexpression du promoteur, ou du transgène lui-même (467, 468). Ainsi, dans un des modèles développés au sein de notre laboratoire, une souris invalidée sur le gène *KCNQ1* par son dominant négatif (isoforme 2) (31), la sévérité du phénotype cardiaque pouvait être corrélée à la quantité de protéine mutante produite. Il semble donc souhaitable de tenter dans le futur, et malgré les difficultés techniques, de produire des animaux transgéniques en utilisant des promoteurs inductibles, permettant de contrôler de près le niveau d'expression du transgène (469). La délétion ciblée du transgène peut également être une source de problème. Les délétions des

gènes *ERG1* et *Kir2.1* (470) sont létales, soit *in utero*, soit dans les premiers jours de la naissance, interdisant alors l'étude fonctionnelle des conséquences de ces délétions sur le cœur (murin) adulte. La délétion de ces gènes exclusivement au niveau cardiaque pourrait permettre de contourner cette difficulté. L'augmentation du potentiel d'étude produit par les souris transgéniques passe donc par un meilleur contrôle dans le temps et dans l'espace de l'expression du transgène, donc par la mise au point et l'utilisation de promoteurs inductibles et spécifiques du cœur. Ces méthodes devraient aussi permettre de progresser dans la compréhension des mécanismes à la base du remodelage cardiaque, phénomène pour lequel la souris transgénique apparaît comme un animal expérimental de choix.

✓ Modèle de QT long congénital et torsade de pointes

L'existence d'une bradycardie, ainsi que la survenue de syncopes à l'occasion d'à-coups adrénergiques ont servi de base à l'implication du système neurovégétatif dans la genèse du syndrome du QT long (427, 471). La réalisation d'un déséquilibre neurovégétatif, par ablation du ganglion stellaire droit (relais parasympathique) ou la stimulation du ganglion stellaire gauche (relais sympathique) chez le chat anesthésié permettent de prolonger l'intervalle QT, de provoquer des modifications électrocardiographiques évocatrices (alternance de l'onde T) (472) et de tachycardies à type de torsade de pointes. Néanmoins, ce modèle ne donne pas lieu à des modifications de la repolarisation ou à des troubles du rythme aussi sévères que dans le syndrome clinique humain, et surtout l'avènement des canalopathies et leur lien avec le syndrome du QT long a sonné le glas (peut-être trop radicalement) de ce modèle. Moise et coll. ont publié un modèle de chiens berger allemand présentant des troubles du rythme ventriculaires héréditaires et des morts subites en l'absence de cardiopathie structurale (473). Les tachycardies ventriculaires sont non-soutenues, dépendantes de la bradycardie, et prédominent dans le jeune âge (474). L'absence d'allongement de l'intervalle QT ne permet pas de retenir ces chiens comme un modèle du syndrome du QT long. Cependant, l'existence d'un allongement de la durée du potentiel d'action impliquant possiblement I_{Ks} (475), l'enregistrement de post-potentiels précoces sur les cellules de Purkinje (476), et la présence d'un déséquilibre dans l'innervation cardiaque (477) sont autant de faits troublants. Ce modèle pourrait se rapprocher du syndrome de torsade de pointes à couplage court décrit par l'équipe de Lariboisière (478).

b) *Synthèse physiopathologique*

La physiopathologie des torsades de pointes répond, une fois de plus, au triangle de Coumel, où l'arythmie ne se déclenche que lorsque trois conditions sont réunies: une gâchette, un substrat, un équilibre neurovégétatif critique (479, 480). Les torsades de pointes sont des troubles du rythme ventriculaire associés au syndrome du QT long ou acquis, syndrome favorisé dans le dernier cas par des médicaments bloqueurs du courant I_{Kr} . Ces arythmies surviennent lors d'épisodes de bradycardie ou au décours d'une pause ventriculaire. Ces conditions sont également celles qui favorisent l'émergence de post-dépolarisations précoces et d'activité déclenchée, en particulier au niveau des cellules M et des cellules de Purkinje. Il est probable que cette activité déclenchée représente la "gâchette", c'est-à-dire à l'extrasystole qui va induire la torsade de pointes. La tachycardie elle-même s'initie puis se pérennise par des mouvements de réentrée complexes qui sont rendus possibles grâce à une dispersion importante de la repolarisation ventriculaire, et donc des périodes réfractaires, au sein du mur myocardique. Cette hétérogénéité des périodes réfractaires, qui existe à l'état de base, est accentuée par des mutations portant sur les différents gènes impliqués dans la forme congénitale du syndrome du QT long, ou par des médicaments, principalement des bloqueurs de HERG. Dans un cas comme dans l'autre, on réalise une situation comportant soit une augmentation des courants dépolarisants, ou une diminution des courants repolarisants. La stimulation adrénergique joue ici un rôle à la fois sur le substrat et sur la gâchette, favorisant

ou non, selon la situation, l'hétérogénéité des périodes réfractaires, et l'émergence de l'activité déclenchée.

F. Onde U

L'onde U a été identifiée, il y a bientôt un siècle, par Einthoven (481). Cette déflexion succédant à l'onde T, inconstamment présente, conserve encore aujourd'hui une physiologie largement débattue, et n'est spécifique d'aucune pathologie cardiaque (482).

L'intérêt porté à l'onde T, en dehors de ses liens avec l'ischémie myocardique, s'est développé parallèlement à la découverte du syndrome du QT long acquis, puis à l'allongement de la liste des médicaments incriminés dans la forme acquise du syndrome du QT long. Le volume de publications scientifiques dévolu à l'onde T, sans commune mesure avec celui qui est dévolu à l'onde U, en est la parfaite illustration. Si la recherche basée sur "T-wave" génère 3649 articles sur le site internet de la "National Library of Medicine" (www.ncbi.nlm.nih.gov) à la date du 21 avril 2006, celle basée sur "U-wave" en génère 12 fois moins (297). De plus, l'essentiel des informations concernant les caractéristiques de cette onde est issu de publications anciennes.

L'intérêt porté à l'onde U s'est récemment ravivé dans la lignée des nombreux développements liés à l'étude du syndrome du QT long ou acquis. Tout d'abord, le simple énoncé de "QT long" suggère que l'on soit en mesure de déterminer de manière fiable la fin de la repolarisation sur l'électrocardiogramme, donc la fin de l'onde T. Or l'onde T peut comporter dans certaines formes de QT long (type 2 en particulier) deux phases, dont la deuxième peut être confondue avec une onde U hypertrophiée, à tel point que certains articles parlent de "long QTU" (483, 484). D'autre part, une des théories de la genèse de l'onde U est basée sur la présence d'activité déclenchée, sous la forme de post-dépolarisations précoces dans certaines couches myocardiques. Ces post-dépolarisations précoces pourraient jouer un rôle important dans le déclenchement des torsades de pointes compliquant le syndrome du QT long (485). Enfin, à l'époque où de nombreux progrès ont été accomplis dans la compréhension de la physiopathologie de l'onde T elle-même, il est apparu important de tenter de combler une lacune cognitive datant de bientôt un siècle.

La première difficulté à laquelle on est confronté dans l'étude de l'onde U est d'ordre sémantique. La définition de l'onde U donnée dans "le Braunwald" (166) est alambiquée: "D'habitude, l'onde U et l'onde T sont clairement séparées. (...) Lorsque l'intervalle QT est prolongé (comme dans l'hypocalcémie ou l'administration de médicaments comme la quinidine), l'onde U peut être difficile à différencier de l'onde T...". Cette difficulté sémantique est en partie levée par des données récentes de la littérature. Viskin et coll. (486) étudient l'augmentation d'amplitude de l'onde U post-extrasystolique en l'absence de syndrome du QT long, à titre de marqueur potentiel d'événements arythmiques ventriculaires. La définition de l'onde U donnée dans cet article est: "une déflexion positive d'amplitude $\geq 0,1$ mV survenant n'importe quand après le sommet de l'onde T". Les différents exemples donnés dans l'article montrent clairement que les "ondes U" correspondent à des crochetages ("notch") empiétant sur la partie terminale de l'onde T. Lehmann et coll. (487) font preuve de plus de réserve dans l'intitulé de leur article: "T wave humps as a potential electrocardiographic marker of the long QT syndrome". Ces bosses sont définies selon des termes voisins de ceux qui définissent les ondes U dans l'article de Viskin et coll. (486). D'ailleurs, les différents exemples "d'ondes U" et de "bosses" donnés dans les deux articles, publiés à 2 ans d'intervalle, montrent qu'il ne s'agit que d'une seule et même entité électrocardiographique. Dans l'article de Lehmann, les "bosses" sont également dénommées ondes T2, succédant à des ondes T "classiques" dénommées T1. Plusieurs tracés reproduisent des ondes T1 et T2 suivies par une 3ème déflexion lente correspondant à une onde U. Ainsi, l'analyse de la littérature est rendue difficile par le fait que bon nombre de publications

relatives à l'onde U dans des circonstances physiopathologiques font référence, non pas à l'onde U, mais à une deuxième composante de l'onde T dont la branche descendante (plus rarement ascendante) est interrompue (34). Pour éclaircir au mieux l'exposé concernant la nature de l'onde U, je traiterai dans un premier temps de l'onde U "physiologique", telle qu'elle a été décrite par Einthoven, puis j'essaierai de dégager les circonstances physiopathologiques dans lesquelles on observe une modification de l'onde U, et non pas l'apparition d'une 2^{ème} composante de l'onde T, telle qu'elle est observée dans le cadre du syndrome du QT long acquis ou congénital (34).

1. Caractéristiques de l'onde U normale

L'onde U est une déflexion diastolique qui débute habituellement avec le deuxième bruit cardiaque (fermeture des valves ventriculo-artérielles, principalement la valve aortique), après la fin de l'onde T. Contrairement à l'onde T, l'onde U est symétrique, ou présente une pente ascendante plus raide que la pente descendante (488, 489).

La jonction T-U est proche de la ligne isoélectrique, mais peut être discrètement surélevée ou déprimée

La durée de l'intervalle QU augmente avec la durée de l'intervalle RR (490). Cependant cette fréquence dépendance semble être principalement due à l'intervalle QT. En effet, l'intervalle séparant la fin de T et l'apex de U (T-aU) est relativement indépendant du cycle cardiaque. Pour des valeurs de cycle variant entre 600 et 1200 ms, la valeur de l'intervalle T-aU mesure entre 90 et 110 ms. La valeur de l'intervalle T-aU ne se modifie pas après une brutale variation de l'intervalle RR, comme on peut l'observer en fibrillation auriculaire. L'intervalle séparant l'apex de U de la fin de U (aU-eU) apparaît dépendre de la fréquence puisqu'il varie de 160 à 230 ms pour des cycles variant de 600 à 1200 ms. La difficulté de mesure de la fin de l'onde U rend difficile l'interprétation de ce résultat.

L'axe de l'onde U est normalement proche de celui de l'onde T. Cependant, l'onde U est habituellement isoélectrique dans les dérivations DI et aVL.

L'amplitude de l'onde U varie directement avec l'amplitude de l'onde T, et dans une moindre mesure avec l'amplitude du complexe QRS. Dans 98% des cas, l'amplitude de la plus grande onde U (habituellement dans les dérivations V2 et V3) correspond à 11% (3% à 24%) de l'amplitude de l'onde T dans la même dérivation. Ainsi, l'amplitude de l'onde U dépasse rarement 0,2 mV (490).

La reconnaissance de l'onde U est fortement dépendante de la fréquence cardiaque. Parmi 500 patients à QT de durée normale, une onde U est identifiable dans 90% des cas dont la fréquence cardiaque est inférieure à 65/mn, mais s'avère rarement détectable (5%) au-delà d'une fréquence cardiaque de 95/mn (490).

2. Onde U pathologique

La présence d'une onde U négative (changement de polarité) est liée dans la majorité des cas à la présence d'une cardiopathie ischémique, d'une hypertrophie ventriculaire, d'une fuite valvulaire (aortique ou mitrale) (490). Cette anomalie est le plus souvent associée à d'autres anomalies électrocardiographiques.

L'augmentation d'amplitude de l'onde U peut se voir en présence d'une augmentation de l'inotropisme, soit post extrasystolique, soit induite pharmacologiquement (491)

3. Hypothèses sur l'origine de l'onde U.

Einthoven a, le premier, émis la théorie selon laquelle l'onde U était générée par la repolarisation tardive d'une zone du myocarde ventriculaire (481). Deux mécanismes peuvent théoriquement rendre compte d'un retard régional de la repolarisation. Le premier est un retard d'activation d'une zone myocardique (1). Le deuxième est un allongement régional de la

repolarisation. Plusieurs zones myocardiques présentent des potentiels d'action de durée allongée par rapport au reste du myocarde. Il s'agit des cellules de la couche mid-myocardique (2) et des fibres de conduction de Purkinje qui tapissent le sous-endocarde (3). Il faut souligner que l'hypothèse d'un retard régional de la repolarisation, quel qu'en soit son mécanisme, laisse supposer une faible interaction électrotonique entre les cellules responsables de l'onde U et le reste du myocarde, c'est-à-dire l'absence de communications à faible résistance électrique entre ces cellules. Cette faible interaction électrotonique, indispensable pour concevoir l'existence d'une zone du cœur électriquement active mais partiellement découplée du reste du myocarde, semble peu vraisemblable, et nécessiterait d'être démontrée. Dans le cas inverse, c'est-à-dire en présence d'une interaction électrotonique, on devrait s'attendre à une transition progressive de la repolarisation, et donc à une prolongation de l'onde T (voire à une onde T pluriphasique), plutôt qu'à une onde U séparée (492). Une deuxième théorie a été émise après avoir découvert que les post-dépolarisations pouvaient être présentes sous certaines conditions dans le myocarde *in vitro* (493). Ces post-dépolarisations sont intégrées dans le concept d'activité déclenchée (4). Les post-dépolarisations peuvent aussi s'intégrer dans le concept de couplage électromécanique (5).

a) *Un retard régional d'activation*

Théoriquement, un retard régional de la repolarisation pourrait être la conséquence d'un retard régional de la dépolarisation. Dans cette hypothèse, un allongement de la durée de la dépolarisation (donc un allongement de la durée du complexe QRS) devrait entraîner un allongement de la durée de l'onde U, ou un décalage dans la survenue de cette onde. Watanabe et De Azevedo (494) ont retrouvé un allongement de l'intervalle T-aU (fin de T - apex de U) en présence d'un bloc de branche gauche par rapport à la présence d'un bloc de branche droite. Mais cet allongement était principalement dépendant de l'allongement physiologique de l'intervalle QT dans le groupe bloc de branche gauche, dont la fréquence cardiaque était plus lente que dans le groupe bloc de branche droite. Enfin les valeurs de T-aU obtenues en présence de complexes QRS larges n'ont pas été comparées à celles qui auraient pu être mesurées en présence de complexes QRS fins. Kishida et coll. (495) ont mesuré le délai de survenue de l'onde U, c'est-à-dire la différence entre l'intervalle QTc et l'intervalle Q-aUc, en présence de différents troubles de conduction intraventriculaires aboutissant à un QRS large. Cette différence reste stable quels que soient les cas étudiés. Ils concluent que le délai d'apparition de l'onde U est une fonction de la durée de l'intervalle QT, et non de la durée du QRS. Ces arguments ne plaident donc pas en faveur de l'hypothèse "retard d'activation". D'autre part, dans cette hypothèse, il faudrait, compte tenu de la durée de l'intervalle T-aU, imaginer une zone se dépolarisant plusieurs dizaines de millisecondes après le reste du myocarde pour donner une repolarisation décalée d'un même délai. Globalement, l'hypothèse d'un retard de dépolarisation apparaît peu probable.

b) *L'hypothèse des cellules M*

Avant la découverte des cellules M par Sicouri et Antzelevitch (112), d'autres régions myocardiques avaient été présumées responsables de la genèse de l'onde U. C'était le cas du septum interventriculaire et surtout des muscles papillaires ("le syndrome des muscles papillaires") (496). L'hypothèse des auteurs était une prolongation de la systole de certaines zones myocardiques, dont les muscles papillaires. Cet allongement régional de la systole était supposé aller de pair avec un allongement de la durée du potentiel d'action des cellules myocardiques correspondantes. Cette hypothèse n'avait jamais pu être confirmée par des

cartographies intracardiaques mesurant les durées de potentiel d'action et les périodes réfractaires. Le syndrome des muscles papillaires a donc été délaissé.

Le rôle des cellules M dans la genèse de l'onde U a été tout d'abord suggéré par Nesterenko et Antzelevitch grâce à un modèle mathématique basé sur des expériences effectuées chez le chien (497). Ces derniers ont trouvé que l'amplitude de l'onde U était directement proportionnelle à la taille de la région mid-myocardique. Ce modèle a montré que la présence d'une onde U distincte, et non d'un prolongement de l'onde T, impliquait un découplage électrique entre les cellules M et les autres cellules myocardiques.

En 1995, plusieurs arguments pouvaient faire penser que les cellules M étaient bien le substrat électrophysiologique de l'onde U:

i) la durée du potentiel d'action des cellules M est clairement plus long que celui des autres cellules myocardiques, tant chez le chien (112), que chez l'homme (120);

ii) la durée de la repolarisation est suffisamment longue, tout du moins à cycle long, pour coïncider avec le délai de survenue de l'onde U; la prolongation importante de la durée du potentiel d'action des cellules M à fréquence cardiaque basse est en accord avec la prééminence de l'observation des ondes U à fréquence cardiaque basse; Drouin et coll. ont illustré leur article d'un exemple faisant coïncider un tracé en rythme jonctionnel et l'enregistrement sur un même rythme de potentiels d'action épicaudiques, mid-myocardiques, et endocardiques. On peut observer sur cet exemple une concordance entre la fréquence-dépendance de l'onde U et celle des cellules M.

iii) la masse des cellules M occuperait 40% de la paroi libre du ventricule gauche chez le chien (112), et est estimé à 30% de la masse myocardique globale chez l'homme, d'après la surface qu'elle occupe sur les coupes de cœur humain (120); cette masse myocardique apparaît suffisante pour que sa repolarisation puisse engendrer une déflexion sur l'électrocardiogramme;

L'idée du découplage électrique des cellules M a pu être renforcé par Drouin et coll. (120) grâce à des coupes histologiques effectuées sur des cœurs humains, retrouvant des couches sous-épicaudiques perpendiculaires aux couches épicaudiques. Cette disposition histologique particulière pouvait étayer l'augmentation des résistances électriques intercellulaires, indispensable pour expliquer le découplage électrotonique entre les cellules M et le reste du myocarde.

Cependant, dès cette époque, certains arguments apparaissaient dissonants dans la démonstration:

i) La dispersion transmurale de la repolarisation induite par les cellules M n'était vraiment marquée qu'à des fréquences non physiologiques. La relation retrouvée par Drouin et coll. (120) entre l'onde U *in vivo* et la repolarisation des cellules M *ex vivo*, n'a pu être obtenu que grâce à un enregistrement effectué chez un patient atteint de dysfonction sinusale dont la fréquence cardiaque était de 30/mn. À des fréquences de stimulation physiologiques, la dispersion transmurale de la repolarisation n'apparaît pas suffisante pour expliquer la genèse de l'onde U. La durée moyenne de la repolarisation des cellules M humaines est de 439 ms à une fréquence de 60/mn, soit seulement 90 ms de plus que la durée de la repolarisation des cellules endocardiques, et 70 ms de plus que la durée de la repolarisation des cellules épicaudiques. Cette valeur apparaît bien inférieure à celle de 200 à 250 ms observée chez l'homme *in vivo* (490), séparant la fin de l'onde T (repolarisation des cellules épicaudiques-endocardiques) de la fin de l'onde U (repolarisation des cellules M). Par contre, on peut noter que la durée de repolarisation des cellules M de 439 ms s'inscrit parfaitement dans la durée connue de l'intervalle QT à la fréquence cardiaque de 60/mn.

ii) Malgré les arguments histologiques avancés par Drouin et coll. (120), l'absence d'interaction électrotonique entre les cellules M et les autres couches myocardiques n'a pas été démontrée *in vivo*. Bien au contraire, la transition électrique entre les cellules M et les cellules endocardiques apparaît progressive chez l'homme. Il est possible que dans une préparation

ventriculaire maintenue *in vitro*, les conditions expérimentales, et en particulier l'ischémie relative de la préparation, puissent diminuer de façon artéfactuelle le couplage intercellulaire, voire amplifier artificiellement la durée de repolarisation des cellules M.

iii) Certaines observations cliniques indiquent que les ondes T et U représentent des ondes indépendantes. Ainsi, en présence d'un infarctus du myocarde aigu, on peut observer la survenue d'une onde de Pardee transformant la morphologie de l'onde T, alors même que l'onde U reste inchangée.

En 1998, l'équipe d'Antzelevitch (34) a mis au point une technique visant à étudier *in vitro* la repolarisation des différentes couches myocardiques chez le chien. Ces travaux mettent clairement en évidence que la fin de la repolarisation des cellules M correspond à la fin de l'onde T, et ne peuvent par conséquent rendre compte de la genèse de l'onde U (34). De plus, une encoche ("notch") apparaît dans la partie ascendante de l'onde T, lorsque le gradient électrique entre les couches endocardique et mid-myocardique est suffisant pour modifier le sens du courant transmyocardique. Cette encoche engendre une onde T bifide, dont la deuxième composante est souvent dénommée "onde U" dans la littérature. Or ce sont bien les mêmes potentiels cellulaires ininterrompus dont les variations du décours génèrent à la fois la première et la deuxième composante de l'onde T. Ces données expérimentales corroborent donc les observations de Lehmann (487) retrouvant chez des patients atteints du syndrome du QT long une onde T bifide et une onde U, et justifient l'usage de l'appellation "d'onde T2" plutôt que celle erronée "d'onde U" chez les patients présentant une simple bifidité de l'onde T.

Une fois récusée la responsabilité des cellules M dans la genèse de l'onde U, il convient donc de discuter d'autres hypothèses.

c) ***La repolarisation des fibres de conduction de Purkinje***

Le large diamètre et la faible contractilité des fibres de Purkinje ont facilité la réalisation des premières études d'électrophysiologie cellulaire par la technique de microélectrode. Ces cellules, bien distinctes du myocarde contractile sur le plan histologique, possèdent également des propriétés électrophysiologiques différentes. Outre l'existence d'une vitesse de dépolarisation (et donc de conduction) supérieure, les fibres de Purkinje présentent un allongement de la durée du potentiel d'action par rapport aux cellules myocardiques "ordinaires" (498). L'allongement concerne la phase en plateau du potentiel d'action de ces cellules. Il est lié à la persistance d'un courant sodique dépolarisant qui ne subit pas l'inactivation.

À la suite des observations effectuées par Corabœuf et coll. (498), Hoffman et Cranefield ont évoqué les premiers la responsabilité du réseau de Purkinje dans la genèse de l'onde U (499). Cette théorie a été reprise et soutenue principalement par Watanabe (500). Plusieurs arguments peuvent être proposés en faveur de cette hypothèse:

On peut observer une augmentation de l'amplitude de l'onde U et un allongement de la durée de la repolarisation des fibres de Purkinje dans des circonstances physiopathologiques identiques, soit la bradycardie, l'hypothermie, l'hypokaliémie, ou la prise de quinidine (500). Ces deux dernières circonstances sont cependant à considérer de manière prudente au vu des travaux de Yan et coll. (34) exposés plus haut, et publiés après l'article de Watanabe.

Le délai de survenue de l'onde U chez des animaux hypokaliémiques ou hypothermiques correspond à la durée de la repolarisation des cellules de Purkinje observée dans des conditions similaires *in vitro* (500).

Plusieurs arguments peuvent cependant être avancés à l'encontre de cette théorie:

i) La faible masse représentée par les fibres de Purkinje s'accorde mal avec la présence d'une déflexion visible sur l'électrocardiogramme. Les défenseurs de l'hypothèse "fibres de Purkinje" font cependant observer que l'onde U est le plus souvent présente sur les dérivations

précordiales les plus proches du cœur (V2 et V3) (494), laissant entendre qu'une masse myocardique plus importante donnerait lieu à une onde U présente sur l'ensemble des dérivations précordiales. De plus, la masse représentée par les fibres de Purkinje pourrait se trouver implémentée par des cellules dites "transitionnelles", tel que l'ont supposé Watanabe et De Azevedo (494). Enfin, la séquence d'activation des fibres de Purkinje serait très directionnelle (499).

ii) La pente descendante de l'onde U est plus douce que sa pente ascendante, à l'inverse des pentes ascendante et descendante de l'onde T (490). Cette différence de morphologie entre les ondes T et U n'est pas cohérente avec la similitude morphologique existant entre les phases 2 et 3 des potentiels d'action des cellules myocardiques et des fibres de Purkinje.

iii) L'intervalle séparant la fin de T de l'apex de U est indépendant de la fréquence cardiaque. À l'inverse, la différence entre la durée de potentiel d'action des cellules myocardiques et celle des fibres de Purkinje augmente lorsque la fréquence se ralentit.

iv) Un trouble de conduction intraventriculaire, comme un bloc de branche, modifie la séquence d'activation du myocarde ventriculaire et allonge son temps d'activation d'une durée correspondant à l'élargissement du complexe QRS. Si les fibres de Purkinje jouaient un rôle dans la genèse de l'onde U, on devrait observer une modification de polarité et un allongement de la durée de l'onde U en présence d'un trouble de conduction intraventriculaire. Kishida et coll. ont réalisé une étude sur les ondes U négatives, que l'on retrouve en particulier chez les patients hypertendus (495). Ils n'ont observé aucune modification de la polarité des ondes U chez les patients hypertendus, selon qu'il existait en association un bloc de branche droit ou gauche. Les informations relatives à l'allongement de la durée de l'onde U sont discordantes. Watanabe et De Azevedo retrouvent bien un allongement de l'intervalle T-aU chez les patients en bloc de branche gauche (mais cette allongement pourrait aussi être liée à un trouble de relaxation du ventricule gauche). Par contre, Kishida et coll. ont observé que le délai d'apparition de l'onde U était fonction de la durée de la repolarisation ventriculaire, et non de la durée de l'activation ventriculaire (495). De plus, en présence d'un bloc de branche droite, le délai d'apparition de l'onde U est plus influencé par la présence d'une hypertrophie ventriculaire droite que par la présence du bloc (494).

v) Le délai séparant la fin de la repolarisation des cellules M, les dernières cellules myocardiques à se repolariser, et la fin de la repolarisation des fibres de Purkinje est de l'ordre de 40 ms chez le chien (34). Cet intervalle n'apparaît pas suffisant pour rendre compte des 200 à 250 ms séparant la fin de l'onde T de la fin de l'onde U.

En conclusion, il existe dans la littérature un faisceau d'arguments indirects qui plaide contre la responsabilité des fibres de Purkinje dans la genèse de l'onde U.

d) *Les post-dépolarisations et le couplage mécano-électrique.*

Comme cela est exposé plus haut, les arythmies peuvent être liées à des anomalies de la genèse de l'influx, dénommées post-dépolarisations. Dès 1939, Nahum et Hoff (501), puis Lepeschkin (502), ont suggéré que l'onde U, mais aussi les extrasystoles ventriculaires, étaient liées à des post-dépolarisations négatives contemporaines de la période super normale de conduction et générées par des myocytes ventriculaires aspécifiques. Cette théorie s'appuyait sur 2 éléments principaux : i) l'enregistrement synchrone de post-potentiels par des électrodes à succion sur des cœurs isolés-perfusés avec des ondes U recueillies par des électrodes épicaudiques ii) l'existence d'une corrélation positive entre l'amplitude de ces post-potentiels, celle des ondes U, et la force de la contraction ventriculaire. Cette hypothèse a été ensuite abandonnée. En effet, si l'onde U peut être enregistrée dans 40% environ de la population "normale" (120), l'enregistrement de post-dépolarisations précoces *in vivo* par la technique des MAP (Monophasic Action Potential) n'a pu être réalisée qu'en présence d'anomalies importantes de la repolarisation ventriculaire chez des patients atteints du

syndrome du QT long (503). In vitro, les enregistrements intracellulaires n'ont pas permis de retrouver des post-potentiels dans le myocarde normal. L'enregistrement de post-dépolarisations précoces *in vitro* n'a pu être effectué qu'en présence de circonstances favorisant extra-physiologiques (acidose, milieu pauvre en potassium, césium, quinidine, etc...). Il apparaît donc difficile de rattacher l'onde U à des post-dépolarisations dépendantes de la repolarisation ventriculaire. Par contre la responsabilité de post-dépolarisations déclenchées par l'étirement du myocarde ventriculaire pendant la phase de remplissage rapide reste concevable (490, 502). Ce mécanisme est à rattacher au concept de couplage mécano-électrique.



Figure 26. Stretch Activated ion Channel (22). Myocyte ventriculaire de rat nouveau-né. Configuration en celle-attachée. Entre ON et OFF, on maintient une pression négative de 2 mmHg, soit pendant 20s. Pendant cette période, on enregistre un courant entrant. B et C correspondent au 50s suivant l'arrêt de la succion.

L'expression de *couplage mécano-électrique* ("mechanoelectrical feedback") correspond à des phénomènes électrophysiologiques induits par des changements dans les conditions de charge myocardiques (501, 504, 505). Les canaux ioniques dont la probabilité d'ouverture est fonction de la tension membranaire (« Stretch-Activated ion Channel=SAC) semblent être ubiquitaires : ils ont été décrits aussi bien chez les plantes, que chez les bactéries, ou encore les animaux vertébrés ou invertébrés (506). Le SAC le mieux décrit, indépendant du temps et du voltage, est peu sélectif pour les cations (SAC_{cat}) (22) (**Figure 26**). Il possède un potentiel d'inversion positif de 31 mV par rapport au potentiel de repos membranaire. On peut le bloquer grâce au gadolinium (507), à la streptomycine, et à un peptide isolé du venin d'araignée. Ce canal, responsable d'un courant entrant dépolarisant est très probablement porté par les ions sodium. D'autres SAC, perméables au potassium, ou peu sélectifs pour les cations et les anions, ont été décrits. La tension semble également augmenter l'activité de la partie lente du courant retardé rectifiant entrant, I_{Ks} (508). Les modifications de tension peuvent aussi modifier les concentrations de calcium intracellulaire, et influencer des canaux ioniques régulés par le calcium intracellulaire. Cependant le SAC_{cat} ne semble pas influencé par le calcium. C'est à Dudel et Trautwein que l'on doit la première description du couplage mécano-électrique (509). Les premières études effectuées sur des préparations isolées de muscle et des ventricules de grenouille ont montré qu'une brève majoration de la tension pouvait induire une diminution du potentiel de repos membranaire, la survenue de dépolarisations prématurées, et un raccourcissement de la durée du potentiel d'action. Ces données préliminaires ont été confirmées par des études effectuées sur des cœurs isolés de mammifères et, *in vivo*, chez le chien et le porc. L'augmentation de pression provoquée par une augmentation du volume télé diastolique provoque une diminution d'amplitude du potentiel d'action, des dépolarisations diastoliques, voire des extrasystoles en salves enregistrées par la technique de MAP (**Figure 27**) (25). Dans certains cas, la chronologie du post-potential induit par la tension peut faire penser à une post-dépolarisation précoce ou tardive. Cependant la similitude morphologique n'implique pas une similitude de mécanisme. Les post-dépolarisations précoces ou tardives sont dépendantes du potentiel d'action les

précédant, contrairement aux post-dépolarisations induites par la tension qui en sont indépendantes. De plus les mécanismes ioniques diffèrent. Une augmentation continue, et non paroxystique, de la tension entraîne un raccourcissement de la durée du potentiel d'action et de la période réfractaire, ainsi qu'un déplacement vers la gauche de la courbe force-intervalle (510). Point important, l'amplitude de ces modifications électrophysiologiques est variable dans l'espace, plus importante à l'apex qu'à la base du cœur, voire s'inverse dans certaines zones myocardiques. L'augmentation continue de la tension pariétale induit donc une majoration de l'hétérogénéité électrique du myocarde, créant de ce fait un substrat électrophysiologique aux mouvements de réentrée, et facilitant ainsi la survenue de troubles du rythme (505).

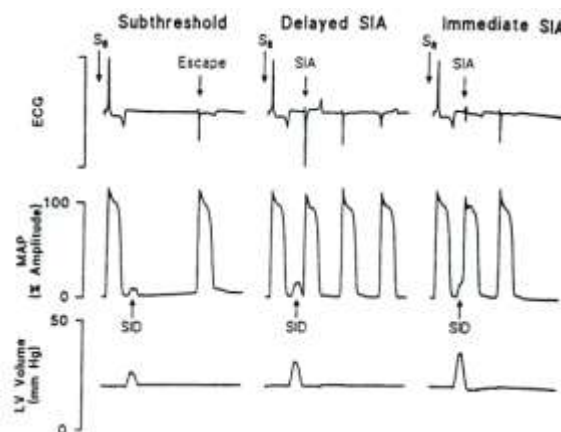


Figure 27. Dépolarisation induite par le stretch (25). Enregistrement de MAP. L'augmentation transitoire du volume ventriculaire gauche, précocement dans la diastole, entraîne une dépolarisation qui n'atteint pas le seuil de dépolarisation (SID=Stretch Induced Depolarization). L'augmentation du stretch entraîne une dépolarisation tardive puis immédiate.

Sachant que les post-dépolarisations induites par la tension surviennent pendant la diastole, plusieurs études échographiques ont cherché à mettre en rapport des troubles de la fonction diastolique et une inversion de l'onde U. Fu et coll. (511) ont effectué des échographies chez des patients hypertendus lors d'épreuves de contraction isotoniques du membre supérieur ("handgrip"). Ils ont observé une inversion de l'onde U simultanément à une augmentation de la taille du ventricule gauche. Choo et Gibson (512) ont retrouvé une association entre des anomalies de la relaxation du ventricule gauche et la présence d'une onde U inversé chez des patients hypertendus.

Actuellement, les principaux arguments plaçant pour une responsabilité du couplage mécano-électrique dans la genèse de l'onde U sont représentés par :

- i) la possibilité d'induire des post-dépolarisations par stimulation mécanique
- ii) la simultanéité de l'onde U et du début de la relaxation ventriculaire (488, 489).
- iii) l'augmentation de l'amplitude de l'onde U parallèlement à l'augmentation du volume diastolique (fréquence cardiaque lente) (489)
- iv) la survenue plus précoce de l'onde U lorsque la relaxation ventriculaire est anticipée, par exemple en présence d'une stimulation beta-adrénergique (491)
- v) l'association entre une inversion de l'onde U et des troubles de la relaxation du ventricule gauche.

4. Conclusion

Bientôt un siècle après sa description, les mécanismes électrophysiologiques servant de base à l'onde U restent encore débattus. Il est cependant souhaitable de considérer de manière circonspecte les publications traitant de l'allongement de l'intervalle QTU, ou encore de l'augmentation d'amplitude de l'onde U. Il apparaît en effet probable, tant au vu des données publiées récemment par l'équipe d'Antzelevitch (34), que celles plus anciennes relatives au couplage électromécanique (504), que bon nombre de publications ont dû traiter d'une onde T bifide plutôt que de la fusion entre les ondes T et U.

III. LE SYNDROME DU QT LONG CONGENITAL.

A. Données historiques

En 1957, Jervell et Lange-Nielssen décriront pour la première fois un syndrome insolite au sein de plusieurs fratries Norvégiennes associant une surdité, des syncopes récidivantes, un aspect bizarre de l'électrocardiogramme comportant un allongement important de l'intervalle QT, et la survenue de morts subites dans la petite enfance (454). Ils conclurent après plusieurs études que la mort subite était d'origine cardiaque, bien que le cœur ait été trouvé normal à l'autopsie. La transmission de ce syndrome semblait autosomique et récessif. Deux publications furent réalisées de manière indépendante par Romano en 1963 et Ward en 1964 donnant la description d'un syndrome semblable, mais chez des enfants indemnes de surdité (36). La transmission du syndrome était de type autosomique dominant. De plus, ils identifièrent que les symptômes coïncidaient avec la survenue de troubles du rythme ventriculaire.

Bien que ces 3 études aient clairement été les premières à identifier et à étiqueter le syndrome du QT long, il faut probablement attribuer à Meissner, en 1856 en Allemagne, la première description de cas cliniques s'apparentant (en l'absence d'ECG) à ce syndrome (513). Il rapporta en effet le cas d'une petite fille sourde qui fit une mort subite alors qu'elle se faisait fortement réprimander à l'école. Les parents indiquèrent que ses 2 frères avaient eux aussi fait une mort subite à la suite d'accès de colère. Morquio en 1901 (514), puis Latham et Munro en 1937 (515) firent des descriptions semblables. C'est finalement Möller qui, le premier en 1953, décrivit chez un enfant sourd présentant des syncopes à répétition, un aspect ECG pathologique comportant bradycardie, onde T de morphologie anormale, et allongement de l'intervalle QT, évoquant donc rétrospectivement un syndrome du QT long de type Jervell et Lange-Nielssen.

À la suite des descriptions *princeps* des 2 formes principales du syndrome du QT long congénital, la perception physiopathologique de la maladie suivit 2 grandes phases. La première, qui perdura jusqu'à la fin des années 80, vit l'attribution de la pathogénie de la maladie à un déséquilibre de la balance neurovégétative, hypothèse soutenue principalement, et grâce à de nombreux travaux, par l'équipe italienne de Schwartz (471). En 1966, Yanowitz et coll. rapportèrent que l'intervalle QT pouvait être allongé par ablation du ganglion stellaire droit ou par stimulation du ganglion stellaire gauche (516). Ces données furent utilisées 5 ans plus tard par Moss et McDonald qui réalisèrent une sympathectomie cardiaque gauche chez un patient atteint du syndrome du QT long et réfractaire au traitement médical (517), procédure dont le bénéfice fût confirmé par l'équipe de Schwartz. Peu de temps après, Schwartz et Maliani purent produire une alternance de l'onde T par stimulation du ganglion stellaire gauche (472). C'est à cette époque que l'hypothèse d'un déséquilibre sympathique, en rapport avec une faiblesse du tonus sympathique droit, fût proposé comme pouvant être à la

base du syndrome, les épisodes de syncopes étant eux déclenchés par décharges sympathiques naissant du ganglion sympathique gauche. La démonstration d'une augmentation du seuil de fibrillation secondaire à la stellectomie unilatérale gauche chez l'animal, à l'inverse de la stellectomie unilatérale réalisée à droite, constitua un argument supplémentaire pour proposer cette thérapeutique dans le traitement du syndrome du QT long.

En 1991, Keating et coll. établissent une liaison entre le syndrome du QT long congénital et le locus Harvey ras-1 sur le bras court du chromosome 11 avec un lod score de 16,44 (518). Le caractère génétique de ce syndrome et son hétérogénéité furent établis dans les années qui suivirent. Pas moins de 7 gènes purent être liés au syndrome du QT long. La plupart d'entre eux codent pour des canaux ou des sous-unités régulatrices de courants ioniques membranaires, dont l'intensité est le plus souvent diminuée, lorsqu'il s'agit de courants potassiques repolarisants (LQT1, LQT2, LQT5, LQT6, LQT7), ou augmentée, lorsqu'il s'agit de courant sodique dépolarisant (LQT3). Le gène lié au syndrome du QT long de type 4 fut longtemps représenté par un point d'interrogation dans les tableaux, le locus ayant été identifié sur le chromosome 4 par Hervé Le Marec et son équipe à Nantes en 1995 (519). Très récemment, le phénotype cardiaque d'une souris transgénique a pu être rapproché de celui des patients atteints, et a ainsi permis de lier la forme 4 du syndrome du QT long au gène de l'ankyrine-B (459). La forme 4 du syndrome du QT long représente ainsi une vision très nouvelle de cette maladie: par le mode de découverte, l'utilisation de la transgénèse, par l'absence d'implication directe d'une protéine canalaire, l'ankyrine-B est une protéine d'accroche, et enfin par la sémiologie, le syndrome du QT long de type 4 est aussi une forme familiale de fibrillation auriculaire paroxystique.

B. Génétique

Dans les années 90, Keating et son groupe ont introduit un concept nouveau: l'existence de mutations sur un gène codant pour un canal ionique cardiaque peut être à la base d'un substrat arythmogène et d'une mort subite rythmique (**Table 4**) (73-75, 518). Le syndrome du QT long est génétiquement hétérogène. À ce jour, 7 gènes ont été identifiés dans le syndrome du QT long: KCNQ1 (LQT1) sur le chromosome 11 (locus 11p15.5), KCNH2 (LQT2) sur le chromosome 7 (locus 7q35-q36), SCN5A (LQT3) sur le chromosome 3 (locus 3p21-p23), le gène de l'ankyrine-B (LQT4) sur le chromosome 4 (locus 4q25-q27), KCNE1 (LQT5) sur le chromosome 21 (locus 21q22.1-p22.2), KCNE2 (LQT6) également sur le chromosome 21 (locus 21q22.1-p22.2), et KCNJ2 (LQT7) sur le chromosome 17 (locus 17q23) également responsable du syndrome d'Andersen. Cinq de ces 7 gènes codent pour des protéines impliquées dans différents courants potassiques repolarisants. La prévalence de ces formes familiales de QT long est estimée à 1/100 000, et le nombre des mutations décrites à ce jour dépasse 177 (520). Le nombre de patients atteints du syndrome du QT long est estimé à 1/5000 (521).

Table 4. Classification des canalopathies arythmogènes (12).

Disease Cluster	Disease Type	Disease Subtype	Locus	Gene	Protein	Protein Function	Reference
Diseases of voltage-gated ion channels	I_{Ks} disease	LQT1	11p15.5	KCNQ1	KVLQT1	I_{Ks} channel (α subunit)	1
		LQT5	21q22.1-p22.2	KCNE1	MinK	I_{Ks} channel (β subunit)	7
		LQT-JLN1	11p15.5	KCNQ1	KVLQT1	I_{Ks} channel (α subunit)	4
		LQT-JLN2	21q22.1-q22.2	KCNE1	MinK	I_{Ks} channel (β subunit)	5
		LQT2	7q35-q36	KCNH2	HERG	I_{Kr} channel (α subunit)	2
	I_{Kr} disease	LQT6	21q22.1-p22.2	KCNE2	MiRP1	I_{Kr} channel (β subunit)	16
		LQT3	3p21-p23	SCN5A	Nav 1.5	I_{Na} channel	3
	I_{Na} disease	Br-S 1	3p21-p23	SCN5A	Nav 1.5	I_{Na} channel	35
		Lenègre	3p21-p23	SCN5A	Nav 1.5	I_{Na} channel	45
		Mixed phenotype	3p21-p23	SCN5A	Nav 1.5	I_{Na} channel	49
Disease of anchoring proteins	I_{Ca} disease	And-S 1	17q23	KCNJ2	Kir2.1	I_{Ca} channel	53
		LQT4	4q25-q27	ANK2	Ankyrin B	Ankyrin	59
	Diseases of intracellular Ca^{2+} handling proteins	Ryanodine receptor disease	1q42-43	RyR2	RyR2	Ryanodine receptor	61
		Calsequestrin disease	1p11-13.3	CASQ2	CASQ2	Calsequestrin	67

1. KCNQ1 et KCNE1 (LQT1 et LQT5)

Les 2 gènes, KCNQ1 et KCNE1, codent pour les protéines, KvLQT1 et minK, dont le assemblage forme un canal ionique responsable du courant repolarisant potassique retardé lent, appelé I_{Ks} . MinK représente la sous-unité régulatrice β du canal qui est constitué par un tétramère de sous-unités canalaire α , donc par 4 protéines KvLQT1. Les mutations sur KCNQ1 sont responsables de la majorité des syndromes autosomiques dominants de type Romano et Ward, soit 50% des patients génotypés. À l'inverse les mutations sur KCNE1 ne donneraient que 5% des syndromes du QT long génotypés (522).

Les formes homozygotes (en particulier dans les familles consanguines) et les formes à double hétérozygotie (523), tant pour KCNQ1 que de KCNE1, donnent lieu à la forme autosomique récessive du syndrome de Jervell et Lange-Nielsen (soit les formes JLN1 et JLN2, respectivement) qui est caractérisé par le phénotype cardiaque du syndrome du QT long auquel s'associe une surdité neurosensorielle (461, 524). La disparition de l'allèle normale qui peut contribuer aux protéines cardiaques à concurrence de 50% chez les patients atteints du syndrome de Jervell et Lange-Nielsen explique pourquoi leur phénotype cardiaque est beaucoup plus sévère que celui de leurs 2 parents atteints d'un syndrome de Romano et Ward (461). Les parents des sujets atteints du syndrome de Jervell et Lange-Nielsen sont habituellement asymptomatiques sur le plan cardiaque, et sans surdité. Certaines mutations de KCNQ1 ne donnent pas de surdité à l'état homozygote.

Plus de 100 mutations différentes ont été décrites sur KCNQ1 de par le monde. La plupart des mutations identifiées tant sur KCNQ1 que sur KCNE1 sont de type "missense", c'est-à-dire que la substitution d'une base entraîne la substitution d'un acide aminé. Mais peuvent également survenir des mutations de type "in-frame deletion" (deletion de 3 bases entraînant la disparition d'un codon), de type "frame shift" (délétion d'une base entraînant le décalage du cadre de lecture), de type "non-sense mutation" (substitution d'une base entraînant l'arrêt de la translation, et donc la survenue possible d'une protéine tronquée), ou enfin des erreurs d'épissage. Le site internet situé à l'adresse <http://www.ssi.dk/graphics/html/lqtsdb/lqtsdb.htm> donne une information exhaustive et actualisée sur le sujet. Bien que chaque famille possède

sa "propre" mutation, des "hot spot" ont pu être identifiés (la fréquence de la mutation est particulièrement importante) comme la position 341 (525) ou 344(526) sur KCNQ1.

Les mutations tant sur KCNQ1 que KCNE1 peuvent entraîner une perte de fonction du canal. Des études effectuées sur différents modèles d'expression hétérologue, comme les oocytes de xénope ou des lignées de cellules de mammifères, ont permis d'identifier plusieurs mécanismes parfois combinés de dysfonctionnement de ces canaux ioniques comportant une réduction de l'intensité du courant ou une modification de la cinétique d'activation ou du "gating" (522, 527, 528).

Compte tenu du caractère tétramérique du canal portant le courant potassique I_{Kr} (mais aussi I_{Ks}), des mutations sur KCNQ1 peuvent entraîner la production de protéines non fonctionnelles qui ne s'assemblent pas avec les protéines natives. Dans ce cas, la perte de fonction est égale à 50%, puisque l'allèle native est fonctionnelle. D'autres mutations aboutissent à des protéines pouvant comporter un effet dit dominant-négatif sur les protéines natives, en agissant comme un poison sur ces dernières, entraînant alors une perte de fonction supérieure à 50%. Ainsi, et paradoxalement, des atteintes moléculaires plus sévères, résultant en une protéine non fonctionnelle, peuvent avoir des conséquences électrophysiologiques moins importantes.

Cette approche est encore compliquée par l'existence d'isoforme des protéines canalaire. Ces phénomènes ont été bien étudiés à l'Inserm U533 à Nantes par Demolombe et Mohammad-Panah (140, 529). Demolombe et coll. sont en effet les premiers à avoir révélé l'existence d'une isoforme d'une protéine canalaire d'un canal ionique, en l'occurrence KvLQT1, possédant un effet dominant négatif naturel. Leurs résultats suggèrent que les caractéristiques du courant I_{Kr} dépendent de l'expression relative de trois protéines: les isoformes 1 et 2 (tronquée) de KvLQT1 et la sous-unité régulatrice minK (140). La même équipe a démontré que l'expression de l'isoforme 2 de KvLQT1 était variable selon la couche du myocarde humain étudiée, plus importante dans le midmyocarde que dans l'endocarde et dans l'épicarde (139). Plus encore, il s'est avéré que la propriété dominante négative de l'isoforme 2 pouvait être modifiée en présence d'une mutation. Cette propriété disparaissait dans le cadre de mutation de type Jervell et Lange-Nielsen alors qu'elle persistait dans le cadre de mutations de type Romano et Ward, et ce en présence, ou non, de la sous-unité régulatrice minK (529).

D'autres mécanismes par lesquels des mutations sur KCNQ1 et KCNE1 peuvent aboutir à une perte de fonction du courant I_{Ks} ont été identifiés. Il peut s'agir d'un défaut de transfert de la protéine à la membrane ("protein trafficking") (530), d'un défaut d'assemblage de KvLQT1 et de minK (531, 532), ou d'une modification de l'interaction entre le couple KvLQT1-minK et la protéine yotiao qui joue un rôle dans la phosphorylation canalaire (263).

2. KCNH2 (LQT2)

Le gène KCNH2, cloné en 1994, code pour la protéine HERG qui représente la sous-unité α du canal potassique portant le courant repolarisant potassique retardé à rectification entrante, I_{Kr} . Le lien entre KCNH2 et le syndrome du QT long de type 2 (LQT2) date de 1995 (74).

Un grand nombre de mutations ont été décrites sur KCNH2 ces dernières années, détaillées à l'adresse <http://www.ssi.dk/graphics/html/lqtsdb/lqtsdb.htm>. Il s'agit le plus souvent de substitutions d'une seule base aboutissant à des modifications d'acides aminés dans des zones particulièrement stables d'une espèce à l'autre ("highly conserved"). Des mutations ponctuelles ont été identifiées dans chacun des 6 segments transmembranaires. Le seul "hot spot" décrit semble être l'acide aminé 561, où une substitution de l'alanine par la valine a été décrite. Les mutations sur KCNH2 représentent 30% à 35% des patients atteints du syndrome

QT long et génotypés. Une forme homozygote de mutations sur KCNH2 a été publiée en 1999 avec un phénotype cardiaque sévère mais l'absence de phénotype auditif (533).

De même que pour KCNQ1, les mutations de KCNH2 étudiées sur différents systèmes d'expression entraînent une perte de fonction du canal obéissant à différents mécanismes déjà cités (534, 535). Là encore, l'existence d'un effet dominant négatif a pu être décrit, générant alors une perte de fonction supérieure à la valeur de 50% attendue.

Plusieurs mécanismes peuvent être responsable de la perte de fonction d'un canal membranaire: une perturbation de la synthèse du canal (classe 1), du transport de la protéine à la membrane (classe 2), du gating (classe 3), et de la pénétration (classe 4). Dans le cadre de LQT2, les formes mutées peuvent être retenues, du fait de leur état immature, par le réticulum sarcoplasmique (536, 537). Anderson et coll. ont récemment démontré (patch-clamp sur cellules HEK293) que la perturbation du transport protéique à la membrane est un élément important dans la diminution d'intensité du courant I_{Kr} observée dans LQT2 (538). Sur 34 mutations de type missense retrouvées dans la forme 2 du syndrome du QT long, une large majorité d'entre elles (82%) aboutissaient à une perte de fonction de HERG par ce mécanisme. La récupération de fonctions normales de certaines protéines HERG mutées, après exposition à des molécules comme le E4031, qui est paradoxalement un bloqueur spécifique du courant I_{Kr} , avait déjà été retrouvée par Zhou et coll. en 1999 (539). Anderson et coll. ont également retrouvé que, dans la majorité des cas, les perturbations du transport membranaire étaient corrigeables, soit par incubation des cellules avec le E4031, soit par réduction de la température de ces dernières. Ces données récentes apportent un éclairage nouveau sur la physiopathologie du syndrome du QT long de type 2, et ouvrent également de nouvelles voies thérapeutiques.

Pour mémoire, la protéine MiRP1 a été présentée comme la sous-unité régulatrice de HERG, et les mutations de KCNE2 responsables de la forme 6 du syndrome du QT long (540). Ces données sont actuellement très controversées de d'autant qu'aucune famille porteuse d'un syndrome du QT long et d'une mutation sur KCNE2 n'a été décrite jusqu'à présent. Certains polymorphismes sur KCNE2 pourraient s'intégrer dans la forme acquise du syndrome du QT long (541).

3. SCN5A (LQT3)

Le gène SCN5A, cloné en 1992, code pour le courant sodique entrant. Peu de mutations ont été décrites (<http://www.ssi.dk/graphics/html/lqtsdb/lqtsdb.htm>). Les premières mutations décrites par Wang et coll. dans le cadre du syndrome du QT long ont été identifiées dans des régions contrôlant l'inactivation du canal (73). Plusieurs effets électrophysiologiques ont été répertoriés selon la mutation, dont une diminution de la vitesse d'inactivation, une récupération trop rapide de l'état d'inactivation, ou une interaction anormale avec la sous-unité $\beta 1$ régulatrice (542). Globalement, les mutations responsables de LQT3 aboutissent à un gain de fonction du canal sodique, c'est-à-dire la persistance d'un petit courant sodique pendant la phase 2 de la repolarisation, expliquant l'allongement de l'intervalle QT. Cette forme du syndrome reste relativement rare, correspondant à 10-15% des patients génotypés.

4. Ankyrine-B (LQT4)

L'équipe Nantaise dirigée par Hervé Le Marec a décrit en 1995 la forme 4 du syndrome QT long, forme originale par son association avec accès de fibrillation auriculaire paroxystique chez plus de 50% des patients (519). Ce n'est que 7 ans plus tard, que le rapprochement phénotypique entre une souris transgénique et les caractéristiques du syndrome LQT4 a permis d'aboutir à la mise en évidence d'une mutation (E1425G) sur le gène de l'ankyrine-B dans cette famille (459). D'après les études effectuées sur le modèle de souris transgénique, une dysfonction du courant sodique pourrait être à l'origine du syndrome

(543). Les patients de type LQT4 représenteraient environ 1% à 2% des syndromes du QT long.

Les ankyrines sont des protéines d'accroches créant un lien entre les protéines membranaires et le cytosquelette. Le génome des mammifères exprime trois ankyrines (R, B, et G) qui sont codées par trois gènes différents, et qui s'expriment dans les organes selon de multiples isoformes. Par contre, dans le cœur, un isoforme prédominant de l'ankyrine B et un seul isoforme de l'ankyrine G sont exprimés (544). L'ankyrine B joue un rôle important dans l'accroche membranaire de la Na/K ATPase, l'échangeur Na-Ca, et le récepteur à l'inositol-triphosphate (InsP3). Des publications récentes ont montré que les actions multiples des ankyrines au niveau cardiaque pouvaient être mises en parallèle avec une expression clinique hétérogène. En effet Mohler et coll. ont montré que la mutation décrite dans le syndrome du QT long de type 4 (E1425G) pouvait donner lieu à un phénotype électrocardiographique normal chez le propositus d'une autre famille avec morts subites. Quatre autres mutations ont été décrites sur l'ankyrine B, toutes dans l'extrémité C-terminale régulatrice de la protéine. Ces mutations peuvent être silencieuse cliniquement, ou donner lieu à des troubles du rythme ventriculaires à l'effort sans allongement de l'intervalle QT, ou encore à un syndrome du QT long sans bradycardie. La même mutation peut donner plusieurs phénotypes différents dans une même famille (545). Récemment, une mutation sur le site d'accroche de la sous-unité α du canal sodique avec l'ankyrine G a été associée au syndrome de Brugada (546). Cette mutation entraîne un défaut de ciblage des sous-unités α sodiques, une augmentation de la capture des protéines mutées au sein du reticulum sarcoplasmique, et *in fine* une diminution de fonction des canaux sodiques. Cependant les mutations décrites par Mohler et coll. (545) ont été retrouvées comme variantes dans une population témoin, à concurrence par exemple de 4% de la population noire pour la mutation L1622I (521). Enfin dans ce même article, 3% des patients (n=541) adressés au centre pour diagnostic génétique dans le cadre d'un syndrome du QT long étaient porteurs d'une mutation sur l'ankyrine B, soit 3,3% des génotypes négatifs, et 1,8% des génotypes positifs.

La découverte de la mutation responsable de la forme 4 du syndrome du QT long va peut-être permettre de décrire une nouvelle entité: les syndromes liés aux ankyrines. La relation phénotype-génotype des patients présentant une mutation ou une variante de l'ankyrine B reste à préciser.

5. KCNJ2 (LQT7)

Le syndrome d'Andersen, décrit initialement en 1971, associe une paralysie périodique sensible au potassium, des troubles du rythme ventriculaires, et un syndrome dysmorphique (547). Le substrat génétique du syndrome d'Andersen a récemment été élucidé par Plaster et coll., qui ont retrouvé par analyse de liaison un locus en 17q23.-24.2 à partir d'une grande famille. Grâce à l'approche gène-candidat, des mutations ont été identifiées sur le gène KCNJ2 qui code pour la protéine Kir2.1 (464). Cette protéine porte un courant potassique entrant rectifiant, I_{K1} , qui est largement exprimé dans le cœur, et qui joue un rôle dans la phase 4 de la repolarisation ventriculaire, ainsi que dans le maintien du potentiel de repos. Les mutations entraînent une perte de fonction de I_{K1} , avec la possibilité d'un effet dominant négatif (548). Notons que le pronostic du syndrome d'Andersen est bénin, et que l'allongement de l'intervalle QT ("onde U" géante) semble un élément associé au syndrome. La question de la pertinence de la classification de ce syndrome comme QT long congénital peut se poser.

C. Clinique

La grande majorité des patients répertoriés dans le cadre du syndrome du QT long sont de type Romano et Ward compte tenu du mode de transmission de la maladie. La prévalence est

estimée à 1/5000 à 7000 à partir d'une étude finlandaise où un effet fondateur a pu être évoqué à partir d'une mutation de KCNQ1 (266). Les études cliniques, mais aussi génétiques, ont largement tiré parti de la création par Schwartz et Moss en 1979 d'un registre international pour le syndrome du QT long congénital (549). Pendant plus de 30 ans, la présentation typique du syndrome du QT long associait la survenue de syncopes ou d'arrêt cardiaque favorisés par le stress chez un enfant ou un adolescent dont l'ECG enregistrerait un allongement de l'intervalle QT. Cette description était basée sur le recrutement des cas cliniques les plus sévères, faussant ainsi la vision globale de la maladie. Le génotypage de familles de QT long a permis de corriger cette impression en démontrant l'existence de nombreux sujets porteurs d'une mutation, et asymptomatiques, dont l'ECG peut montrer une repolarisation ventriculaire de durée normale (33, 102).

1. Syncopes et mort subite

Les syncopes sont liées à des accès de torsade de pointes (**Figure 28**) dont la dégradation possible en fibrillation ventriculaire peut amener à la mort subite (550). Les syncopes peuvent être suffisamment prolongées pour s'accompagner de crises épileptiques, qui peuvent créer une confusion diagnostic. Les symptômes, lorsqu'ils s'apparentent à des lipothymies, peuvent être confondus avec des pertes de connaissance d'origine vaso-vagale, ce qui peut là aussi retarder le diagnostic.



Figure 28. Tachycardie ventriculaire à deux foyers opposés variables, estampillée **torsade de pointes** par Dessertenne en 1966 (3). Enregistrement ECG synchrone sur DI, DII, DIII. On voit bien en DIII l'aspect torsadé des complexes QRS autour de la ligne isoélectrique.

Le mode de démarrage des torsades de pointes a été bien analysé, en particulier dans la forme acquise du syndrome du QT long (440, 551, 552). Le démarrage de la tachycardie est dit pause-dépendant, ou bradycardie-dépendant, et comporte une séquence de type long-court (un intervalle RR long précédant une ESV à couplage relativement court tombant dans l'onde T, et déclenchant la tachycardie). Ces éléments peuvent manquer lors du démarrage d'une torsade de pointes dans une forme congénitale du syndrome, mais une bradycardie est souvent retrouvée (550).

Le mode de déclenchement des syncopes apparaît dépendant de la nature du gène affecté (553). Dans le syndrome LQT1, le mode de déclenchement est dominé par l'exercice et le stress (l'émotion, la colère), ce que l'on peut rapprocher de l'activation de I_{Ks} par le tonus sympathique. La plongée et la natation sont des modes de déclenchement quasi exclusif de LQT1. Les patients atteints de LQT3 ont un risque accru d'événements cardiaques au repos ou pendant la nuit, car il existe un allongement particulièrement important de l'intervalle QT pour les fréquences cardiaques basses. Le déclenchement d'une torsade de pointes à l'occasion d'un réveil brutal est quasiment spécifique de cette forme du syndrome de QT long (554, 555).

Cette distinction n'existe pas pour les patients atteints de syndrome LQT2, où l'on peut observer des symptômes tant le jour que la nuit. Cependant, le déclenchement par des stimuli auditifs, comme un téléphone ou un réveil, est quasi spécifique du LQT2. On peut enfin signaler qu'une majoration des symptômes a été observée lors des menstruations ou dans le post-partum, mais les données sont trop anciennes pour être reliées à un génotype particulier (302).

On a longtemps considéré que la mortalité des patients atteints de syndrome du QT long dépassait 20% /an après le premier épisode de syncope, et en l'absence de traitement, pouvait approcher les 50% à 10 ans (556). Des études récentes suggèrent que la mortalité est en réalité bien plus basse, autour de 1% à 2% /an en l'absence de traitement. Ce faible taux de mortalité reflète l'inclusion plus récente dans les banques de données de familles à faible risque. L'évolution est également influencée par la nature du gène affecté. À l'âge de 15 ans, près de 60% des patients atteints de LQT1 ont eu un épisode cardiaque contre seulement 10% des patients atteints de LQT3. Le pourcentage de patients ayant eu un épisode cardiaque avant l'âge de 40 ans est aussi plus important dans LQT1 (63%) et LQT2 (46%) que dans LQT3 (18%). Par contre le pourcentage de décès lors d'un épisode cardiaque est plus important dans LQT3 (20%) que dans LQT1 et LQT2 (4%). Aucune donnée n'est disponible pour LQT4, LQT5, LQT6, et LQT7 compte tenu du petit nombre de patients.

2. Electrocardiogramme

a) *L'intervalle QT*

Les anomalies de l'intervalle QT dans le syndrome du QT long concernent à la fois la morphologie et la durée.

L'existence d'une morphologie "bizarre" de l'onde T représente un des traits phénotypiques les plus faciles à identifier dans ce syndrome, bien que la quantification de ce caractère apparaisse difficile. L'expérience joue ici un rôle important, surtout si l'on cherche à identifier les profils de l'onde T assez caractéristiques de chaque forme du syndrome (557). Les patients de type LQT1 ont une onde T assez ample dont la base est large avec une pente ascendante très progressive et une pente descendante assez brutale. À l'inverse, une onde T de plus faible amplitude comportant une encoche ("notch") évoque la forme 2 du syndrome. Les patients de type LQT3 ont un profil très caractéristique comportant une onde T de survenue tardive. Les patients de type LQT4, beaucoup plus rares, ont un profil sinusoïde de l'onde T, associé par ailleurs à une bradycardie sinusale et des accès de FA (558). Cependant, les différences morphologiques ne sont pas toujours aussi claires, et il existe bon nombre de cas où l'orientation génotypique à partir du profil de l'onde T est difficile.

L'allongement de l'intervalle QT constitue le deuxième trait caractéristique du syndrome. Cet allongement est habituellement plus facilement identifié en V2 ou V3, mais les 12 dérivations doivent être examinées pour identifier l'intervalle QT le plus long. Malgré des critiques persistantes, la formule de Bazett ($QT_c = QT/\sqrt{RR}$) continue d'être utilisée, en grande partie du fait de sa simplicité et de l'ancienneté de son usage. La valeur limite haute la plus souvent utilisée est de 440 ms, mais certaines études de corrélation génotype-phénotype plaident pour une valeur de 460 ms, en particulier chez la femme (289). En effet, 40% des porteurs de mutations LQT1 et LQT2 ont des valeurs de QT_c entre 410 ms et 470 ms, qui se superposent avec celles des sujets non atteints. La valeur prédictive positive d'être porteur d'un syndrome du QT long reste de 100% si $QT_c \geq 470$ ms chez l'homme, et $QT_c \geq 480$ ms chez la femme. Cependant, la présence sur l'ECG d'un intervalle QT de durée normal n'exclue pas le diagnostic de syndrome du QT long (porteur sains) (559). La pénétrance du syndrome du QT long peut être aussi basse que 14% (102). Dans le registre international du QT long publié en 1989, un arrêt cardiaque est survenu dans 10% des apparentés dont le QT_c était inférieur à

440 ms (560). L'allongement de l'intervalle QTc peut varier dans le temps, c'est-à-dire parfois d'un jour à l'autre, mais aussi en fonction de l'âge, en particulier en fonction des épisodes de la vie sexuelle (puberté, grossesse). La probabilité de survenue d'une syncope n'est pas une fonction de l'allongement de l'intervalle QTc, mais il est certain que cette probabilité est beaucoup plus forte en présence d'un allongement très important, c'est-à-dire supérieur à 600 ms (287, 561).

b) Dispersion de la repolarisation

De Ambroggi et coll. ont cartographié la repolarisation ventriculaire à partir de mesures de potentiels de surface enregistrés chez des sujets atteints du syndrome du QT long et des sujets témoins (562). Ils ont observé qu'il existait chez les patients atteints du syndrome QT long deux anomalies: d'une part la présence dans le précordium d'une large zone de valeurs négatives, et d'autre part un aspect fragmenté des potentiels. Ils en ont déduit qu'il existait chez les patients atteints du syndrome du QT long une disparité dans le processus de repolarisation ventriculaire. La "dispersion de la repolarisation", telle qu'elle est abordée de manière plus simple par un ECG standard 12 dérivations, mesure la différence entre l'intervalle QT le plus long et l'intervalle QT le plus court. Chez les individus normaux, cette valeur est inférieure à 54 ± 27 ms alors qu'elle atteint 93 ± 39 ms à 185 ± 26 ms dans le syndrome du QT long, selon les études. Cette valeur pourrait être corrélée au risque de survenue de troubles du rythme, et pourrait servir de marqueur d'efficacité thérapeutique (208). Il semble cependant peu réaliste de donner une valeur pronostique à un paramètre dès lors que la simple erreur qui entache la mesure de ce paramètre est du même ordre de grandeur que le paramètre lui-même (563). La polémique tient aussi au fait que cette mesure de "dispersion de la repolarisation" (c'est-à-dire à une différence régionale des temps de repolarisation) correspond davantage à des variations d'orientation spatiale du vecteur de la repolarisation, tel qu'il peut être approché en vectocardiographie (564). En effet, la repolarisation ventriculaire peut être représentée par une seule boucle vectocardiographique qui ne peut donner lieu à aucune "dispersion". La projection de cette boucle dans les 3 dérivations pseudo-orthogonales de Franck entraîne une perte d'information dans chacune de ces dérivations (lorsque le vecteur cardiaque est perpendiculaire à la dérivation en question), et la notion de dispersion recouvre alors simplement cette perte d'information. Il semble donc clair que l'analyse de la dispersion dans le plan frontal sur l'ECG standard représente plutôt une illusion (ce d'autant que les dérivations donnent une information redondante, 4 des 6 dérivations pouvant être déduites de deux dérivations), mais pourrait davantage représenter une réalité dans le plan horizontal, là où l'on n'enregistre que des dérivations unipolaires (563). Il faut rajouter que, théoriquement, la repolarisation ventriculaire en un point donné correspond à la sommation de deux informations indissociables sur l'ECG de surface, le temps d'activation et la durée locale de la repolarisation, que l'on peut étudier par la durée de la période réfractaire ou la durée du potentiel d'action monophasique. Le potentiel d'action est plus court au niveau épicardique et à la base, qu'à l'endocarde et à l'apex, de telle manière que la résultante donc ces deux paramètres devraient se compenser. La fin de la repolarisation ventriculaire sur l'épicarde de la base devrait être synchrone de celle observée sur l'endocarde apical. Mais ce raisonnement ne prend pas en compte l'existence des cellules M et l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation. Selon ce concept, la meilleure approche de la dispersion de la repolarisation est représentée par la mesure effectuée entre la fin de la repolarisation épicardique (sommet de T) et la fin de la repolarisation mid-myocardique (fin de T) (128, 565). L'approche vectocardiographique de l'équipe de Coumel tient à considérer que la configuration spatiale du vecteur cardiaque n'est pas dissociable de la notion de repolarisation (564). Ils ont ainsi pu démontrer que l'importante dispersion de la repolarisation, que l'on connaît chez les patients en présence d'un syndrome du QT long et en

post-infarctus du myocarde, correspondait *in fine* à une perte de la planéité et à une augmentation de la rondeur du vectocardiogramme de T, le premier paramètre plus marqué dans le premier groupe, et le deuxième dans le deuxième groupe. Une approche "spatiale" de l'onde T a été appliquée par le même groupe sur des données Holter chez des patients porteurs d'un syndrome du QT long de type 1, et permettait de différencier les sujets symptomatiques de ceux qui sont asymptomatiques (566). La présence d'un "notch" (épaulement) permet aussi de différencier les patients porteurs d'un syndrome du QT long de type 2 par rapport au type 1 (567).

c) *Alternance de l'onde T*

L'alternance de l'onde T correspond à une variation battement à battement de l'amplitude, de la morphologie et de la polarité de l'onde T, sans modification concomitante des complexes QRS. Le phénomène d'alternance électrique a été décrit initialement par Hering en 1908 (568). Kalter et Schwartz sont les premiers à avoir retrouvé un lien entre l'alternance électrique et une augmentation de la mortalité (569), qui a ensuite été observée dans des situations cliniques variées, comme l'ischémie myocardique, les troubles électrolytiques, mais en particulier dans le syndrome du QT long congénital (472). L'existence d'une alternance apparaît le plus souvent à l'occasion de périodes de stress ou d'effort. L'alternance de l'onde T peut précéder la survenue de torsades de pointes, et représente un marqueur d'instabilité électrique pouvant identifier des patients à haut risque d'évènements cardiaques.

Le développement des techniques informatiques a ensuite permis la description de l'alternance microvoltée de l'onde T, elle aussi en rapport avec la vulnérabilité ventriculaire (570). Les mécanismes sous-tendant l'alternance de l'onde T ont été étudiés par la technique "d'optical mapping". On a ainsi observé que l'accélération de la fréquence pouvait produire des alternances séquentielles de durée des potentiels d'action, et que ces variations n'étaient pas uniformes dans le myocarde. Il pouvait s'ensuivre des variations importantes de phase régionales allant jusqu'à 180° ("discordant alternans"), créant alors une majoration du gradient de la repolarisation, et donc un substrat électrophysiologique à la survenue d'un bloc de conduction unidirectionnel puis d'un mouvement de réentrée fonctionnelle (571). L'alternance microvoltée de l'onde T est supposée provenir d'une alternance électrique à l'échelon cellulaire. Le mécanisme cellulaire intime n'est pas encore élucidé. Il pourrait s'agir d'une alternance primaire de l'activité des canaux ioniques membranaires, à moins que cette dernière ne soit secondaire à une alternance des mouvements de calcium intracellulaires, voire une combinaison des deux. Il existe une forte probabilité que les mouvements de calcium intracellulaires aient un rôle-clef dans l'alternance microvoltée (572). D'autres questions demeurent sans réponse. Par exemple, quels sont les mécanismes qui permettent à l'alternance microvoltée de devenir évidente à fréquence cardiaque basse chez des patients à risque de mort subite rythmique ?

d) *Bradycardie et pauses sinusales*

L'existence d'une fréquence cardiaque plus basse que la norme est un fait clinique observé de longue date dans le syndrome du QT long, en particulier chez les enfants (471, 573). Cette observation a été confirmée lors de la réalisation d'épreuves d'effort chez les patients de type LQT1 (574). Les pauses sinusales pourraient jouer un rôle dans l'initiation des torsades de pointes. Actuellement, on explique ce phénomène en le rapportant à la "canalopathie", qui induit altération l'automatisme cellulaire et/ou à une réponse anormale à la stimulation adrénergique. La diminution d'intensité des courants potassiques entraîne un allongement de la phase 3 de la repolarisation des cellules du nœud sinusal, et l'augmentation de durée du potentiel d'action crée un ralentissement de la fréquence sinusale (575, 576).

La bradycardie importante, associée à des pauses sinusales, observée dans LQT3 est restée longtemps sans explication, car la participation du courant sodique était considérée comme faible (577) ou nulle (578). Un travail récent de l'équipe de Wilde a démontré l'implication *in vitro* du courant sodique dans le potentiel d'action de cellules du noeud sinusal de lapin (579). La mutation 1795insD sur le canal sodique ralentit la fréquence sinusale par deux mécanismes additifs. Le premier est un déplacement négatif de la courbe d'inactivation du canal, entraînant une diminution du courant sodique de fenêtre pendant la phase 4 du potentiel d'action, donc une diminution de la pente de dépolarisation diastolique lente, et donc une réduction de la fréquence sinusale. Le deuxième aboutit à une persistance du courant sodique pendant le potentiel d'action, donc à un élargissement de celui-ci, d'où un ralentissement de la fréquence sinusale.

On peut, de manière anecdotique, observer chez les très jeunes enfants des passages en bloc auriculo-ventriculaire, qui sont d'origine fonctionnelle, en rapport avec l'allongement de la période réfractaire effective à l'étage ventriculaire consécutif à un allongement très important de l'intervalle QT.

D. Diagnostic

1. Diagnostic clinique

Compte tenu des caractéristiques cliniques du syndrome du QT long, les patients présentant une sémiologie typique ne posent pas de problème diagnostique pour le cardiologue habitué à ce genre de pathologie. L'existence de nombreux cas litigieux ont amené l'équipe de Schwartz à proposer des critères diagnostiques, actualisés en 1993 (Table) (283). Ces critères comportent différents paramètres cliniques, électrocardiographiques, et familiaux. Le score oscille entre 0 et 9, et, en se basant sur leur propre expérience, l'équipe de Schwartz a arbitrairement distingué 3 catégories de probabilité diagnostique: ≤ 1 , probabilité faible; > 1 et $\leq 3,5$, probabilité intermédiaire; ≥ 4 , probabilité élevée. Dans le cas où la probabilité diagnostique est intermédiaire, d'autres enregistrements ECG sont recommandés du fait de la labilité de certains signes ECG, de même que le recours à d'autres examens complémentaires (épreuve d'effort, Holter ECG, ...). Il demeure que ces critères diagnostiques sont basés sur l'expérience clinique, à une époque où les informations génotypiques étaient nécessairement réduites, ce qui limite son intérêt. En 1993, seul le gène impliqué dans le syndrome LQT1 était connu. L'accent a été mis, depuis lors, sur la fréquence des porteurs sains du syndrome du QT long et leur sensibilité aux molécules allongeant la repolarisation ventriculaire. Une étude récente a démontré que la pénétrance de la maladie pouvait descendre jusqu'à des valeurs aussi basses que 14% (102).

2. Diagnostic moléculaire

Le dépistage moléculaire de la population générale ne peut être actuellement réalisé dans le cadre du syndrome du QT long, du fait du grand nombre de mutations reconnues dans ce syndrome. Ce mode de diagnostic doit donc se limiter aux familles suspectes, ou dans lesquelles le diagnostic a déjà été établi sur un des membres (12). Le diagnostic moléculaire apporte plusieurs avantages. Tout d'abord, il permet de confirmer le diagnostic clinique, en écartant les faux positifs et en confirmant le diagnostic dans les cas litigieux. Il permet également de dépister les porteurs sains, dans les familles des propositus, permettant la prise en charge sur le plan clinique. Enfin, il permet de s'assurer, au-delà de la présomption clinique, du type de gène impliqué, ainsi que la mutation, et donc de préciser les spécificités de prise en charge, mais aussi le pronostic. Une étude récente, effectuée chez des patients atteints de LQT2, a montré que le pronostic était meilleur chez les sujets dont la mutation était située dans l'extrémité C-terminale, par opposition à ceux dont la mutation se trouvait

dans le pore du canal. Le diagnostic moléculaire ne peut cependant se substituer au diagnostic clinique. La probabilité actuelle de mener à bien un génotypage est de l'ordre de 70%. Ce pourcentage relativement bas est lié à une connaissance encore incomplète des gènes impliqués dans le syndrome du QT long. De plus, plusieurs semaines sont parfois nécessaires pour mener à bien un génotypage. C'est la raison pour laquelle, on manque encore d'outils permettant de diagnostiquer de manière rapide et plus sensible, tout en restant spécifique, le syndrome du QT long. Les données dynamiques d'analyse de la repolarisation ventriculaire, à partir, par exemple, d'enregistrements Holter ECG, sont prometteuses, mais nécessitent d'être simplifiées, pour être utilisées à large échelle.

3. Tests complémentaires

a) *Stimulation ventriculaire programmée*

Wellens et coll. ont démontré que les arythmies observées dans le syndrome du QT long n'étaient pas inductibles par stimulation ventriculaire conventionnelle. Cette observation implique, en première approche, que les torsades de pointes ne sont pas induites par un mécanisme de réentrée, mais n'exclue pas que des phénomènes de réentrée participent à la pérennisation de la tachycardie. Quelques torsades de pointes ont pu être déclenchées par des protocoles de stimulation particuliers à type de couplage long-court-long.

b) *Dynamique du QT*

La théorie du déséquilibre sympathique responsable du syndrome du QT long a disparu avec la découverte des canalopathies dans les différentes formes de ce syndrome. Cependant, les variations du SNA gardent une part importante dans le déclenchement des symptômes, c'est-à-dire des torsades de pointes. L'effet délétère de la stimulation sympathique sur l'évolution de la maladie est connu depuis 40 ans, et a récemment été confirmé par une publication concernant 670 patients génotypés (580). Les à-coups adrénérgiques sont responsables de la grande majorité des troubles du rythme létaux chez les patients de type LQT1. On comprend que l'influence des variations du SNA dans le syndrome du QT long ait été étudiée soit par la technique de l'épreuve d'effort, soit par celle de l'enregistrement Holter.

Le raccourcissement du QT à l'augmentation de la fréquence cardiaque, ainsi que l'adaptation de la fréquence à l'effort, est pathologique chez les patients atteints du syndrome du QT long. Schwartz et coll. ont trouvé que le raccourcissement de l'intervalle QT lors de l'épreuve d'effort était plus important chez les patients atteints de LQT3 ($\cong 10\%$ QT/100ms RR) que chez ceux qui sont atteints de LQT2 ou de LQT1, qui ne différaient pas du groupe contrôle ($\cong 2,5\%$ QT/100ms RR) (560). Swan et coll. ont observé une diminution de la fréquence cardiaque maximale à l'effort chez les patients atteints de LQT1, alors qu'elle était normale chez ceux qui sont atteints de LQT2. Pendant la période de récupération, les patients atteints de LQT1 présentent un allongement exagéré de l'intervalle QT en comparaison avec ceux qui sont atteints de LQT2 (574). Cela revient à exprimer qu'il existe une augmentation de la fréquence-dépendance du QT chez les patients de type LQT1, en utilisant une approche non sélective.

L'approche sélective de la dynamique de l'intervalle QT développée par l'école de Lariboisière a permis de préciser ces données en utilisant l'enregistrement Holter ECG de 24 heures. Nous avons pu démontrer dans une grande famille de patients atteints de LQT1, qu'il existait une inversion nyctémérale de la dynamique de l'intervalle QT, avec une fréquence-dépendance de QT plus marquée la nuit que le jour, alors que la fréquence-dépendance de QT est plus marquée le jour que la nuit dans la population témoin. Plus encore, nous avons trouvé que ce trait phénotypique persistait chez tous les mâles de la fratrie après la puberté, alors que la durée de leur intervalle QT s'était normalisé (33). L'équipe de Philippe Coumel rapporte le

même résultat sur un groupe de 68 patients atteints également de LQT1 (17). L'augmentation de la fréquence-dépendance nocturne de QT semble être un marqueur de la canalopathie. Par contre, la diminution de la fréquence dépendance diurne semble plus marquée (bien que de manière non significative) chez les patients symptomatiques, par rapport aux patients non symptomatiques.

4. Lien avec d'autres entités cliniques

a) *Mort subite du nouveau-né*

La mort subite du nouveau-né (MSNN) reste la principale cause de mort subite en occident pendant la première année de vie. Malgré un grand nombre d'études essentiellement relatives au contrôle neurovégétatif de la respiration ou de la fonction cardiaque, l'étiopathogénie de cette maladie demeure inconnue. Schwartz et coll. ont publié en 1998 une étude prospective portant sur un suivi de 1 an de plus de 34000 nouveau-nés, et correspondant à recrutement multicentrique de 19 ans (581). Sur les 34 décès répertoriés, 24 étaient en rapport avec un MSNN, et 12 avaient un allongement de l'intervalle QTc (>440 ms; Bazett), confirmé par une analyse effectuée selon les percentiles, et donc indépendante de toute formule de correction. Il est cependant peu réaliste de mettre en route un dépistage de la MSNN par un ECG systématique à la naissance compte tenu de la faible sensibilité et valeur prédictive positive de cet examen dans cette pathologie. Schwartz et coll. ont été les premiers à rapporter un cas clinique de MSNN lié à une mutation dans SCN5A (582) puis à KCNQ1 (583). Une étude prospective post-mortem a révélé que sur un total de 93 cas de MSNN, on retrouvait 2% de mutations dans SCN5A (584). La recherche de variants de KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2, et KCNJ2 dans cette population de 93 MSNN rapporte un pourcentage de 13% chez les enfants de race blanche et 29% chez les enfants de race noire (585). On estime qu'environ 5% des MSNN pourrait être en rapport avec une canalopathie (585).

La MSNN est un syndrome hétérogène où les facteurs environnementaux ont un rôle certain (586). Ainsi, la campagne de prévention conseillant le sommeil des nourrissons sur le dos et non sur le ventre, a permis une diminution de l'incidence de cette pathologie (587). Récemment, Plant et coll. ont démontré que le polymorphisme de SCN5A (S1103Y) à l'état homozygote induisait une multiplication par 24 du risque de MSNN dans une population noire américaine, soit 3 enfants sur une série de 133 cas (588). L'existence d'un gain de fonction de SCN5A associé au polymorphisme n'a été démontrée qu'en présence d'une PH intracellulaire acide, alors que les apnées et l'acidose respiratoire font partie des facteurs favorisants connus de la MSNN. Cette publication illustre le lien causal entre la MSNN et l'interaction génétique et environnementale.

b) *Brugada et BAV*

Des mutations portant sur le gène SCN5A peuvent entraîner une perte de fonction. Elles sont alors rattachées à 2 autres pathologies cardiaques, l'une appelée syndrome de Brugada, l'autre appelée bloc auriculo-ventriculaire chronique dégénératif, plus couramment connu sous le nom de maladie de Lenègre. Les patients atteints du syndrome de Brugada présentent également des troubles du rythme ventriculaire et des morts subites. Cependant la repolarisation ventriculaire est normale, les troubles du rythme ventriculaire n'ont pas la morphologie des torsades de pointes, et il existe sur l'ECG un aspect de pseudo-bloc de branche droite avec surélévation du segment ST. Le syndrome de Brugada est lui aussi hétérogène sur le plan génétique, puisque moins de 20% des patients génotypés sont liés à SCN5A (syndrome de Brugada de type 1). Néanmoins, il semble exister chez ces patients un trouble de conduction auriculo-ventriculaire infra-nodal (allongement de l'intervalle HV) qui

est absent chez les patients atteints cliniquement et non liés à SCN5A (589). La maladie de Lenègre ne comporte ni trouble du rythme ventriculaire, ni allongement de l'intervalle QT. Il existe des troubles de la conduction auriculo-ventriculaire d'apparition progressive, avec allongement de l'intervalle PR, élargissement et modification de l'axe des QRS avec apparition de bloc de branche. Ce syndrome évolue, le plus souvent vers l'âge de 70 ans, vers un bloc auriculo-ventriculaire complet. Ce sont les travaux de Schott et coll. à Nantes, qui ont permis d'établir pour la première fois en 1999 un lien entre la maladie de Lenègre et un défaut de fonction sur SCN5A (589), avec sur le plan électrophysiologique un large spectre de mécanismes (590). Certains traits fonctionnels associés à des mutations liées à la maladie de Lenègre ont également été retrouvés dans le syndrome de Brugada, et d'autres dans le syndrome de QT long de type 3 (mutation G514C). Jusqu'à l'établissement d'un lien entre SCN5A avec le syndrome de Brugada et la maladie Lenègre, on pouvait penser que la modification des propriétés électrophysiologiques du canal sodique retrouvée dans le syndrome LQT3, pouvaient être attribuées à une modification précise de l'architecture moléculaire entre le 3^{ème} et le 4^{ème} segment de la protéine. Il est maintenant démontré qu'une même mutation pouvait produire au sein d'une même famille tantôt un syndrome LQT3 ou un syndrome de Brugada (591), et dans une autre famille, une autre mutation pouvait produire un syndrome LQT3 ou une maladie de Lenègre (592).

c) *Le syndrome du QT court*

Gussak et coll. ont publié la première description de syndrome du QT court dans une famille où les sujets atteints présentaient soit des accès de fibrillation paroxystique, soit pour l'un d'entre eux des épisodes de syncopes aboutissant finalement à une mort subite. L'électrocardiogramme était très particulier avec une onde T pointue, ample, symétrique, et surtout une quasi-absence de segment ST donnant un intervalle QT particulièrement court, inférieur à 300 ms (593).

Cinq ans plus tard, les données initiales ont beaucoup évolué, vers un syndrome à la fois hétérogène génétiquement et cliniquement, et marqué principalement par des morts subites d'origine rythmique (594-596). Trois gènes ont été impliqués dans ce syndrome: KCNH2 codant pour HERG (courant I_{Kr}) (597), KCNQ1 codant pour KvLQT1 (courant I_{Ks}) (598), et KCNJ2 codant pour Kir2.1 (courant I_{K1}) (599). Plusieurs éléments sont remarquables. Dans tous les cas il s'agit d'un gain de fonction sur un courant potassique repolarisant, aboutissant à une majoration du courant sortant, touchant la phase 3 ou 4 du potentiel d'action (avec une perte partielle ou complète de la rectification entrante pour HERG et Kir2.1). Ces trois gènes sont également impliqués dans une des formes du syndrome du QT long (respectivement, les formes 2, 1, et 7), avec cette fois ci une perte de fonction. Les manifestations cliniques comportent, en dehors de la description de l'ECG de base, une perte de la fréquence dépendance de l'intervalle QT, une brièveté de la période réfractaire allant de paire avec la durée de l'intervalle QT, une fibrillation ventriculaire déclenchable lors de l'exploration électrophysiologique, et une histoire familiale de mort subite ou de fibrillation paroxystique. L'âge de survenue des premiers symptômes est très variable avec des formes donnant lieu à une mort subite néonatale.

La prise en charge de la maladie est encore loin d'être codifiée. De manière étonnante, le blocage de I_{Kr} par des bloqueurs sélectifs comme le d-sotalol, qui devrait être la thérapeutique de choix dans la forme comportant une mutation sur HERG, s'avère inefficace. Les formes mutées développent en effet une résistance à l'action des bloqueurs de HERG qui n'entraînent qu'une diminution de 9% du courant contre 48% sur les formes non mutées, et dans des conditions d'analyse comparables (597). La quinidine semble avoir plus d'efficacité tant *in vitro* que *in vivo*, vraisemblablement compte tenu de la plus grande complexité de son profil d'action électrophysiologique (600). La propafénone semble avoir une bonne efficacité sur les

accès de fibrillation auriculaire (601). Aucun traitement pharmacologique n'est disponible pour les deux autres formes de la maladie. Dans tous les cas non-pédiatriques, l'implantation d'un défibrillateur automatique s'impose, bien que les chocs inappropriés soient fréquents, et qu'il faille, compte tenu de l'amplitude de la repolarisation, apporter un soin très particulier au choix et au réglage de l'appareil pour éviter une surdéttection de l'onde T.

d) *Les torsades de pointes à couplage court*

Leenhardt et coll. ont décrit une forme de torsade de pointes déclenchées par une ESV à couplage court (moins de 300 ms), en l'absence d'allongement de l'intervalle QT (602). Le mode de révélation est une syncope qui survient dans un contexte de mort subite familiale pour 30% des cas. Il n'existe pas de cardiopathie décelable et les tachycardies ne sont pas déclenchables lors des explorations électrophysiologiques, laissant supposer la participation à une automaticité anormale, ou à une activité déclenchée. L'approche thérapeutique n'est pas facile à déterminer compte tenu de la rareté de ce syndrome. Les bloqueurs calciques ont une efficacité incomplète sur la survenue de ces troubles du rythme. Haissaguerre et coll. ont montré qu'il était possible de cartographier et de traiter par radiofréquence les extrasystoles servant de gâchette, dès lors que celles-ci étaient monomorphes (603). Ces extrasystoles proviennent de l'arborisation distale du réseau de Purkinje (604). Un suivi de 3 ans a permis d'observer l'absence de récurrence rythmique dans 90% des cas. L'implantation d'un défibrillateur automatique fait partie des armes thérapeutiques.

E. Traitement

Le traitement des accès de torsade de pointes repose d'une part sur l'injection intraveineuse de sulfate de magnésium, et d'autre part sur l'accélération de la fréquence cardiaque. Bien que l'effet du sulfate de magnésium dans les torsades de pointes soit connu depuis de nombreuses années, son mode d'action reste incertain (605, 606). Il repose en partie sur le blocage du courant calcique $I_{Ca,L}$ (607), peut-être par compétition directe entre les ions magnésium et les ions calcium. Une facilitation de la pénétration du potassium dans la cellule pourrait intervenir par action du magnésium comme cofacteur de la Na/K ATPase membranaire (608). L'accélération de la fréquence cardiaque est un moyen efficace de prévenir les récurrences de torsade de pointes en particulier lorsque la bradycardie, facilitant les accès de tachycardie, apparaît comme un élément déterminant du syndrome (LQT3 et LQT4). La stimulation cardiaque peut être proposée en aigu (sonde d'entraînement), ou en chronique (implantation d'un stimulateur cardiaque).

Le traitement β -bloquant est le principal traitement de fond du syndrome du QT long. Sous β -bloquant, la mortalité à 10 ans passe de 50% à 5% chez les patients symptomatiques (609). Les patients asymptomatiques sont traités si la découverte du syndrome est faite avant l'âge de 40 ans (610). Leur usage est d'une très grande efficacité dans la forme LQT1, car la diminution du courant I_{Ks} rend ces sujets très sensibles aux catécholamines. Leur efficacité n'a pas été démontrée dans le syndrome LQT3. Le défibrillateur automatique implantable n'est discuté qu'en cas d'échec au traitement médicamenteux ou de mort subite récupérée. La stectomie gauche n'est plus pratiquée (611).

Plusieurs études cliniques et expérimentales plaident en faveur d'un traitement médicamenteux spécifique en fonction du type de gène impliqué. L'amplitude de I_{Kr} augmente en présence d'une augmentation de concentration de potassium. Cette propriété a été mise en application dans des études cliniques par le biais d'apports directs de potassium et/ou par la prescription de spironolactone, qui est un diurétique épargneur de potassium. L'intervalle QT diminue tant dans le syndrome de type LQT2, que dans le syndrome de type LQT1 en présence d'un apport de potassium (612). Par ailleurs, le nicorandil, un activateur du courant potassique I_{KATP} , a montré qu'il pouvait normaliser les troubles de repolarisation induits par

l'épinéphrine chez les patients atteints du syndrome de type LQT1 (613). La flécaine, plus que la méxilétiline, permet de bloquer le courant sodique des protéines mutées de type Δ KPG ou D1790G (614, 615), expliquant le raccourcissement de l'intervalle QT obtenu chez les patients porteurs de LQT3 et de ces mutations (616, 617). L'intérêt clinique de ce traitement reste encore à démontrer (618). La prescription de flécaine chez des patients porteurs de mutations sur SCN5A doit rester prudente car une même mutation peut induire selon les individus d'une même famille un syndrome du QT long ou un syndrome de Brugada (591, 619).

Dans tous les cas, les facteurs connus pour déclencher les arythmies comme le sport de compétition, ainsi que la natation ou la plongée chez les patients atteints de LQT1, les bruits soudains, comme certaines alarmes de réveil ou certaines sonneries téléphoniques pour les patients atteints de LQT2, doivent être évités. Une liste de médicaments à éviter, car connus pour bloquer le courant I_{Kr} , doit être remise aux patients. Une enquête familiale doit être réalisée (620).

IV. LE SYNDROME DU QT LONG ACQUIS

A. Épidémiologie

Dans la dernière décennie, la cause la plus commune de retrait du marché ou de limitation d'utilisation de médicament a été l'allongement de l'intervalle QT associé aux torsades de pointes (621). La majorité des molécules impliquées dans le syndrome du QT long acquis ont en commun le blocage de HERG, et donc l'inhibition partielle de I_{Kr} , ce qui amène l'allongement de la repolarisation ventriculaire. Les antiarythmiques de classe III (bloqueurs potassiques) ont été parmi les premiers à être impliqués dans ce syndrome. L'incidence de survenue de torsades de pointes induites par la quinidine (bloqueur sodique comportant aussi un effet de blocage sur I_{Kr}) est estimée entre 2% et 8,8%. Ce chiffre est de l'ordre de 1,8% à 4,8% pour le d-sotalol (426, 622), ordre de grandeur que l'on retrouve également pour d'autres bloqueurs spécifiques de I_{Kr} comme le dofétilide (623) ou l'ibutilide (624). Actuellement, une centaine de molécules non cardiovasculaires, et plus de 20 molécules cardiovasculaires non antiarythmiques ont été impliquées dans ce syndrome (<http://www.arizonacert.org/>).

La survenue de torsades de pointes potentiellement fatales est l'évolution redoutée de ce syndrome. Mais ce trouble du rythme reste très rarement rapporté (**Figure 28 bis**). Le retrait du marché de molécules comme la terfénadine, l'astémizole, le sertindole, ou le cisapride a été provoqué par quelques douzaines de cas répertoriés de torsades de pointes alors que des millions, voire des dizaines de millions de patients ont été exposés (625). L'incidence de torsades de pointes est estimée à <1 cas pour 10 000 ou 100 000 expositions, de telle manière que la probabilité d'être alerté par le potentiel arythmogène d'un médicament au cours d'une étude pré-clinique comportant 1500 sujets est très faible (30). Même après la mise sur le marché, l'augmentation importante de patients exposés à la molécule ne suffit pas à compenser la difficulté de suivi des patients. De plus l'imputabilité de la molécule peut être difficile à affirmer dans la survenue d'une syncope ou d'un décès, ce d'autant que les patients suivent souvent des traitements comportant plusieurs produits.

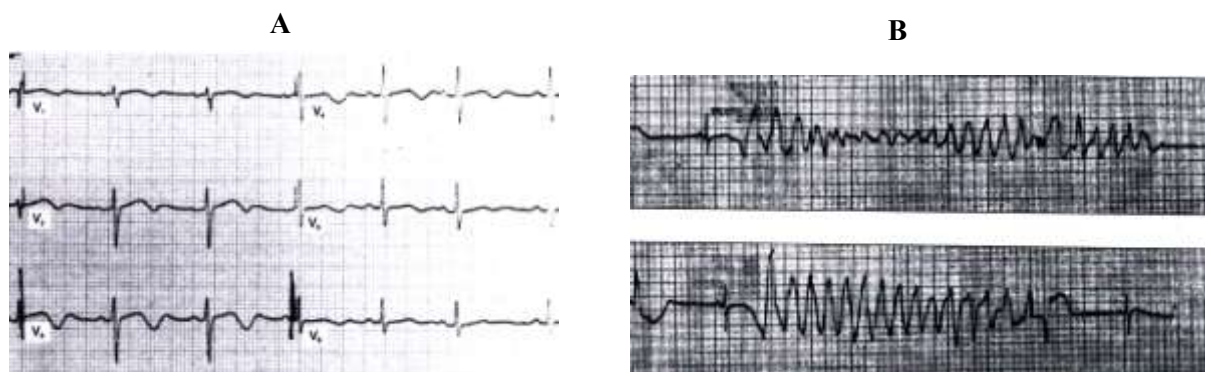


Figure 28 bis. Premier enregistrement de torsade de pointes lié à une intoxication par la terfénadine (23). *A: Allongement de l'intervalle QT provoqué par l'association de terfénadine et d'un bloqueur du cytochrome P450, le kétoconazole (ECG standard, 6 dérivation précordiales). B: Enregistrement monopiste (surveillance monitorée) de 2 accès de torsade de pointes associés à des lipothymies.*

La fréquence de survenue de torsades de pointes iatrogènes n'est pas forcément plus grande que celle des aplasies médullaires induites par le chloramphénicol, ou que celle des néphropathies à éosinophiles induites par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Mais ces troubles du rythme potentiellement mortels peuvent être secondaires à la prise de médicaments de confort, comme les antihistaminiques, ce qui est inacceptable. Ils obéissent à un mécanisme électrophysiologique qui est, au moins partiellement, connu. Il est donc logique de chercher à se donner les moyens de dépister ce type de molécules arythmogènes avant leur mise sur le marché, et ce cibler au mieux la population à risque.

B. Régulation médicamenteuse

a) Pourquoi HERG ?

L'allongement de la repolarisation ventriculaire peut être lié à une augmentation des courants entrants ou à une diminution des courants sortants. Ce principe fondamental est vérifié dans le cas des mutations qui touchent les courants potassiques, sodiques et calciques (ainsi que le cas de l'anhydrine-B) impliqués dans le syndrome du QT long. Cependant, le courant I_{Kr} , et donc le canal HERG, a un rôle important dans la repolarisation chez l'homme. Pendant le plateau du potentiel d'action, la plupart des canaux HERG sont dans un état inactivé. Lorsque la repolarisation démarre, au début de la phase III, les canaux HERG sortent de leur état d'inactivation et se déactivent. Ainsi, l'initiation de la repolarisation entraîne une augmentation du courant I_{Kr} , ce qui vient majorer et accélérer le phénomène.

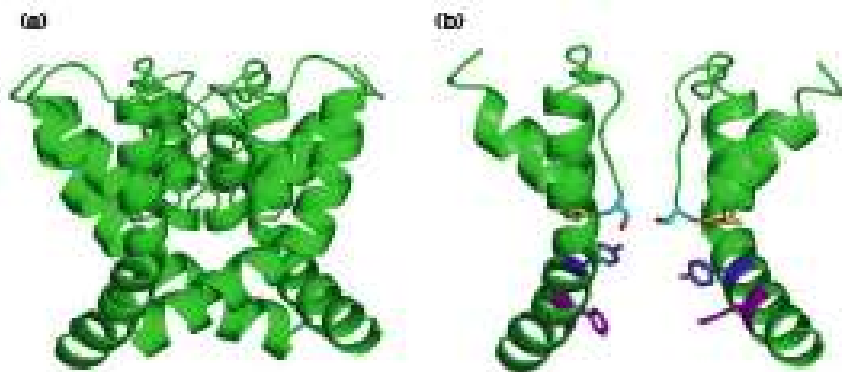


Figure 29. Accrochage des molécules à la partie centrale du canal HERG (24). (a) Région du pore du canal HERG (domaines S6 S6) en position ouverte. (b) Aggrandissement de la région du pore. Les résidus d'accrochage sélectif sont en bleu et orange.

On peut être par ailleurs frappé par le fait qu'au moins 8 gènes soient impliqués dans la forme congénitale du syndrome du QT long, alors que la quasi-totalité des molécules responsables de la forme acquise du syndrome ont pour cible le blocage du courant I_{Kr} . La raison pour laquelle la protéine HERG est une cible privilégiée d'un grand nombre de molécule a été explorée par Sanguinetti et coll. (**Figure 29**) (24, 626-628). Le site d'attache le plus courant de la molécule dans le canal est situé dans le pore du côté intracellulaire, comme dans la plupart des canaux. Deux caractéristiques architecturales majeures, rendant compte de la facilité d'accès de HERG, sont présentes dans ce canal, et sont absentes des autres canaux potassiques. La première est la présence de multiples radicaux aromatiques orientés vers la partie centrale du pore, radicaux qui favorisent une forte affinité pour un grand nombre de molécules au niveau du site d'attache. D'autres sites d'attache ont été identifiés dans le canal, et pourraient moduler cette affinité. Le deuxième élément est l'absence d'une paire de radicaux proline (PRO) dans le segment S6 qui forme une partie du pore, de telle manière que le segment S6 ne s'entortille pas dans le canal. Cette conformation stéréoscopique favoriserait l'accès d'un grand nombre de molécules au site d'attache.

b) Les substances

Bien que la prévalence de la forme acquise du syndrome du QT long soit de l'ordre de 1/100 000, le nombre de molécule impliquées dans la survenue d'un allongement de l'intervalle QT, ou *a fortiori* de torsade de pointes croît régulièrement. Une liste est mise à jour régulièrement sur les sites suivants: <http://www.torsades.org/> (Ray Woosley) et <http://www.fenichel.net> (Robert Fenichel) (voir les listes en annexe).

C. Particularités cliniques

Les circonstances de déclenchements des torsades de pointes diffèrent, tout en gardant des similitudes, selon qu'elles surviennent sur un syndrome du QT long acquis ou congénital. Dans le cadre du syndrome du QT long acquis les torsades sont dites "bradycardie dépendantes". Le déclenchement de la tachycardie est précédé d'une pause ventriculaire, c'est-à-dire d'un repos compensateur suivant une extrasystole ventriculaire, créant des séquences "short-long-short" (629), ou d'une bradycardie, par exemple en rapport avec un bloc auriculo-ventriculaire (3). On observe souvent une augmentation de la fréquence cardiaque précédant la survenue du trouble du rythme, suggérant également une participation adrénergique à la genèse de l'arythmie. À l'inverse, les torsades de pointes survenant dans le contexte d'une

forme congénitale du syndrome du QT long sont dites tachycardie-dépendantes (602), en particulier dans les formes 1 et 2 du syndrome. Par contre, dans la forme 3, les troubles du rythme surviennent au repos, et il existe dans la forme 4 une dysfonction sinusale marquée.

D. Dépistage des bloqueurs de HERG

1. Le dépistage pré-clinique

L'objectif des études réalisées à un stade pré-clinique est d'établir les capacités d'une molécule et/ou de ses métabolites à allonger la repolarisation ventriculaire cardiaque, mais aussi de relier ce potentiel à des valeurs de concentration (30, 520, 630-633). Ces études peuvent être réalisées à différents niveaux d'intégration de la repolarisation ventriculaire:

- courants ioniques: mesurés à partir de cellules cardiaques isolées, animales ou humaines, de lignées cellulaires stables cardiaques (CHO, HEK 293, COS7), ou enfin de systèmes d'expression hétérologues de canaux ioniques humains clonés
- potentiel d'action: sur des préparations multicellulaires cardiaques (fibre de Purkinje, papillaire) ou sur des cellules isolées, ou encore par enregistrement de potentiels d'action monophasique sur des animaux anesthésiés
- mesure de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme: chez des animaux conscients ou anesthésiés.
- recherche d'un effet proarythmique: chez des animaux conscients ou anesthésiés.

a) *Modèles in vitro*

Les expériences *in vitro* permettent d'obtenir des informations pertinentes concernant l'effet des molécules sur la durée du potentiel d'action et les courants ioniques. Les préparations utilisées dans le cadre de ces études peuvent être de type unicellulaires (systèmes d'expression hétérologues, cellules cardiaques isolées) ou multicellulaires (fibres de Purkinje, muscles papillaires, trabécules ventriculaires, segment myocardique perfusé, cœur isolé-perfusé). Les systèmes multicellulaires ont une stabilité favorable à l'étude de la durée du potentiel d'action (30). Les systèmes d'expression hétérologue sont des lignées cellulaires non cardiaques où sont exprimés des canaux ioniques humains. Ils permettent d'étudier l'effet d'une molécule sur un canal ionique précis. La préparation de cellules cardiaques isolées est plus difficile à mettre en œuvre, mais comporte l'avantage de rendre possible et l'étude du potentiel d'action, et l'étude des courants ioniques. L'analyse des paramètres de chaque phase du potentiel d'action donne des informations utiles pour anticiper sur des études plus précises en patch-clamp: la V_{max} pour la phase 0 (I_{Na}), l'APD30 ou 40 pour la phase 2 ($I_{Ca,L}$), et la "triangulation" (634) pour la phase 3 (I_K).

Différentes espèces animales peuvent être impliquées dans les expériences *in vitro*, et en particulier le cobaye, le lapin, le furet, le chien, le porc, et parfois l'homme. Les variations inter-espèces dans les courants participant au déroulement du potentiel d'action doivent être pris en compte dans la conception de l'expérience, au même titre que la nature des cellules myocardiques (sensibilité des cellules M et des fibres de Purkinje, par exemple). La souris et le rat ne peuvent être utilisés car la repolarisation myocardique de ces espèces n'est pas dépendante de I_{Kr} , mais principalement du courant potassique transitoire sortant, I_{to} . Plus généralement, les résultats obtenus avec une espèce animale, peuvent ne pas être prédictif de ceux qui seront observés sur des myocytes humains. Le choix des concentrations, tant *in vitro* que *in vivo* d'ailleurs, doit se faire de telle manière à dépasser largement (un intervalle de 3 unités log est souhaitable), la concentration plasmatique maximum humaine, telle que l'on peut la prévoir au moment de l'étude. Ces concentrations doivent permettre d'obtenir une relation dose-effet. L'étude d'une molécule, connue pour appartenir à une classe chimique ou

pharmaceutique associée avec un allongement de l'intervalle QT, est facilitée par la comparaison avec un autre produit de référence de la même classe, de telle manière à tenter de classer l'effet de la molécule sur la repolarisation ventriculaire, mais aussi de préciser la sensibilité du modèle. Enfin la température, et la concentration des électrolytes dans le milieu d'incubation doivent se rapprocher au mieux des conditions physiologiques.

Le patch clamp classique peut aussi être effectué automatiquement et l'on peut désormais étudier non pas une seule cellule mais 16 cellules en même temps avec le patch express 7000[®] (Axon Instruments, Ltd), par exemple. Ces systèmes, dits à haut débit ("high throughput screening : HTS"), sont disponibles pour dépister les bloqueurs des canaux potassiques HERG à large échelle. Ces moyens doivent être rapide, peu coûteux, automatique et reproductible. Il existe 3 techniques différentes

- les méthodes de binding (dofétilide)
- les flux de rubidium
- les méthodes de fluorescence

Une revue de ces techniques est donnée par Netzer et coll. (635) ainsi que Zheng et coll. (636). Il faut toutefois garder à l'esprit que tous ces modèles sont complémentaires et que l'électrophysiologiste reste incontournable pour interpréter un courant HERG, de même que le cardiologue pour étudier la forme et la durée d'un intervalle QT, quelque soit le programme d'analyse automatique. La valeur prédictive de ces techniques à haut débit reste encore à déterminer.

L'interprétation des tests *in vitro* peut être limitée par un certain nombre de facteurs, parmi lesquels (631-633):

- La solubilité limitée de la molécule, qui peut gêner l'utilisation de concentrations élevées.
- L'adsorption du produit sur les parois en verre ou en plastic du contenant, de telle manière que la concentration de la molécule doit être contrôlée si on étudie la marge de sécurité
- Une cardiotoxicité dépendante d'une exposition chronique, rendant inappropriée et/ou insuffisante l'étude des effets de la molécule par l'intermédiaire d'une exposition unique
- La cytotoxicité de la molécule, qui peut entraîner une altération de la paroi membranaire des cellules étudiées.
- En cas de discordance entre les données *in vitro* et *in vivo*, les principaux métabolites doivent être testés *in vitro*.
- Une sous-estimation de la marge de sécurité lorsque les concentrations plasmatiques sont inférieures à la concentration intra myocardique (amiodarone).
- L'étude de molécule dont le métabolisme particulier (par exemple, catabolisme de la terfénadine exclusivement hépatique par le cytochrome P450 3A4) peut justifier l'utilisation de concentrations qui ne sont pas supposées pouvoir être observées dans des circonstances normales.

i) Les courants ioniques

La mesure des courants ioniques peut être effectuée selon la technique du voltage imposé sur des myocytes isolés. L'étude du courant I_{Kr} est logique compte tenu du mécanisme d'action des molécules arythmogènes, cependant un allongement de la repolarisation, ou à l'inverse une absence inattendue d'allongement, peut être liée à une activation ou à une inhibition des autres courants ioniques participant au déroulement du potentiel d'action. La capacité d'inhibition d'un courant est mesurée par l'IC50 (concentration de la molécule *in vitro* pour inhiber 50% de l'effet du produit, par exemple sur HERG). Le caractère dépendant de la fréquence de cette

inhibition peut être intéressant à étudier. L'étude du courant I_{Kr} peut être également réalisée dans un système d'expression hétérologue. Cependant, les systèmes d'expression peuvent entraîner une modification de la configuration ou des propriétés pharmacologiques du canal (par exemple par des propriétés de régulation intracellulaires spécifiques au modèle), de telle manière que l'IC50 est dépendante du type de système.

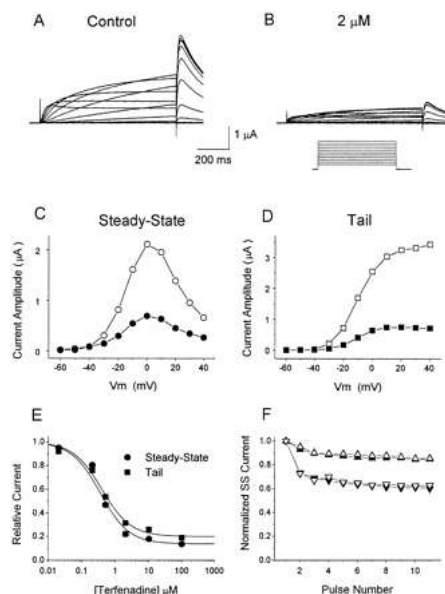


Figure 30. Enregistrement de HERG endogène sur des oocytes de Xénope et effet de la terfénadine (28). *A.* Courant HERG caractéristique avec la queue du courant et une rectification du courant sortant pour des "clamps" supérieures à 0 mV. *B.* Enregistrement sur le même oocyte superfusé avec 2 μM de terfénadine, entraînant une diminution de l'intensité du courant à l'état stable et à la queue. *C et D.* Courbes I/V montrant la diminution du courant à l'état stable et à la queue induit par la terfénadine. Les cercles vides et remplis de noir représentent respectivement les valeurs témoins et obtenues sous terfénadine.

L'oocyte de Xénope est un modèle critiqué car la grande surface de cet oeuf et son contenu important en produits lipophiles peuvent entraîner une surestimation de l'IC50 (637). Par ailleurs, la capacitance de sa membrane rend difficile la mesure des courants ioniques d'activation rapide, comme I_{Kr} . Ainsi, les systèmes d'expression mammifères, comme les cellules de rein embryonnaires humaines (HEK 293), les fibroblastes de souris, ou les cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) sont largement préférés du fait de leur petite taille, de la relative faiblesse de leur activité canalaire endogène, et de la possibilité de les étudier à une température physiologique (30).

ii) Le potentiel d'action

L'allongement du potentiel d'action fait partie des caractéristiques des molécules arythmogènes, à travers l'inhibition du courant I_{Kr} (638). La mesure du potentiel d'action transmembranaire par la technique de la micro électrode permet de mesurer la durée de ce potentiel à 90% de la repolarisation (DPA_{90}) et de noter la présence de post-dépolarisations précoces, voire d'activité déclenchée, qui sont les principales informations sur le potentiel proarythmique de la molécule. D'autres mesures sont associées, comme la DPA_{60} ou 30, la V_{max} , et le potentiel de repos, l'amplitude du PA, et la fréquence maximale de dépolarisation. Les mesures sont effectuées selon une gamme de fréquence relativement large de telle manière à mettre en évidence une fréquence-dépendance inverse de la repolarisation ventriculaire, en d'autres termes une durée d'allongement d'autant plus importante que le cycle de stimulation est bas. Cette fréquence dépendance inverse est une propriété reconnue pour favoriser l'émergence des arythmies dans le syndrome du QT long acquis, c'est-à-dire

l'allongement de la repolarisation ventriculaire, l'activité déclenchée, et les torsades de pointes qui en suivent. L'utilisation d'une large gamme de concentrations est également nécessaire pour retrouver un aspect en cloche de la courbe démontrant que l'action de la molécule peut être inhibitrice pour un premier courant à faible concentration, et sur un deuxième courant à plus forte concentration (par exemple la quinidine). Les mesures doivent être réalisées à l'état stable, tant concernant la fréquence, que la dose.

Les mesures effectuées sur les myocytes humains sont les seules mesures de références, compte tenu des variations inter-espèces, mais ces mesures sont rendues difficiles par une grande variabilité des potentiels une fois obtenue la désagrégation cellulaire, même à cycle constant (30). Les fibres de Purkinje et les muscles papillaires (chien, lapin, cobaye, furet) sont plus stables que les cellules isolées, et représentent de ce fait un substrat confortable pour les tests. Les mesures effectuées sur des cœurs entiers isolés selon la technique de Langendorff permettent à la fois des mesures de potentiel d'action et électrocardiographiques. L'usage de préparations canines, tel qu'il a été développé par l'équipe d'Antzelevitch (639, 640), représente une méthode fine permettant de préciser l'effet d'une molécule sur les différents sous-types cellulaires du myocarde. Il s'agit cependant d'une procédure lourde qui ne peut prétendre une application dans le domaine du dépistage à large échelle. Des techniques d'immunofluorescence peuvent aussi être réalisées sur des cultures transfectées (HERG-MIRP, KvLQT1-MinK) incubées avec des colorants fluorescents sensibles au voltage ou sur cœur entier (399, 641). Dans tous les cas, un résultat positif impose de poursuivre des investigations complémentaires, mais une négativité des résultats peut également correspondre à un faux négatif de la méthode.

b) Modèles in vivo

Les essais réalisés sur des modèles animaux permettent d'obtenir une approche beaucoup plus globale de l'influence d'une molécule, comportant l'ensemble des types cellulaires myocardiques, l'influence du système nerveux végétatif et des différents systèmes hormonaux, la prise en compte des métabolites etc... La mesure de l'intervalle QT est le paramètre habituellement pris en compte pour étudier la repolarisation ventriculaire cardiaque. La difficulté est ici de dissocier un allongement de l'intervalle QT directement induit par la molécule testée, d'un allongement secondaire à une bradycardie, compte tenu de la relation qui lie ces deux paramètres. Les deux déterminants majeurs de la variabilité de la fréquence cardiaque dans ce type d'expériences sont d'une part le système nerveux autonome, et d'autre part la molécule elle-même. On sait en effet que le blocage de HERG ralentit l'automatisme sinusal en allongeant la durée du potentiel d'action, mais les molécules peuvent également avoir un profil pharmacologique complexe entraînant le blocage d'autres courants impliqués dans l'automatisme sinusal. Idéalement, les valeurs obtenues sous l'effet d'une molécule testée doivent être comparées à celles qui sont obtenues à une même fréquence sous l'effet du solvant dans des conditions expérimentales semblables. En présence d'une variation de fréquence, l'usage d'une formule de correction adaptée au modèle étudié est proposé, à moins qu'il soit possible de gommer les variations de fréquence par un procédé de stimulation à fréquence imposée lors de l'expérimentation.

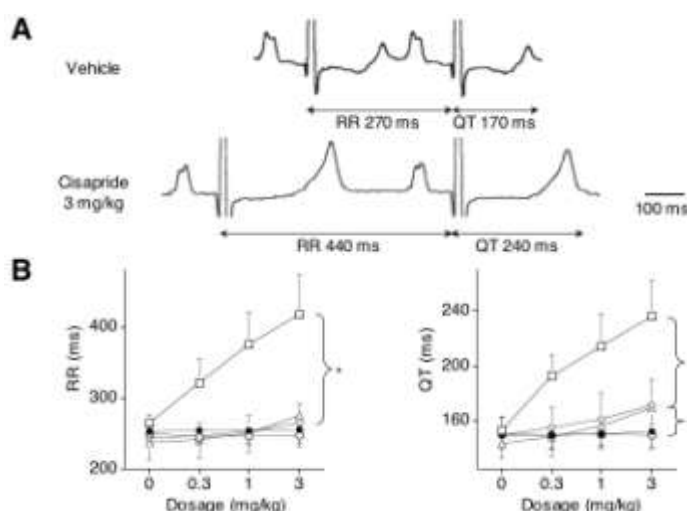


Figure 31. Effet de différents 5-HT₄ agonistes sur l'intervalle QT chez le cobaye anesthésié (en cours de publication). A. ECG enregistré en DI après injection de 3 mg/kg de cisapride. B. Effets de différents 5-HT₄ agonistes sur les intervalles RR et QT (4 groupes de 6 cobayes), en utilisant des concentrations croissantes de la molécule (0,3; 1; 3 mg/kg) ou le solvant. Les carrés, losanges, triangles, et cercles représentent respectivement le cisapride, le prucalopride, le renzapride, et le mozapride. Les cercles pleins représentent le solvant.

L'allongement de l'intervalle QT induit par des médicaments a pu être démontré tant sur des modèles anesthésiés que sur des modèles vigiles. L'intérêt des mesures sur des animaux éveillés est de s'affranchir des produits anesthésiants qui peuvent interférer avec la repolarisation ventriculaire (par exemple le pentobarbital inhibe partiellement certains courants ioniques, dont le courant I_{K_r}) et qui modifient le tonus neurovégétatif, et de mesurer les variations circadiennes de l'effet d'une molécule. Les inconvénients sont représentés par une technologie potentiellement plus lourde (télémétrie, qui elle-même impose l'implantation sous-cutanée d'un émetteur, sous anesthésie générale), par une qualité de signal polluée par les artefacts musculaires, et par une fréquence cardiaque nécessairement plus variable, imposant l'usage d'une formule de correction. La brièveté du cycle, dans les phases d'éveil, peut induire une fusion de la fin de l'onde T et de l'onde P suivante, rendant la détermination du paramètre majeur, l'intervalle QT, donc la fin de l'onde T, difficile voire imprécis. À l'opposé, l'usage d'une anesthésie générale gomme en partie l'influence du tonus adrénergique, ou le supprime si l'on effectue parallèlement un blocage du système nerveux autonome (injection d'atropine et de propranolol), insère dans le protocole expérimental une variable de plus, le(s) produit(s) anesthésiant(s) avec un effet potentiel sur la repolarisation ventriculaire et une interaction possible avec le produit test. L'intérêt de telles procédures est que la reproductibilité intra-individuelle, et inter-individuelle, des mesures est probablement meilleure compte tenu que: i) les conditions d'examen sont plus faciles à reproduire d'une expérience à l'autre, ii) la détermination de la fin de l'onde T est facilitée par l'allongement du cycle cardiaque, iii) la similitude des conditions physiologiques d'examen entre les animaux est améliorée par le blocage du système nerveux autonome. Enfin, certains produits anesthésiants ne comportent pas ou peu d'effet sur le système cardiovasculaire, et en particulier sur les canaux ionique (halothane, etomidate, ...), le biais potentiel sur l'étude trouve une solution par l'utilisation systématique d'un groupe contrôle, où l'ensemble du protocole expérimental est appliqué *in extenso*, à l'exception bien sûr de l'injection du produit test. Bien que la réalisation de mesures sur des animaux anesthésiés permette de favoriser la

qualité de l'information et non la quantité, il faut reconnaître que la réalisation d'un protocole sur animal vigile comporte des intérêts spécifiques.

Différentes espèces peuvent être utilisées, en particulier le cobaye, le lapin, le furet, le chien, le cochon, et le singe. Pour les mêmes raisons que celles qui sont explicitées plus haut, la souris et le rat ne sont pas utilisés dans ces expériences, du fait de leurs propriétés électrophysiologiques cardiaques. Le cobaye apparaît comme un compromis intéressant. Il s'agit d'un animal économique, tant à l'achat qu'à l'entretien, et qui nécessite également peu de produit actif au vu de son poids (500 à 800 g) ce qui n'est pas sans intérêt dans l'optique d'une politique de dépistage précoce et à large échelle. Par ailleurs, les courants ioniques cardiaques présents chez le cobaye sont très proches de ceux présents chez l'homme, à l'exception de I_{to} qui est absent chez le cobaye (642-645). Par contre bien que le chien ait été l'animal d'expérience le plus utilisé en pharmacologie de sécurité, la poursuite de son utilisation peut être remise en question au vu de la variabilité importante de son rythme sinusal, rendant délicate toute application de formule de correction à l'intervalle QT.

Quel que soit la méthodologie utilisée, la comparaison des différentes mesures de QT doit prendre en compte le cycle cardiaque et ses variations. L'application d'une stimulation endocavitaires ou œsophagienne, de telle manière à imposer un cycle constant, devrait permettre de s'affranchir de toute formule de correction. Cette solution théoriquement idéale est en réalité assez difficile à mettre en pratique, car l'allongement de l'intervalle QT secondaire à l'injection d'une molécule peut être tel, que la fin de l'onde T vient se confondre avec l'onde P suivante, en l'absence de bradycardie associée, et rend alors à nouveau la détermination de la fin de T délicate, ce qui diminue l'intérêt global de la méthode. L'application d'une formule de correction est donc le recours le plus fréquent. Cependant, il apparaît évident que la formule de Bazett ne peut prétendre donner un résultat sensé sur le plan physiologique chez l'animal, ayant été conçue chez l'homme pour donner une valeur théorique de l'intervalle QT pour un cycle de 1 seconde. Rappelons que les valeurs de fréquence cardiaque du chien, du cobaye, et de la souris (bien qu'elle ne soit pas utilisée dans ce contexte) sont de 150/mn, 250/mn, et 450/mn environ. Il semble logique de proposer une formule de correction donnant une valeur de QT pour un cycle physiologique, et plus encore de déterminer pour chaque espèce (dans l'idéal pour chaque individu (231)) une formule de correction adaptée (643).

D'autres paramètres évaluant la repolarisation ventriculaire de manière plus régionale, comme le potentiel d'action monophasique ou la période réfractaire effective, peuvent aussi être utilisés. Les expérimentations *in vivo* permettent également de colliger des valeurs d'intérêt dans l'étude de l'influence cardio-vasculaire d'une molécule, comme la pression artérielle, la fréquence cardiaque, ou l'intervalle PR et la durée du QRS qui reflètent la conduction auriculo-ventriculaire.

La gamme des posologies utilisées devrait déborder sur celle que l'on pense utiliser pour le produit en clinique humaine. L'utilisation des posologies les plus élevées peut cependant être limitée par l'intolérance de l'animal à la molécule testée ou à son solvant. La réalisation de dosages plasmatiques permet de produire une relation concentration-effet à la relation dose-effet. La présence d'un allongement de l'intervalle QT sans parallèle avec les données *in vitro* laisse supposer un effet toxique d'un métabolite de la molécule administrée.

Là encore, l'interprétation des tests *in vivo* peut être limitée par un certain nombre de facteurs, parmi lesquels:

- La sensibilité du modèle et la reproductibilité des mesures
- Le mode et le moment d'acquisition des données
- Les variations de fréquence cardiaque ou d'autres paramètres cardio-vasculaires qui peuvent rendre difficile l'analyse des variations de l'intervalle QT

- Les variations inter-espèces, ou inter-genre, pouvant toucher tous les paramètres cardio-vasculaires
- La difficulté d'interprétation de certaines relations dose-effet liée à la complexité d'action de certaines molécules.

Compte tenu du fait que la relation précise entre l'allongement de la repolarisation ventriculaire et le risque de survenue de troubles du rythme est mal connu, il pourrait paraître logique de tester directement le caractère arythmogène des molécules. Cependant la réalisation de modèles animaux (décrits plus haut) reproduisant les conditions dans lesquelles surviennent ces troubles du rythme est complexe (422). Leur utilisation n'est donc pas recommandée dans le cadre d'une détection en routine du potentiel arythmogène d'une molécule. Enfin, les travaux de transgénèse effectués maintenant en routine chez la souris pourraient donner naissance à des modèles animaux utiles pour dépister à une phase précoce les bloqueurs de HERG (466).

2. Dépistage clinique

D'une manière générale, les études cliniques effectuées dans le cadre du développement d'un médicament suivent 4 phases. La phase I est la seule qui est effectuée sur des volontaires sains avec des doses progressivement croissantes. L'objectif est de déterminer la dose maximale n'entraînant pas d'effets secondaires et d'effectuer une pharmacocinétique initiale. C'est un essai ouvert, non contrôlé. Les autres phases ont lieu chez des malades. La phase II est effectuée de telle manière de dépister un effet thérapeutique et d'évaluer la posologie optimale. C'est aussi un essai ouvert. Les essais de phase III ont pour but de confirmer les essais de phase II dans une grande population de malades. Il s'agit cette fois d'un essai contrôlé car le produit à tester est comparé avec un placebo ou une substance de référence dans la même classe thérapeutique, et il est randomisé. Les essais de phase IV sont effectués après la commercialisation du médicament. Tout au long de ces quatre phases, les effets secondaires sont recherchés, et si possible documentés.

Dans le domaine de la pharmacologie de sécurité et de la repolarisation ventriculaire, l'objectif des études de phase I ou II précoces est d'identifier un allongement de l'intervalle QTc de telle manière à anticiper un risque proarythmique potentiel avant que le produit ne soit administré à une plus large échelle dans le cadre des études de phase III (30, 93, 520, 630-633). Compte tenu de la prévalence plus importante des torsades de pointes médicamenteuses chez la femme, ces études doivent intégrer des sujets des deux sexes, avec le cas échéant une contraception adéquate.

Lors des études en phase I/II, les posologies doivent permettre d'effectuer une courbe dose-réponse, et s'approcher de la posologie maximum sous surveillance clinique adéquate. La durée de l'étude est déterminée par la nécessité d'obtenir une stabilité des taux plasmatiques. Les variations des taux plasmatiques de la molécule, et éventuellement de ses principaux métabolites actifs, doivent être mesurés, en déterminant la chronologie des prélèvements sur les propriétés pharmacocinétiques du produit. L'enregistrement en série d'ECG 12 dérivations est effectué selon la même logique, en effectuant le premier enregistrement à l'état de base, c'est-à-dire avant toute prise médicamenteuse (T0). Ces études effectuées contre placebo sont effectuées dans des laboratoires expérimentés, et les données en durée de la repolarisation ventriculaires sont complétées par des informations morphologiques de l'onde T et de l'onde U. Il n'existe pas de consensus sur la méthode de mesure de l'intervalle QT, cependant la règle est d'effectuer une moyenne sur 3 à 5 battements, de mesurer le QT sur la dérivation où il est le plus long, souvent V2 (185), et d'effectuer cette mesure de manière manuelle par deux observateurs entraînés (les mesures automatiques restent du domaine de la recherche (192)).

La durée de l'intervalle QT est fonction du cycle cardiaque, et une discussion traitant des formules de correction a déjà été effectuée plus haut dans cette thèse. L'existence d'un paramètre supplémentaire, l'effet de la molécule bloquant I_{Kr} , et entraînant une bradycardie et un allongement de l'intervalle QT, ne fait que rendre la situation encore plus difficile. Les solutions les plus précises consistent soit à établir individu par individu une formule de correction personnalisée (231), soit à utiliser des enregistrements Holter ou des épreuves d'effort, permettant la comparaison de valeurs de QT pour une même durée de cycle cardiaque.

Le nombre de sujets à inclure dans les études de phase I et II n'est pas aisé à déterminer. On suggère une centaine de sujets en l'absence d'anomalies de la repolarisation tant sur les données pré-cliniques que cliniques, mais en présence d'anomalies le chiffre total doit monter à 200 (30, 93). La présence d'un allongement de l'intervalle QTc chez un sujet isolé ("outlier") peut représenter soit un effet réel du produit testé, soit une variante des valeurs normales autour de la moyenne, et peut donner lieu à des études de relation effet-dose supplémentaires.

L'élargissement des études à des populations spécifiques (pathologies cardiaques par exemple) est logique en fin de phase I/II, dès lors qu'aucune anomalie n'a été observée préalablement. Si le métabolisme de la molécule est particulier, passant par exemple par le CYP450 3A4, des études d'interaction médicamenteuse doivent être réalisées avec les inhibiteurs connus de cet isoforme comme le kétoconazole ou l'érythromycine (91), voire avec le jus de pamplemousse qui inhibe le CYP3A4 au niveau entérocytaire (646). On portera dans ce type d'étude un intérêt tout particulier à la pharmacocinétique.

La valeur de l'allongement minimum de l'intervalle QTc observé au cours des ces études, et déterminant la survenue d'un risque pour une population de consommateurs potentielle de plusieurs millions d'individus, est particulièrement difficile à déterminer. Un allongement de l'intervalle QTc au-delà de 500 ms, de manière reproductible, ou une augmentation de durée de plus de 60 ms par rapport à l'état de base, chez un seul individu, peut avoir plus de valeur dans l'analyse du dossier qu'une augmentation moyenne de petite valeur (5 ms), bien que significative. Mais cette même valeur d'augmentation de 5 ms peut être d'une grande importance dès lors qu'elle est observée à une posologie compatible avec l'usage quotidien (647). Globalement, le risque rythmique semble augmenter avec l'importance de l'allongement de l'intervalle QTc. Les molécules qui allongent l'intervalle QTc moyen d'une valeur inférieure à 5 ms semblent ne pas provoquer de torsades de pointes. Lorsque cet allongement est supérieur à 20 ms, les molécules augmentent de manière claire le risque rythmique (630). Mais finalement, l'estimation de l'importance du risque est à déterminer au cas par cas. Si la molécule vise à traiter de manière efficace le cancer ou le SIDA, il va de soit qu'un allongement de l'intervalle QTc, même arythmogène, peut être toléré. Cette tolérance n'est pas de mise pour un produit de confort visant la population "en bonne santé", rentrant par ailleurs dans une classe médicamenteuse déjà suffisamment fournie.

Les études effectuées en phase III doivent comporter un versant électrocardiographique dès lors que un risque a été identifié en phase I/II. Cependant, ces études sont orientées principalement sur l'efficacité du médicament, et leurs résultats peuvent être fortement influencés par les différents critères d'inclusion et d'exclusion. Certains effets secondaires ne surviennent enfin que lorsque le médicament est confronté à "la vraie vie" après la mise sur le marché, c'est-à-dire à des situations où se mêlent co-morbidité et multimédications, réalisant un milieu beaucoup plus sélectif que celui auquel est soumis le produit dans les études de phase I, II, ou III. C'est pourquoi les études en phase IV (post AMM) sont de plus en plus utiles pour démontrer l'efficacité et la sécurité d'un produit.

3. Stratégie

a) Tests pré-cliniques

Comme indiqué dans la **figure 32**, l'évaluation du risque repose principalement sur un test *in vitro* mesurant le courant I_{Kr} , et sur un test *in vivo* mesurant l'intervalle QT. L'usage des tests *in vitro* et *in vivo* est recommandé car ils sont considérés comme complémentaires et informatifs. Ainsi une étude réalisée en patch-clamp permettra d'évaluer l'inhibition du courant HERG (I_{Kr}) induite par une molécule et le calcul d'une IC_{50} . La mesure de l'intervalle QT chez l'animal *in vivo* donnera l'impact de la molécule à l'échelle de l'organe, mêlant donc les effets, éventuellement opposés, sur plusieurs courants ioniques, ainsi que l'influence de systèmes extracardiaques, comme la balance neurovégétative. L'interprétation de ces 2 tests sera effectuée en fonction de la classe chimique ou pharmacologique de la molécule, et sera éventuellement complétée par une étude de potentiel d'action, et une étude *in vivo* de suivi. La prise en compte de la classe chimique ou pharmacologique de la molécule revient à rechercher une autre molécule potentiellement arythmogène appartenant à la même classe définie selon ses propriétés thérapeutiques (neuroleptiques), selon le mécanisme d'action (agonistes des récepteurs 5-HT₄), ou selon la structure chimique (fluoroquinolone). Une étude sur le potentiel d'action, utilisant éventuellement des concentrations très élevées de la molécule à tester, sera envisagée si les 2 tests précédents s'avèrent négatifs, ou s'il existe une discordance dans les résultats. Les études dites de suivi ("follow-up studies") ont pour but d'approfondir les informations obtenues lors des premiers tests effectués *in vitro* ou *in vivo*. Elles peuvent être initiées, soit au cours du développement pré-clinique, soit de manière rétrospective en cas d'apparition d'informations discordantes entre les données des études cliniques et pré-cliniques. Les études *in vitro* peuvent concerner l'activité des métabolites, ou l'inhibition d'autres courants ioniques que ceux étudiés initialement. Les études *in vivo* peuvent établir des comparaisons entre la molécule étudiée et d'autres molécules de la même classe pharmacologique, concerner d'autres espèces des 2 sexes, mesurer les taux plasmatiques de la molécule-mère et des métabolites, parfois en association à des inhibiteurs du métabolisme, ou encore mesurer les distributions tissulaires. La notion de marge de sécurité ("safety margin") fait partie de l'évaluation globale du risque ("integrated risk assessment"). Son estimation doit être fonction à la fois des résultats des expériences *in vitro* et *in vivo*. L'utilisation d'un produit contrôle permet de tester la sensibilité du système ("positive control substance"). Lorsque le produit contrôle est de la même classe pharmacologique que celle de la molécule testée ("reference compound"), la comparaison des résultats facilite le classement de la molécule testée par rapport aux autres molécules de la même classe.

L'ensemble des données est finalement colligé pour conclure à l'existence d'un potentiel fort ou absent, ou intermédiaire, d'obtenir un allongement induit de l'intervalle QT chez l'homme. Par exemple, une molécule comportant un fort potentiel d'allongement de l'intervalle QT est une molécule dont les tests de dépistage pré-clinique sont positifs à des concentrations indiquant une faible marge de sécurité, c'est-à-dire une IC_{50} en patch sur HERG ou un allongement de l'intervalle QT pour des valeurs de concentration inférieures à 10 fois les concentrations plasmatiques maximum que l'on pourrait anticiper chez l'homme. À l'inverse, une molécule comportant un faible potentiel d'allongement est une molécule dont les tests de dépistage pré-clinique sont positifs à des concentrations indiquant une forte marge de sécurité, c'est-à-dire une IC_{50} en patch sur HERG ou un allongement de l'intervalle QT pour des valeurs de concentration supérieures respectivement à 100 fois et 30 fois les concentrations plasmatiques maximales que l'on pourrait anticiper chez l'homme. L'absence de potentiel d'allongement de l'intervalle QT sera attribuée à une molécule qui n'appartient pas à une classe à risque et dont les tests pré-cliniques sont négatifs, même pour des fortes doses.

Il semble cependant évident que les exigences quant aux effets secondaires d'un anticancéreux sont bien minces dès lors que le produit est prometteur, alors qu'elles seront à juste titre très sévères sur un médicament de confort, surtout si il appartient à une classe déjà fournie. Les études cliniques qui sont réalisées ensuite doivent indiquer si l'allongement de la repolarisation ventriculaire mise éventuellement en évidence dans les études pré-cliniques comporte un parallèle chez l'homme.

On peut se demander si la mesure de l'IC₂₀, voire de l'IC₁₀, ne serait pas préférable à la mesure de l'IC₅₀, dès lors que l'on s'accorde à penser qu'une inhibition de 10% ou 20% du courant I_{Kr} peut induire un effet sur la repolarisation ventriculaire. La justification est d'ordre strictement technique. Compte tenu de la forme sigmoïde de la courbe effet-dose, forme que l'on retrouve de manière systématique dans le cas de HERG quelque soit la molécule testée, la mesure de l'IC₅₀ est certainement plus précise et fiable que la mesure de l'IC à une autre valeur.

b) Essais cliniques

La mise sur le marché d'une nouvelle molécule suppose la réalisation préalable d'au moins une étude clinique visant à rechercher un allongement de la repolarisation ventriculaire sur une population de sujets sains (étude de phase III) (630). Un allongement "substantiel" de l'intervalle QTc, avec ou sans arythmies, peut entraîner le rejet de la demande de mise sur le marché d'une molécule, ou l'arrêt de son développement, en particulier si cette molécule ne présente pas d'avantage clair sur les autres thérapeutiques disponibles. L'évaluation du rapport risque/bénéfice en terme de repolarisation ventriculaire est un élément décisionnel majeur, et comporte en particulier l'importance de l'allongement de l'intervalle QTc, le bénéfice global du produit, l'existence, la tolérance et l'efficacité de traitements alternatifs, et enfin la nature de la pathologie visée et son pronostic selon les traitements disponibles. Il est difficile d'affirmer qu'un allongement de l'intervalle QTc puisse ne pas porter à conséquence en dessous d'une certaine valeur. Cependant, le risque rythmique semble augmenter avec l'importance de l'allongement de l'intervalle QTc. Les molécules qui allongent l'intervalle QTc d'une valeur inférieure à 5 ms semblent ne pas provoquer de torsades de pointes. Lorsque cet allongement est supérieur à 20 ms, les molécules augmentent de manière claire le risque arythmique. Les torsades de pointes sont rarement enregistrées pendant de telles études, même avec des molécules dont les effets proarythmiques sont connus, ce qui se comprend aisément compte tenu de leur rareté et de la taille relativement réduite des échantillons. Donc l'absence de torsade de pointes dans ces études de phase III ne comporte pas de valeur prédictive négative quant à la survenue ultérieure de troubles du rythme. L'évaluation de l'allongement de l'intervalle QT et de l'effet proarythmique de molécules non antiarythmiques chez l'homme est précisée par le dernier document ICH E14 du 12 mai 2005 qui représente un compromis tripartite en matière de pharmacologie de sécurité entre la FDA, l'agence Européenne, et l'agence Japonaise MHW (630).

c) Considérations réglementaires

Les recommandations en matière de pharmacologie de sécurité cardiovasculaire ont débuté à la fin des années 1990 (réunion de Londres du 17/12/1997) avec le document du CPMP/986/96 (Committee for Proprietary Medicinal Products), "Points to consider : The assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products". Ce texte européen incitait fortement à l'époque l'industrie pharmaceutique à tester les effets de nouveaux composés pharmaceutiques sur la repolarisation ventriculaire cardiaque par des tests *in vitro* (mesure de l'DPA₉₀ en potentiel d'action et du courant HERG sur des cellules transfectées) et *in vivo* (mesure de l'intervalle QT à l'ECG) sur des espèces animales appropriées (lapin, chien, cobaye, etc). Ce texte fondateur a été suivi par d'autres

recommandations issues de conférences du type ICH (International Conferences on Harmonization of Technical Requirements for registration of pharmaceuticals for Human use) (<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/098696en.pdf>), dont la première mouture fût publiée en 2000 par la FDA, ou issue du MHW (Ministry of Health and Welfare) au Japon, donnant finalement une situation quelque peu confuse, alors que l'idée "princeps" était d'harmoniser les standards.

Le ICH S7B (http://www.ich.org/MediaServer.jserv?@_ID=505&@_MODE=GLB) est apparu après le ICH S7A (Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals). Cette autorité réglementaire réunit des experts de l'industrie pharmaceutique de l'Europe, du Japon et des USA pour évoquer les différents aspects scientifiques et techniques du développement et de la sécurité des nouveaux composés pharmaceutiques. Le processus ICH se décompose en 5 étapes successives qui vont de la rédaction de draft (step 1) à l'approbation du texte par tous les membres de la conférence (step 4) à l'application dans toutes les régions (step 5). Ce processus est long et compliqué, et il est susceptible de varier dans sa forme au cours des étapes. Mais il faut garder à l'esprit que le développement d'un nouveau médicament est également long (environ 10 à 15 ans avant l'obtention de l'AMM), et coûte très cher en Recherche & Développement (plusieurs millions de dollars). De plus, les tests de pharmacologie de sécurité, notamment HERG, sont désormais réalisés de plus en plus tôt dans le développement afin de ne continuer la recherche que sur les nouvelles molécules (NCE: New Chemical Entity) qui n'ont pas (ou le moins possible) d'effets secondaires cardiaque néfastes (IC₅₀ forte=faible inhibition du courant HERG) tout en conservant l'effet thérapeutique attendu.

La dernière version du document ICH S7B (du 12 mai 2005) est l'étape N° 4 (**Figure 32**) et l'on peut désormais considérer ce texte comme le final (631). Ce dernier est un bon compromis pour l'industrie pharmaceutique entre l'obligatoire et le recommandé, entre les GLP (Good Laboratory Practice) et les GSP (Good Science Practice).

La figure suivante indique la stratégie recommandée dans la version du 12 mai 2005 de l'ICH S7B (631) et reprend celle de juin 2004.

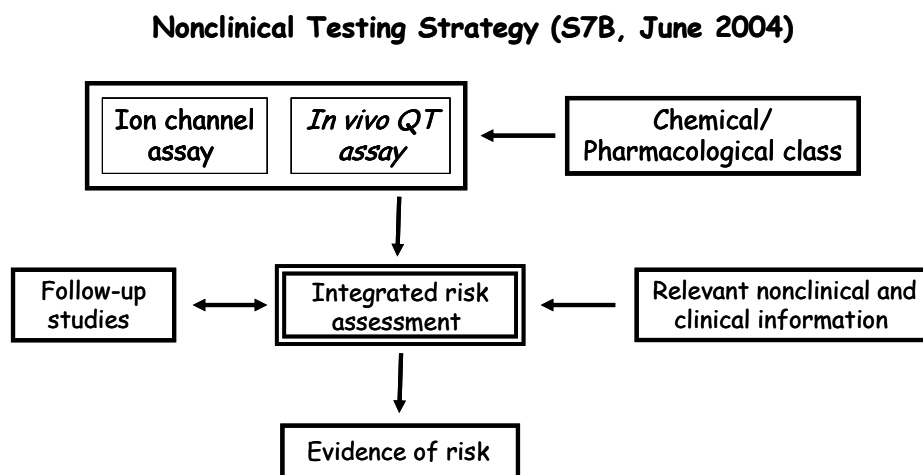


Figure 32. Recommandations données par l'ICH S7B du 12 mai 2005 reprenant celles de juin 2004 concernant le dépistage précoce de l'effet des nouvelles molécules sur la repolarisation ventriculaire.

Pour mémoire nous faisons figurer la stratégie proposée en 2001 dans le document ICH S7B. Cette proposition était beaucoup plus limitative pour l'industriel quand aux conséquences pour les nouvelles molécules.

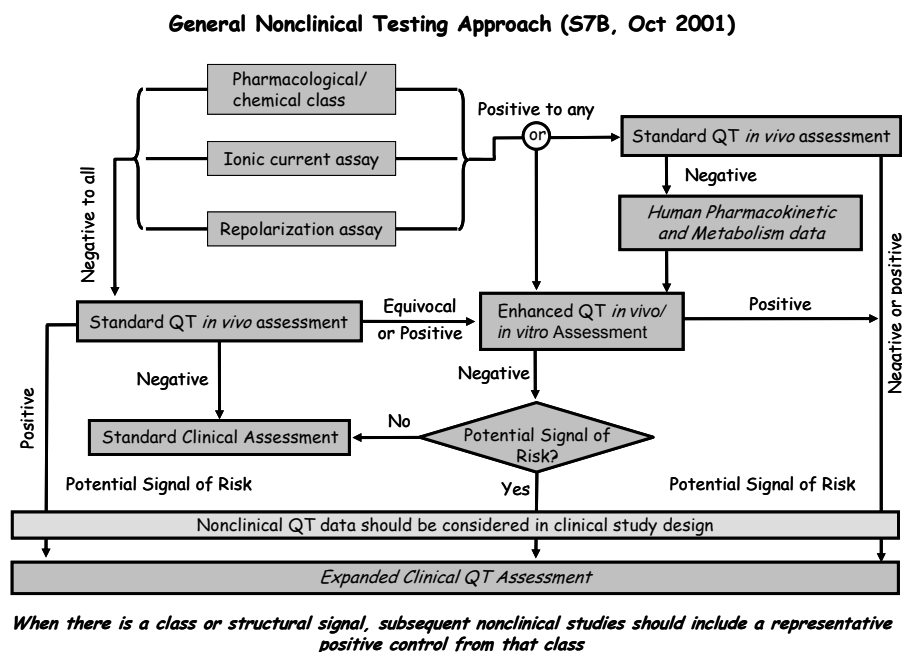


Figure 33. Recommandations données par l'ICH S7B en 2001 concernant le dépistage précoce de l'effet des nouvelles molécules sur la repolarisation ventriculaire

Pour mémoire également, voici l'algorithme décisionnel proposé par le groupe de travail organisé par Haverkamp et Breithardt en 1999 sous l'hospice de la Société Européenne de Cardiologie, et publié en 2000 (**Figure 34**) (30).

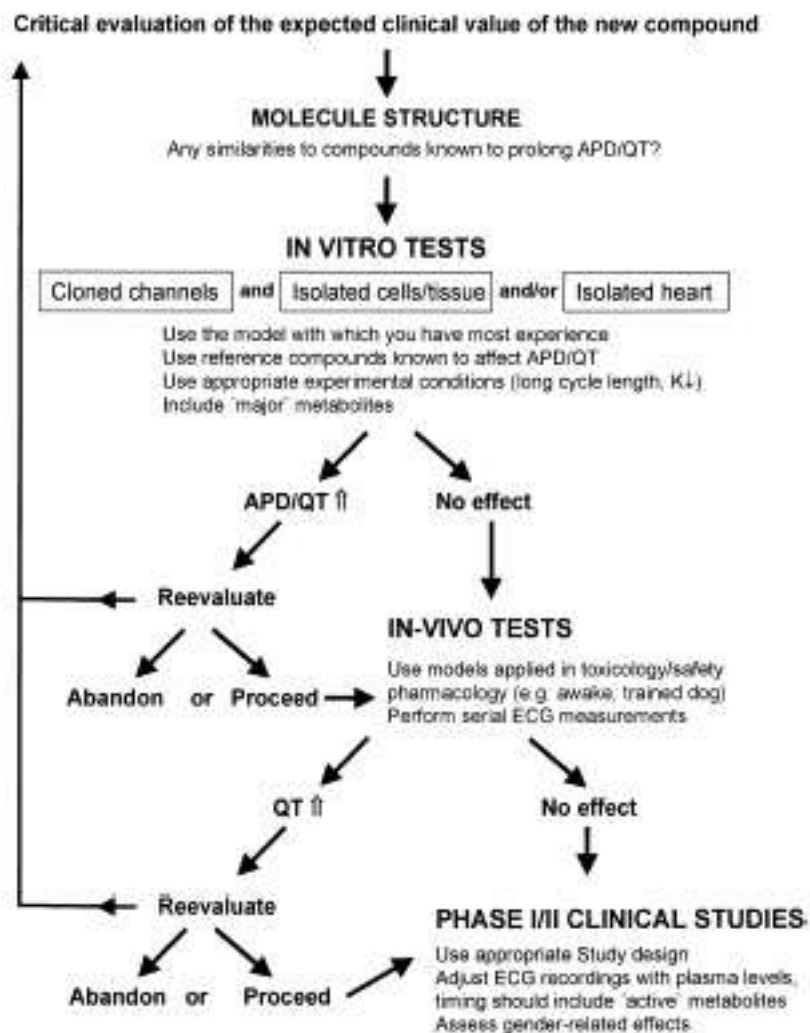


Figure 34. Algorithme décisionnel proposé par le groupe de travail organisé par Haverkamp et Breithardt en 1999 sous l'hospice de la Société Européenne de Cardiologie (30).

4. Corrélation entre les données cliniques humaines et les données pré-cliniques

Redfern et coll. (32) ont récemment comparé les données pré-cliniques et cliniques d'une centaine de produits qui, à ce moment là, représentaient la majorité des molécules impliquées dans un allongement de la repolarisation ou la survenue de torsade de pointes chez l'homme. Les molécules ont tout d'abord été réparties en 5 catégories différentes selon leur potentiel proarythmique, tel qu'il est rapporté dans la littérature:

Catégorie 1: antiarythmiques de classe IA et III.

Catégorie 2: molécules retirées du marché compte tenu du risque arythmogène.

Catégorie 3: nombreux cas publiés de torsades de pointes chez l'homme.

Catégorie 4: rares cas de torsades de pointes chez l'homme

Catégorie 5: aucun cas décrit de torsade de pointes.

Pour chacune des molécules, plusieurs paramètres ont été colligés à partir des données publiées dans la littérature ou des banques de données. Le calcul du taux plasmatique thérapeutique efficace libre (TPTEL) a été obtenu à partir du taux de fixation protéique et du taux plasmatique thérapeutique efficace total. La valeur de l'IC₅₀ a été obtenue à partir de préparations de mammifères (I_{Kr}) ou de cellules transfectées (HERG). Les résultats obtenus à partir d'ovocytes de xénope n'ont pas été utilisés. Les concentrations entraînant une augmentation de 10 à 20% de la durée du potentiel d'action à 90% de la repolarisation (DPA₉₀) à partir de préparations *in vitro* ont été retenues, de même que les posologies et les concentrations plasmatiques entraînant 10 à 20% d'allongement de l'intervalle QTc chez le chien, ainsi que chez l'homme. Cette valeur frontière de 10% a été considérée comme le minimum pouvant donner un allongement significatif dans la majorité des études. En dehors de la catégorie 1, les valeurs de concentration plasmatique chez le chien, et *a fortiori* chez l'homme, étaient rarement obtenues. Parmi les 52 molécules finalement retenues (pour lesquelles le TPTEL et l'IC₅₀ étaient disponibles), des informations complètes n'ont pu être récupérées que pour trois d'entre elles (dofétilide, terfénadine, tamoxifène).

Les résultats de cette étude sont représentés sur les figures ci-dessous (**Figures 35, 35 bis, et 35 ter**). La portée de ces résultats est limitée par un certain nombre de facteurs. Tout d'abord, seules les molécules disponibles sur le marché ont pu être étudiées. Ensuite, le caractère "torsadogène" est difficile à déterminer car il est dépendant également de la durée du traitement et de la nature de la population exposée (taille de la population et caractéristiques cliniques). Certaines torsades de pointes décrites de manière isolée ont pu faire l'objet d'une faute de diagnostic. Enfin, le TPTEL est dépendant de l'exactitude des valeurs publiées, en particulier le taux de fixation protéique. On peut également ajouter que la récupération de données *in vivo* chez le chien tient au fait historique que cet animal est depuis de nombreuses années le plus étudié en pharmacologie, cependant l'étude de la repolarisation ventriculaire est difficile dans cette espèce (discussion plus haut). Signalons à ce sujet que la majorité des auteurs de l'article dont il est question sont liés à la compagnie pharmaceutique Astra Zeneca...

Plus de 100 molécules sont considérées comme responsables d'un allongement de l'intervalle QT chez l'homme, et pourtant certaines sont très arythmogènes alors que d'autres ne le sont pas. Une des explications tient aux marges de sécurité entre la concentration nécessaire à l'obtention d'une efficacité clinique, et celle donnant lieu à une inhibition de HERG/I_{Kr}, ou un allongement de la repolarisation ventriculaire. On peut cependant remarquer que, en dehors des produits de la catégorie 1, il peut exister des différences importantes pour une même molécule entre les valeurs de potentiel d'action ou d'intervalle QT selon l'espèce, le protocole, etc... Il semble donc que la marge de sécurité (plus que la valeur absolue à laquelle on observe un blocage de HERG) soit une donnée particulièrement intéressante. Bien que toutes les molécules de la catégorie 2, en dehors de la grépafloxacine, soient des bloqueurs de HERG plus forts que n'importe quelle molécule de la catégorie 5, il semble bien que le paramètre le plus discriminant soit la marge entre le TPTEL et l'IC₅₀ de HERG ou I_{Kr}. On observe que globalement les molécules avec peu de (ou sans) marge de sécurité entre le TPTEL et l'IC₅₀ de HERG ou I_{Kr} sont associées à un risque proarythmique, alors que celles dont la marge de sécurité est large ne le sont pas. En dehors de quelques exceptions, la valeur des marges de sécurité pour les catégories 1 à 3 est située dans une gamme de x0,01 à x30, alors dans la catégorie 5, les marges sont supérieures à x30, avec l'exception de la phénitoïne et de la cibenzoline (x23-24). Dans la catégorie 4, on observe bien sûr des données intermédiaires, avec par exemple la sparfloxacine dont les concentrations thérapeutiques se superposent avec celles pouvant bloquer HERG. Il est vraisemblable que certaines propriétés de cet antibiotique s'opposent à la survenue fréquente de torsades de pointes.

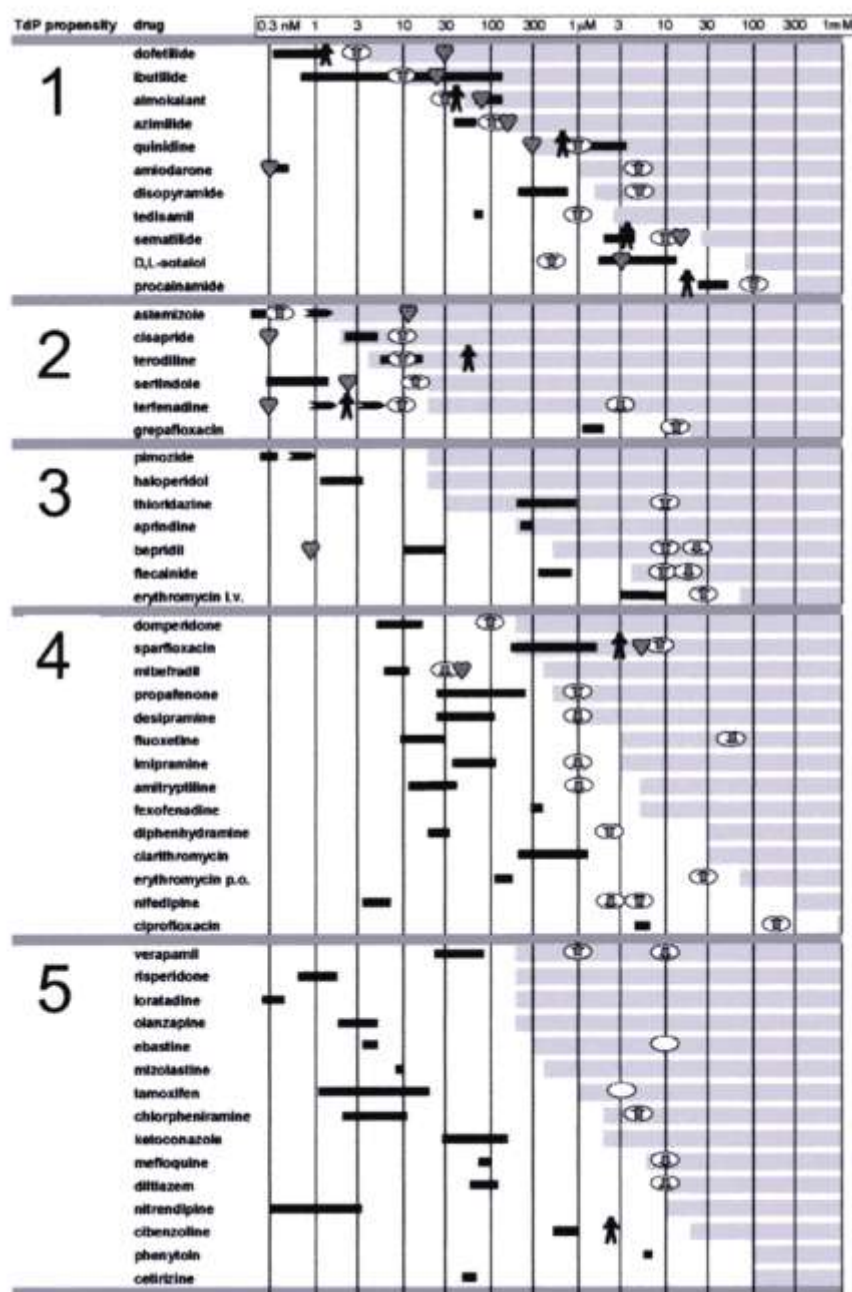


Figure 35. Représentation schématisée de données électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo* comparées à des valeurs de concentrations plasmatiques thérapeutiques pour 49 molécules dont on connaît les données HERG et ETPC_{non lié}. Trait gras: ETPC_{non lié}: concentration plasmatique thérapeutique efficace libre (TPTE non lié dans le texte); trait gras fléché: ETPC_{libre} en présence d'un inhibiteur du cytochrome P450 (TPTEI dans le texte); zone grisée: blocage de HERG (IC₅₀ et au-dessus); bulle vide ou flèche vers le haut ou vers le bas: absence d'effet, augmentation ou diminution de la DPA₉₀; cœur: augmentation de QTc *in vivo*; personnage: augmentation de QTc chez l'homme. Voir la ref (32) pour les détails.

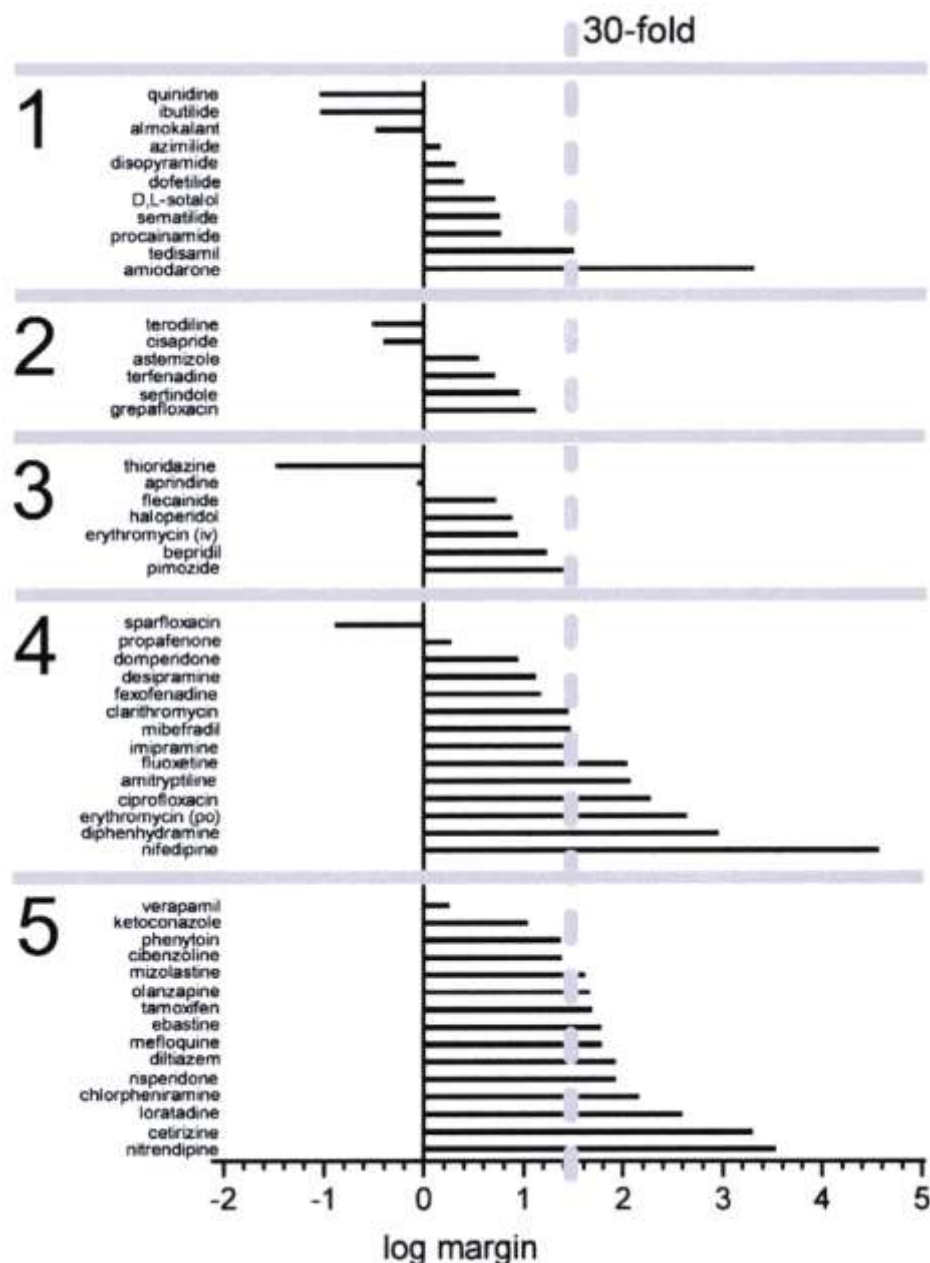
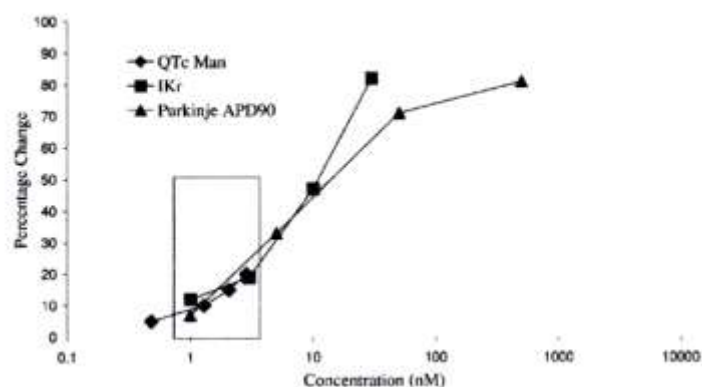
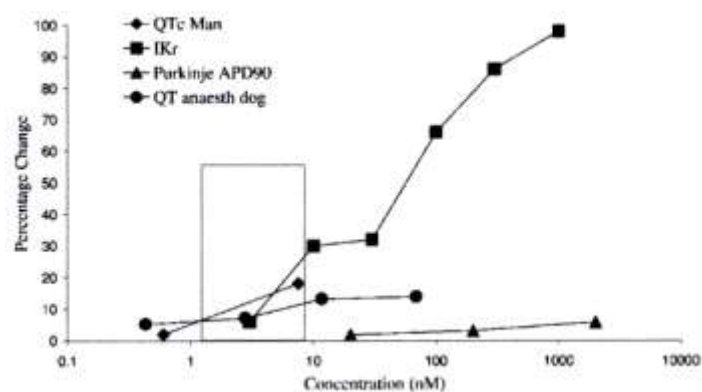


Figure 35 bis. Valeurs logarithmiques minimales publiées concernant les données de HERG IC_{50} divisées par la valeur haute de l' $ETPC_{non\ lié}$ (TPTE non lié dans le texte). Les barres vers la gauche de zéro indiquent une activité de blocage de HERG dans les limites des concentrations plasmatiques thérapeutiques. Le trait pointillé vertical donne une valeur de 30. Voir la ref (32) pour les détails.

Category 1: dofetilide



Category 2: terfenadine



Category 5: tamoxifen

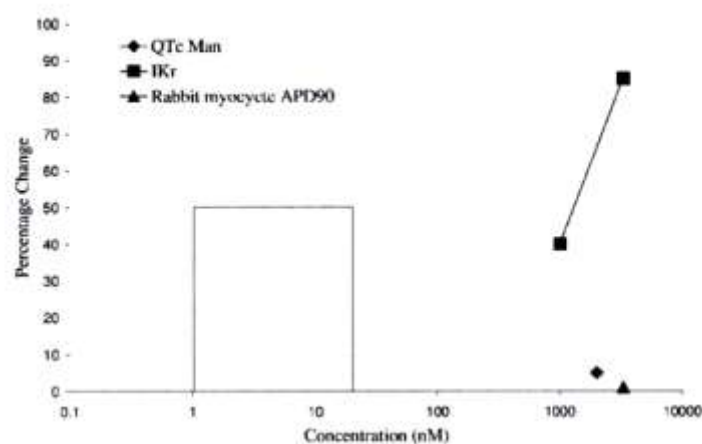


Figure 35 ter. Plots de valeurs concentration/effet pour *Ikr* ou *HERG*, *DPA90*, et *QT* chez le chien ou chez l'homme, pour les catégories 1, 2 et 5. Les valeurs *in vivo* sont les concentrations plasmatiques non liées. Rectangles: concentrations plasmatiques thérapeutiques (non liées) chez l'homme; pour la terfénadine, on donne les valeurs obtenues en présence d'un inhibiteur du cytochrome P450. (32).

D'autres médicaments de la liste constituent des exceptions intéressantes, correspondant soit à des faux-positifs, soit à des faux-négatifs. Il s'agit de l'amiodarone (x1400), de la fluoxétine (x106) (Prozac ®, antidépresseur, inhibiteur de la recapture de la sérotonine), de la ciprofloxacine (x183) (Ciflox ®, antibiotique, quinolone de troisième génération), la diphenhydramine (x880) (antiH1 non commercialisé en France), et la nifédipine (x37500) (Adalate ®, inhibiteur calcique de type dihydropyridine). À l'inverse, la marge de sécurité du vérapamil (Isoptine ®, inhibiteur calcique, non dihydropyridine) est inférieure à 2, alors que cette molécule n'allonge pas le QT et donne encore moins de torsade de pointes. De même le kétoconazole (Nizoral ®, antifongique systémique) présente une faible marge de sécurité (x11) mais n'est pas (ou peu) proarythmique (en dehors de ses propriétés d'inhibition métabolique au niveau du CYP3A4). Ce produit allonge néanmoins l'intervalle QTc chez le cobaye (648) et pourrait avoir un effet additif sur le blocage de HERG induit par les antihistaminiques de type 1 (649, 650). Il n'y a eu qu'un seul épisode publié de torsade de pointes avec la fluoxétine depuis son lancement dans les années 80 (651), mais le mécanisme pourrait être lié à un effet vasoconstricteur de la sérotonine sur des artères coronaires malades (652). L'incidence de torsade de pointes avec la ciprofloxacine est extrêmement faible (0,3 cas par 10 millions de prescriptions) (653). Cependant, la publication de ces informations n'est pas accompagnée de tracés ECG, d'informations cliniques, ou d'informations sur les éventuelles co-prescriptions, de telle manière que la réalité de ces cas demeure sujette à caution. Le même type de remarque peut être effectué en ce qui concerne la diphenhydramine, qui est prescrite depuis les années 40 et qui aurait donné lieu à 2 cas de torsade de pointes (32). Aucun cas de torsade de pointes n'a été observé au sein d'un groupe de 126 patients victimes d'une intoxication volontaire avec ce produit (654). La marge de sécurité très importante qui existe avec la nifédipine est en contradiction apparente avec la publication de deux cas de torsade de pointes en 20 ans d'utilisation. Là aussi, l'hypothèse d'une ischémie myocardique a été avancée (655), compte tenu des propriétés particulières de cet inhibiteur calcique et de la nature de la marge de sécurité. Enfin, le caractère arythmogène de l'érythromycine n'a été observé qu'à l'occasion d'injections intraveineuses, circonstances où la concentration du produit au pic peut atteindre le micromolaire (656).

L'examen de courbes représentant l'effet (blocage de HERG et QT) en fonction de la concentration de la molécule montre qu'une amplitude de 1 log est nécessaire entre la valeur de la concentration donnant l'IC₅₀, et la valeur de celle donnant un effet sur la repolarisation ventriculaire (32). On devrait donc espérer qu'une marge de sécurité de 10 puisse être suffisante pour éviter les effets arythmogènes alors que les données disponibles sont plus en faveur d'une valeur de 30. Cette apparente discordance peut s'expliquer de plusieurs manières. Tout d'abord, la concentration plasmatique peut dépasser dans certaines circonstances la valeur de la TPTEL, le plus souvent du fait d'une intoxication (volontaire, ou non par modification du métabolisme), et plus rarement en rapport avec une variation individuelle du pourcentage de liaison protéique (657). Ensuite, un bon nombre de molécules impliquées sont lipophiles, de telle manière qu'il peut survenir une accumulation de la molécule soit en intracytoplasmique, soit au sein même de la membrane. La concentration de la molécule à proximité de la cellule peut alors excéder la concentration libre plasmatique (32). Enfin, le potentiel de blocage de HERG sur des cellules transfectées peut être moins important que celui de I_{Kr} observé *in vivo*, en présence de la sous-unité régulatrice et des autres facteurs biochimiques impliqués dans la régulation du courant.

Il semble, d'après les données de Redfern et coll. (32), que les relations dose-effet observées dans le cas des bloqueurs spécifiques de HERG soient superposables, alors qu'il existe un décalage dans le cas des molécules connues pour bloquer plusieurs types de courants, en particulier les courants sodique et calcique lent. Cette observation justifie parfaitement l'usage de tests *in vitro* sur cellules de mammifères, ou de tests *in vivo*, en complément des données de patch-clamp.

D'autres éléments peuvent rendre compte de l'inégalité entre des molécules malgré un même potentiel apparent de blocage de HERG. La nature de l'interaction avec le canal pourrait être un élément important. Il existe en effet plusieurs sites de blocage au sein de la protéine canalaire (658, 659), même lorsqu'il s'agit d'une même molécule (bépridil). De plus, la fixation de la molécule peut se faire à différentes étapes de son fonctionnement (ouvert, fermé, ou inactivé) (100, 658). L'allongement du potentiel d'action, ou de l'intervalle QT, s'il est nécessaire, ne semble pas suffisant pour déterminer le potentiel arythmogène d'une molécule. Hondeghem et coll. ont démontré sur des préparations de Langendorff de lapin, que l'association d'un allongement du DPA₉₀ et le raccourcissement du DPA₃₀, appelé triangulation du potentiel d'action, était associé à l'émergence de post-dépolarisations précoces, contrairement au cas où l'on n'observait qu'un allongement isolé du DPA₉₀ (634). On peut rapprocher de cette instabilité à l'échelon d'une cellule, l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation ventriculaire, telle qu'elle a été décrite par Antzelevitch et coll. avec la découverte des cellules M (111). Il a ainsi été démontré sur des préparations de mur ventriculaire canin, que la majorité des bloqueurs de HERG allongeaient de manière préférentielle le potentiel d'action des cellules M, compte tenu d'une diminution de la "réserve repolarisante" de ces cellules, entraînant de ce fait une augmentation de l'hétérogénéité transmurale de la repolarisation ventriculaire. Cette hétérogénéité favorise la survenue de mouvements de réentrée, donc de torsades de pointes, vraisemblablement déclenchées par des post-dépolarisations précoces qui naissent également de manière préférentielle dans la couche mid-myocardique du ventricule (124, 426, 639, 640). L'amiodarone est un contre-exemple intéressant. Cette molécule qui bloque HERG, mais dont le profil pharmacologique est complexe (effet de classe I, II, III, et IV, ainsi qu'un effet thyroïdien) allonge indéniablement l'intervalle QT (660, 661), mais diminue l'hétérogénéité de la repolarisation ventriculaire (129, 131). De fait, ce produit est rarement en cause dans la survenue de torsades de pointes, et les cas publiés impliquent le plus souvent un autre facteur de risque acquis, tout particulièrement une hypokaliémie (41, 662). La fréquence dépendance de l'action de la molécule est aussi un élément d'intérêt (661). L'augmentation de l'effet de blocage de HERG avec l'allongement du cycle cardiaque, appelé fréquence dépendance inverse, est certainement proarythmique, puisque l'effet délétère de la molécule va s'accroître dans une des circonstances qui favorise les torsades de pointes: la bradycardie. À l'inverse, on peut observer que le vérapamil ne présente pas cette propriété.

	Person-years	Cases (n = 18)	Incidence rate† (95% CI)	Relative risk (95% CI)
Non use	133 761	6	0.5 (0.2–1.0)	1 (reference group)
Current use	47 748	9	1.9 (1.0–3.6)	4.2 (1.5–11.8)
Acrivastine	334	0	0.0 (0.0–115)	0.0 (0.0–260)
Astemizole	3517	3	8.5 (2.8–26.5)	19.0 (4.8–76.0)
Cetirizine	5614	2	3.6 (0.9–14.2)	7.9 (1.6–39.3)
Loratadine	6876	1	1.5 (0.2–10.3)	3.2 (0.4–26.9)
Terfenadine	31 407	3	1.0 (0.3–3.0)	2.1 (0.5–8.5)
Past use	67 770	3	0.4 (0.2–1.3)	1.0 (0.3–3.9)

†Crude incidence rate per 10 000 person-years.

Figure 36. Variabilité du risque arythmogène au sein des antihistaminiques (18). Incidence et risque relatif de survenue de torsades de pointe en fonction de différents anti-histaminiques.

L'effet de classe a souvent été évoqué dans le domaine des bloqueurs de HERG, en particulier pour les antiH1. Il semble bien que cette notion soit maintenant battue en brèche par la multiplicité des classes médicamenteuses impliquées dans le syndrome du QT long acquis (promiscuité du canal HERG (628)), ainsi que par la grande hétérogénéité de "pouvoir bloquant" de HERG entre différentes molécules de chaque classe. Ainsi, au sein des antihistaminiques, l'astémizole, retiré du marché après 16 ans d'usage, est clairement arythmogène et possède une marge de sécurité particulièrement faible (x3). À l'inverse, la cétirizine (Zyrtec ®) est un bloqueur de HERG très faible, et comporte une marge de sécurité d'environ 2000 (663). Ce produit a été mis sur le marché en 1988 en France (35), et, à ce jour, aucune toxicité cardio-vasculaire n'a été rapportée (664). Signalons enfin que certaines compagnies pharmaceutiques ont sans aucun doute utilisé une approche opportuniste dans le développement de leurs produits en partant d'une "molécule-mère" et en développant, à partir de ce dénominateur commun, différentes molécules par adjonction de tel ou tel radical. Ce type de développement peut aboutir à une prolifération de molécules bloquant HERG dès lors que la "molécule-mère" présente une affinité pour le canal, mais ne correspond en rien à un effet de classe.

E. Prédisposition génétique

Les variations interindividuelles de l'effet d'un médicament peuvent être importantes, quel que soit le produit. Il existe deux étapes principales qui séparent l'administration d'un médicament et la manifestation de ses effets. La première étape est celle qui amène le médicament du lieu de son administration sur son site d'action moléculaire. L'étude de la relation entre la posologie et la concentration de la molécule s'appelle la pharmacocinétique. La seconde étape s'appelle la pharmacodynamique. Elle correspond au processus qui sépare l'interaction de la molécule avec sa cible et les manifestations de cette interaction, que cela soit à l'échelle moléculaire ou à celle du patient. Bien que les principes de pharmacocinétique et de pharmacodynamique soient reconnus depuis des décennies, il devient de plus en plus clair que ces étapes, très variables d'un individu à l'autre, sont régulées à l'échelle moléculaire, et donc dépendent de l'expression des gènes. La relation qui lie l'expression des gènes et la variabilité de la réponse à un médicament s'appelle la pharmacogénomique (665). Dans quelques cas, comme le syndrome du QT long congénital, une mutation entraîne une maladie et une modification de l'effet d'un médicament. Le plus souvent, les variations génétiques en cause sont appelées polymorphismes, et se différencient des mutations par une prévalence >1% dans la population, l'expression de polymorphisme rare se situant dans la sphère de la micro-sémantique...Le cas le plus fréquent est celui d'un polymorphisme simple qui correspond au changement d'un seul nucléotide ("Single Nucleotide Polymorphism", encore appelés SNPs). On estime à trois millions le nombre de polymorphismes dans le génome humain. Certains de ces polymorphismes sont situés dans une région codante pour un gène, et peuvent alors donner lieu, ou non, à une modification de la séquence d'acides aminés. La tendance actuelle est de considérer qu'un polymorphisme est physiologiquement "silencieux", jusqu'à ce qu'il soit soumis à une pression environnementale, par exemple l'administration d'un médicament, donnant alors lieu à une variabilité de la réponse individuelle. Les variations de l'ADN, mutations ou polymorphismes, peuvent donc modifier l'effet des médicaments par trois grands types de mécanisme: i) modifications de la pharmacocinétique, ii) modifications de la cible, iii) modifications du milieu dans lequel s'effectue l'interaction molécule-cible

La superfamille du cytochrome P450 (CYP) est la principale responsable de l'oxydation hépatique des molécules. Ses membres principaux sont les familles CYP3A (CYP3A4 et

CYP3A5), CYP2D6, CYP2C9, et CYP2C19, le métabolisme intestinal étant sous le contrôle de la famille CYP3A5 (665). Dans certains cas, le polymorphisme de certains membres de cette superfamille CYP peut modifier les données pharmacocinétiques, entraînant alors une augmentation de la concentration plasmatique de la molécule potentiellement arythmogène (666, 667). Ainsi, le cytochrome P450 2D6 participe au métabolisme de certaines molécules impliquées dans le syndrome du QT long acquis, comme la térodiline, et la thioridazine (668, 669), neuroleptiques utilisés dans la schizophrénie. Plusieurs polymorphismes ont été rapportés qui impliquent une diminution, voire une suppression de son activité, et 5 à 10% des Américains d'origine africaine et des caucasiens ne possèdent pas de cytochrome P450 2D6 fonctionnel. Il existe cependant d'autres protéines impliquées dans le transport des molécules et leur métabolisme qui pourraient également présenter des variantes génétiques susceptibles de modifier la concentration des médicaments et leurs effets sur l'organisme. Une banque de données est présentée sur le site <http://medicine.iupui.edu/flockhart/>. Cependant, le cas actuellement le plus démonstratif de l'implication du cytochrome P450 dans la survenue d'un syndrome du QT long acquis reste celui correspondant aux interactions entre deux substrats du CYP3A4. La terfénadine et le cisapride sont des bloqueurs de HERG (28, 670) et se caractérisent par une voie métabolique unique et extensive, celle du CYP3A4, aboutissant à la formation de métabolites inactifs sur HERG (par exemple, la fexofénadine). La co-administration de ces deux molécules, ou l'administration d'une de ces molécules avec un autre inhibiteurs du CYP3A4 comme un macrolide (érythromycine, clarithromycine) ou un antifongique (kétoconazole, itraconazole), entraîne une inhibition partielle de leurs métabolismes, et donc l'augmentation de leurs concentrations sériques, et donc une augmentation de la probabilité de voir survenir un allongement de l'intervalle QT et des torsades de pointes (27). La situation arythmogène est donc créée par l'association d'une molécule-mère ("parent compound") bloquant HERG et d'une voie métabolique exclusive pouvant être bloquée accidentellement. Aucun polymorphisme du gène codant pour le CYP3A4 n'a été retrouvé à ce jour.

L'existence de porteurs sains du syndrome du QT long congénital fait maintenant partie des données établies. Dès 1992, l'équipe de Keating avait publié l'existence d'un chevauchement entre la durée de l'intervalle QTc chez des sujets atteints du syndrome du QT long congénital, et les sujets témoins (559). Nous avons publié le cas d'une famille atteinte de LQT1 où la durée de l'intervalle QTc se normalisait après la puberté chez les mâles, et non chez les femelles, le transformant alors en "porteurs sains" (33). Néanmoins, les "porteurs sains" restent par définition porteurs de la mutation, et bien que l'intervalle QTc soit normalisé, on peut supposer qu'ils gardent une sensibilité accrue à l'absorption de médicaments bloqueurs de HERG. Ce raisonnement repose sur la notion de "diminution de la réserve de repolarisation" développée par Roden (99). L'idée est que la diminution des flux repolarisants, consécutif par exemple à une mutation sur KCNQ1, n'est pas suffisante pour modifier le déroulement de la repolarisation ventriculaire à l'état de base. La raison peut être l'existence d'un remodelage ionique permettant aux autres courants repolarisants de compenser la diminution, dans notre exemple, de I_{Ks} . Mais le potentiel de courant repolarisant reste diminué, de telle manière que l'adjonction subite d'un facteur supplémentaire diminuant encore le flux ionique repolarisant, comme un médicament bloqueur de HERG, fait passer la repolarisation ventriculaire du "normal compensé" au pathologique, c'est-à-dire au QT long avec son potentiel arythmogène. Cette théorie a été partiellement validée par la publication de forme familiale "frustrée" de QT long, où l'allongement de l'intervalle QT et les symptômes ne survenaient qu'après exposition à un médicament bloqueur de HERG (101). La recherche de mutations effectuée dans une population de patients ayant présenté une forme acquise de QT long associée à la survenue de torsade de pointes, a permis d'identifier une minorité d'entre eux (environ 10%) comme porteurs d'une forme mineure de syndrome de QT long. Ces mutations étaient présentes sur KCNQ1, HERG, KCNE1, KCNE2, et SCN5A (671, 672).

Abbott et Sesti (540, 541) ont été parmi les premiers à démontrer qu'un *polymorphisme du gène d'un canal ionique* pouvait être associé à une prédisposition particulière à développer des torsades de pointes "médicamenteuses". Ils ont identifié un polymorphisme (T8A et Q9E) du gène KCNE2, codant donc pour MIRP1, la sous-unité régulatrice de HERG, qui était présent dans 1,6% de la population, et qui était associé à la survenue de torsades de pointes induites par la quinidine ou du syndrome du QT long acquis. *In vitro*, ces polymorphismes augmentaient la sensibilité du canal aux bloqueurs de HERG. Plus récemment, Yang et coll. ont démontré que des polymorphismes génétiques dans les régions codant pour les gènes impliqués dans les formes congénitales du syndrome du QT long pouvaient être identifiés chez des sujets atteints de formes acquises de syndrome du QT long. Ces polymorphismes prédominent sur des gènes codant pour des sous-unités régulatrices de canaux ioniques cardiaques (KCNE1 et KCNE2) (671). Splawski et coll. ont fait encore progresser ce concept (673). Ils ont identifié, au sein d'une population d'africains et d'américains d'origine africaine, un polymorphisme hétérozygote comportant la substitution d'une sérine par une tyrosine (S1102Y) sur le gène SCN5A qui augmente le risque de survenue de trouble du rythme d'origine médicamenteuse. Le polymorphisme était présent dans 57% des 23 patients, et seulement 13% des sujets témoins.

Il semble donc que des variations génétiques sur les gènes impliqués dans la forme congénitale du syndrome du QT long participent à l'augmentation du risque de développer une forme "acquise" de ce syndrome (338, 674).. À l'inverse, des polymorphismes de gènes non impliqués directement dans le syndrome du QT long, pourraient participer à une variation du risque de développement de la forme acquise du syndrome. Ainsi, Petersen et coll. (675) ont identifié la variante I447V sur le gène KCR1 (potassium channel receptor 1) comme protectrice contre la survenue de la forme acquise du syndrome. En effet, cette variante était présente dans 1,1% des patients, mais 7% de la population témoin.

RESULTATS

Les articles correspondant à ce travail de thèse se regroupent selon trois thèmes principaux :

La recherche d'un substrat au syndrome du QT long acquis

L'effet des médicaments sur la repolarisation ventriculaire

Le dépistage in vivo des médicaments arythmogènes

I. LA RECHERCHE D'UN SUBSTRAT AU SYNDROME DU QT LONG ACQUIS

1. Article 1

Steady-state versus non-steady-state QT-RR relationships in 24-hour Holter recordings.

Lande G, Funck-Brentano C, Ghadanfar M, Escande D.

***Pacing Clin Electrophysiol.* 2000;23:293-302.**

La mise en évidence d'un allongement de l'intervalle QT est rendue complexe par la dépendance de ce paramètre avec le cycle cardiaque. La formule la plus ancienne, la plus simple, et la plus utilisée, est celle proposée par Bazett il y a plus de 80 ans. Tant cette formule, que les nombreuses autres publiées depuis, continuent, encore aujourd'hui, à alimenter le débat quant à l'exactitude de leur correction. Ces formules ont été constituées à partir de banques de données d'ECG standard, donc d'informations électriques recueillies au repos et pendant la période diurne.

Les progrès de l'informatique ont permis d'accéder à la mesure automatique du couple QT-RR à large échelle, en particulier à partir de banques de données Holter. Cette approche permet d'évaluer de manière individuelle la relation QT-RR, en tenant compte de l'environnement de fréquence et de la période d'activité, donc des différentes influences du système neurovégétatif. Peu d'informations sont disponibles quant à la nature de la relation QT-RR au cours d'enregistrements Holter ECG de 24 heures.

Le but de cette étude, effectuée chez de jeunes adultes sains, est donc de décrire la relation QT-RR en sélectionnant ou non les battements en fonction de la stabilité de leur environnement de fréquence cardiaque au sein de différentes périodes d'activité. Nous avons également cherché à déterminer quelles conditions permettaient une linéarisation de la relation QT-RR, linéarisation qui facilite la comparaison des données entre elles.

Nous avons démontré que la relation QT-RR était curvilinéaire, quelle que soit la période d'activité étudiée, dès lors que l'environnement de fréquence n'était pas pris en compte. La sélection de battements à l'état stable, c'est à dire précédés d'un environnement de fréquence stable pendant une minute, modifie cette relation. En effet, la relation QT-RR "à l'état stable" se linéarise à condition que la période d'activité étudiée soit restreinte au jour ou à la nuit. La relation QT-RR regroupant les données sur 24 heures, à l'état stable ou non, reste curvilinéaire. Ces résultats ont été démontrés tant à l'échelle individuelle, qu'à l'échelle du groupe.

En dehors du but principal de l'étude, d'autres résultats ont été rapportés:

1. Il existe une bonne corrélation (méthode de Bland et Altman) entre les mesures manuelles effectuées sur ECG standard et les mesures automatiques effectuées à partir des enregistrements Holter. Cette comparaison a pu être réalisée sur une gamme assez large de valeurs de QT, car chacun des sujets de cette étude a également bénéficié de deux enregistrements Holter réalisés après administration orale ou intraveineuse de dofétilide (bloqueur spécifique de I_{Kr}), dans le cadre d'une étude pharmacologique de classe I. Les ECG standard enregistrés lors de ces deux enregistrements ont permis cette comparaison.
2. La fréquence dépendance de l'intervalle QT, évaluée à l'état stable, est plus marquée le jour que la nuit.

Commentaire.

L'enregistrement Holter ECG et la mesure de la fréquence dépendance de l'intervalle QT font partie des outils disponibles pour étudier de manière dynamique la repolarisation ventriculaire. Récemment , Malik et coll. (274) ont rapporté une variabilité interindividuelle

importante de la relation QT-RR, plaidant donc pour une mesure individuelle de cette relation, et par conséquent pour une individualisation des formules de correction de l'intervalle QT, pour mesurer avec exactitude les variations de l'intervalle QT. Cependant, la variabilité dans le temps de la fréquence dépendance de l'intervalle QT est appréciée de manière variable selon les équipes, très faible pour les uns (676), plus importante pour les autres (677, 678), laissant donc le débat ouvert quant à l'intérêt de la technique.

Steady-State versus Non-Steady-State QT-RR Relationships in 24-hour Holter Recordings

GILLES LANDE,* CHRISTIAN FUNCK-BRENTANO,§ MATHIEU GHADANFAR,† and DENIS ESCANDE*

*Laboratoire des Explorations Fonctionnelles, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, § Service de Pharmacologie Clinique, Hôpital Saint-Antoine, Paris, and †Pfizer Clinical Research Group, Orsay, France

LANDE, G., ET AL.: Steady-State versus Non-Steady-State QT-RR Relationships in 24-Hour Holter Recordings. The aim of the present study was to investigate the QT-RR interval relationship in ambulatory ECG recordings with special emphasis on the physiological circumstances under which the QT-RR intervals follow a linear relation. Continuous ECG recordings make it possible to automatically measure QT duration in individual subjects under various physiological circumstances. However, identification of QT prolongation in Holter recordings is hampered by the rate dependence of QT duration. Comparison of QT duration and QT interval rate dependence between different individuals implies that the nature of the QT-RR relationship is defined in ambulatory ECG. Holter recordings were performed in healthy volunteers at baseline and after administration of dofetilide, a Class III antiarrhythmic drug. After dofetilide, beat-to-beat automated QT measurements on Holter tapes were compared with manually measured QT intervals on standard ECGs matched by time. The QT-RR relationship was analyzed at baseline in individual and group data during three different periods: 24-hour, daytime, and nighttime. Data were collected under steady-state or non-steady-state conditions of cycle length and fitted with various correction formulae. Our study demonstrated an excellent agreement between manually and automated measurements. The classic Bazett correction formula did not fit the QT-RR data points in individual or group data. When heart beats were selected for a steady rhythm during the preceding minute, QT-RR intervals fit a linear relationship during the day and night periods, but not during the 24-hour period in both individual and group data. In contrast, in the absence of beat selection, data fit a more complex curvilinear relationship irrespective of the period. Our study provides the basis for comparison of QT interval durations and QT-RR relationships between individuals and between groups of subjects. (*PACE* 2000; 23:293-302)

QT interval, QT-RR plots, ambulatory ECG

Introduction

A renewed interest in QT interval measurement has resulted from the demonstrated link between prolongation in ventricular repolarization and the increased risk of sudden cardiac death under various clinical situations.¹⁻³ However, identification of QT interval prolongation in common clinical practice is hampered by the well-known rate dependence of QT interval duration. A solution to this problem was proposed more than 75 years ago by Bazett with the square root formula for QT correction.⁴ However, the adequacy of the Bazett formula has been increasingly questioned, and many other corrections have been proposed, including the cubic-root formula,⁵ the monoexpo-

nential formula,⁶ and the linear formula.⁷ These correction formulae were based on 12-lead electrocardiographic measurements collected during the daytime in a population of subjects maintained at rest.

Recent interest has shifted from static measurement of QT interval to dynamic analysis of QT duration on ambulatory electrocardiogram (ECG) recordings.⁸⁻¹⁴ This approach allows the QT-RR relationship to be assessed individually. In addition, ambulatory recordings yield to both steady-state and non-steady-state cardiac cycles, during different periods of physical activity and rest under various circadian influences. Only limited information is available regarding the nature of the QT-RR relationship during continuous ECG recordings. The present study investigated this relationship using a simple algorithm for selecting QT-RR data points. Our investigation also attempted to define the physiological circumstances under which QT-RR data points fit a linear relation because comparison between individuals or

Received December 22, 1998, revised May 24, 1999, accepted July 15, 1999.

Address for reprints: Dr. Denis Escande, Département de Physiologie, INSERM C/JF 96-01, 1 rue Gaston Veil, B.P. 53508, 44093 Nantes Cedex 1, France. Fax 33 2 40412950; e-mail: denis.escande@sante.univ-nantes.fr

between groups is easier when a linear rather than a curvilinear relation is found.

We demonstrated that QT-RR values fit different relationships when analysis is performed under non-steady-state versus steady-state conditions of cycle length in the preceding minute. We also show that QT-RR intervals selected for steady-state conditions fitted a linear relationship during day and night periods, but not during the 24-hour period in both individual and group data. Our findings provide a new basis for the investigation of QT interval dynamics on ambulatory ECG.

Methods

Study Population and Design

The present study was an ancillary study of recordings performed during the course of a phase I study with dofetilide,¹⁵ a novel Class III antiarrhythmic drug.¹⁶ Ten healthy male volunteers (mean age $\pm$ SD, 24 ± 3 years; range 18 to 27 years) were recruited at the Clinical Pharmacology Unit of Saint-Antoine University Hospital to participate in this open study. All subjects were normal on the basis of clinical examination, 12-lead surface ECG, standard laboratory tests, and 24-hour dynamic ECG recording. All subjects gave written informed consent, and the protocol was approved by the local Committee for the Protection of Human Subjects in Biomedical Research. The study was based on three 24-hour dynamic ECG recordings performed in each healthy volunteer. The initial recording was obtained 2 days before dofetilide administration, i.e., during the ambulatory recruitment phase of the protocol. The two other recordings were obtained during hospitalization at the Clinical Pharmacology Unit after administration of a single dose of the drug (0.5 mg; at 9 A.M. denoted as T0), either intravenously or orally, in the same group of volunteers. Intravenous and oral drug administrations were randomly allocated as the first study day and separated by a drug-free interval of 1 week. Twelve-lead surface ECG recordings were performed before (T0) and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, and 24 hours after administration of dofetilide.¹⁵ Subjects were asked to lay on their bed. However, they were allowed to stand up for their meals and to use the lavatory at fixed times (12:30 A.M. 6:30 P.M. and 9:30 P.M.). They were awakened at 3 am for ECG recording.

Manual QT Interval Measurements on 12-Lead Electrocardiograms

Twelve-lead surface ECGs were recorded at a paper speed of 50 mm/s (amplitude, 1 mV = 20 mm) with the use of a Case 15 recorder (Marquette Electronics Inc. [MEI], Milwaukee, WI, USA). The

QT interval duration was determined from the onset of the QRST complex to the end of the T wave. The end of the T wave was defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal down slope of the T wave.¹⁷ The mean of five consecutive QT intervals was taken in lead V₂.

Automatic QT Interval Measurements on Holter Recordings

Analog dynamic ECG tracings were obtained using 3 bipolar thoracic leads in a pseudo orthogonal configuration (X, Y, Z), with X, Y, and Z leads representing a modified V₂, a modified DI, and a modified VF, respectively. Continuous ECGs were recorded by means of amplitude-modulated recorders (MEI, type 8500), and then digitized at a sampling rate of 128 Hz, with a resolution of 10 bits (Pathfinder 600, Reynolds Medical). The system allowed independent beat-to-beat measurements of QT and RR intervals on each lead. Exclusion criteria include the following: (a) abnormal shape; (b) beats with RR < 66% or > 180% of prevailing RR cycle; (c) beats with an RR cycle of > 2.5 s; (d) beats with a heart rate < 30 beats/min or > 160 beats/min; (e) the preceding and the following beats, around any aberrant, inhibit, or rate excluded beats. After detection and timing of each QRS wave and automatic exclusion of ventricular and supraventricular ectopic beats, the computer established time windows relative to the QRS in which a refined search was made for Q and T waves. The T-wave window was used to exclude false readings from other parts of the ECG waveform such as the QRS wave, some U waves, and the subsequent P wave. The T window was automatically adjusted to compensate for rate changes. Q onset was determined when the magnitude of the slope of the ECG waveform first exceeded a present fraction of the maximum found in the QRS wave. Apex of T was determined as the zero slope turnover point between the onset and decay limbs of the T wave, and the end of T as the point when the final slope fell below a present fraction of the maximum T slope. Continuous checks were made for physiologically unlikely changes in the measurements and the presence of (muscle) noise sufficient to degrade the analysis. Such artefacts were auto-rejected, and analysis was suspended until acceptable conditions returned. On screen, markers of the analyzer's estimated Q, Apex T, and End T were continuously displayed to permit validation by the operator (Fig. 1). All recordings were entirely overread by a trained observer.

Beat-to-beat measurements, obtained from the Pathfinder 600, allowed analysis of the relationship between QT and RR intervals, denoted as the rate dependence of the QT interval. This relation-

QT-RR RELATIONSHIPS IN HOLTER RECORDINGS

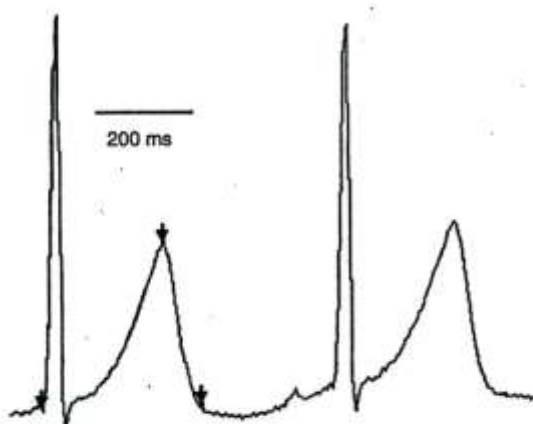


Figure 1. Onscreen validation of the estimated Q, Apex T, and End T (arrows). Pairs of QRST complexes are displayed at a chosen speed.

ship was assessed by means of a customized software program run on a PC pentium, developed by Jean Calamel in the Physiology Department, Faculty of Medicine, Nantes, France. The QT-RR relationship was evaluated during three distinct time periods, defined according to time and mean hourly heart rate: a 24-hour period, a 4-hour contiguous period during daytime with fastest heart rate, and a 4-hour contiguous period during nighttime with slowest heart rate. QT-RR data were analyzed individually and as a mean, separately for X, Y, and Z leads, and then retrospectively compared among day, night, and 24-hour periods. Individual data represented QT intervals plotted against RR measurements averaged by 7.8-ms RR interval steps. Group data were obtained for each period from all individual QT interval values by 7.8-ms RR interval steps. The first method used to assess the QT-RR relationship consisted of a plot of each QT interval duration against the preceding RR interval for each beat. This method was denoted as non-steady-state. We also analyzed the QT-RR relationship under steady-state conditions. The basic principle of the method has been proposed by others.¹⁸ Beat selection was based on the stability of the cycle length during the preceding minute (most of the adaptation of QT to a change in cardiac cycle is achieved within 1 minute).¹⁹ A beat was considered to match stability criteria if the preceding RR interval of the target complex fell within ± 15 ms of the mean RR interval of the preceding minute and the percent of analyzed beats exceeded 80%.

QT-RR plots were fitted by the least-square multiple regression analysis using Sigma plot, software. Data were fitted following the linear (F1)

and monoexponential equation (F2) as described by Sarma⁶:

$$QT = a1 \text{ RR} + b1 \quad (F1)$$

$$QT = a2 - b2 \text{ Exp}(-k2 \text{ RR}) \quad (F2)$$

where a, b, and k are regression parameters. The relative accuracy of fit to data was assessed from the mean square residual (MSR) values using the following equation:

$$MSR = \text{RSS}/(N - P)$$

where RSS is the residual sum of squares, N is the number of observations, and P is the number of regression parameters used in the formula, i.e., two for linear and three for monoexponential formulae, respectively. The equation with the lowest MSR was considered the best equation. The residual sums of squares were also transformed to the Akaike Information Criterion (AIC)²⁰ to account for the differences in the number of parameters in the two formulae:

$$\text{AIC} = N \ln(\text{RSS}) + 2P$$

where $\ln$ is the natural logarithm. The equation with the minimum AIC is considered as the optimal representation of a given plot of data.

Statistics

The RR and QT interval durations as well as RSS, MSR, and AIC values were expressed as mean $\pm$ standard deviation and compared using the Wilcoxon-paired test or Student's paired *t*-test, depending on the number of available data ($n < 30$ or > 30 , respectively). A *P* value < 0.05 was considered significant. Regression slopes were compared using the Altman and Gardner method.²¹ This method compares two groups of data using a 95% confidence interval for the population value of the difference between the slope of regression lines.

To validate the automatic QT measurement method, as used here, we compared QT data obtained from Holter tapes with QT values matched by time and manually measured on a 12-lead ECG recorded at various times following dofetilide administration. Comparisons of data were performed separately within two groups, corresponding to intravenous or oral dofetilide administration protocols. Comparisons were conducted according to the Bland and Altman method.²² This method uses a plot of the arithmetic difference in measurement between methods versus the mean value of the two measurements. Calculating the 95% confidence intervals of the average difference between methods shows the variation in measurement between methods.

QT durations from Holter tapes were aver-

aged every 3 minutes. According to Cowan et al.,²³ we used V₂ lead on the standard ECG, which has been shown to provide the closest approximation of the maximum QT interval. Considering the lack of such information for continuous ECG recording, we compared the mean 3-minute measurements of the QT interval between X, Y, and Z leads in baseline recordings and after dofetilide administration. In all the three groups, we found a maximum QT interval duration in Y lead and a minimum QT interval duration in X lead, with a small, albeit significant, difference among the three leads. The mean difference between Y and X leads was 11 ± 17 ms. Data were thus compared between the V₂ lead on a standard ECG and the Y lead on continuous ECG.

Results

QT Interval Duration on Ambulatory ECG

A mean of $86,464 \pm 17,442$ (range 56,492 to 110,534) beats were analyzed per 24-hour recording, corresponding to $85 \pm 8\%$ (range 73% to 95%) of the collected beats. An average of 53 ± 44 (range 4 to 52) minutes of artefacts per 24-hour recording were rejected mainly for noise recognition. Supraventricular or ventricular ectopic beats were scarce in this group of healthy volunteers (mean $\pm$ SD, 3 ± 2 beats/24 hours and 5 ± 2 beats/24 hours, respectively). In most of the recordings, the T wave was positive and monophasic. Therefore, we did not face misinterpretation of the QT interval whether related to flattened-biphasic T waves or to significant U waves. Figure 2 shows group values and standard deviations of QT and RR intervals during baseline ambulatory recordings in the group of healthy volunteers. As expected, there was a clear circadian variation of the RR and QT interval values. Mean QT and RR interval durations were longer during nighttime (388 ± 19 ms and $1,040 \pm 131$ ms, respectively) than during daytime (320 ± 20 ms and 659 ± 84 ms, respectively; $P < 0.01$).

Figure 3B shows the course of group QT and RR intervals after a single intravenous infusion of dofetilide. Dofetilide induced a rapid and transient increase in QT interval that peaked 1 hour postdose. The trend of QT interval duration measured manually on standard ECG along the 24-hour study period paralleled that obtained by automatic measurements made from Holter recordings. On 12-lead ECG measurements, mean QT interval lengthening peaked at 99 ± 14 ms, whereas computerized QT measurements on ambulatory ECG yielded a maximum QT prolongation of 84 ± 24 ms ($P < 0.01$). Continuous recording measurements identified brief and transient shortenings of both RR and QT intervals at approximately 12:30 A.M., 6:30 P.M., and 9:30 P.M.

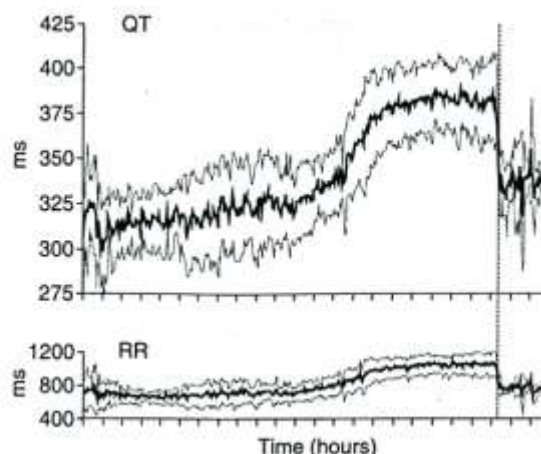


Figure 2. From top to bottom: circadian variation of QT and RR intervals. Data are group data averaged every 3 minutes during 24-hour recordings at baseline. Because there could be some variability in the time that subjects went to sleep and awakened, data were normalized to the hour of awakening (dashed line), according to the sudden cycle length shortening observed at awakening. The hairlines represent $\pm$ the standard deviation of averaged data.

According to the protocol, these events corresponded to precise times at which the volunteers were allowed to stand up. The event observed at 3:00 A.M. was related to the awakening produced by recording of the standard ECG. The averaged difference between standard ECG and automatic QT measurements was small (2.5 ± 7 ms; $P < 0.01$) and the 95% confidence interval between methods ranged from -12 ms to $+16$ ms (Fig. 3A). The regression line slope between manual and computerized QT measurement was 0.89.

Figure 4B shows the course of QT and RR intervals following a single oral dose of dofetilide. The increase of QT interval was delayed, as compared to the intravenous protocol, with QT prolongation peaking 3 to 4 hours after intake. Maximum QT prolongation was 73 ± 21 ms and 58 ± 17 ms ($P < 0.01$) for manual measurements and 24-hour Holter recordings, respectively. As with intravenous data, brief and transient shortening in QT and RR intervals occurred according to the same schedule. The mean difference between the two techniques was small (2.5 ± 9 ms), and the 95% confidence interval between methods ranged from -16 ms to $+21$ ms (Fig. 4A). The regression line slope between manual and computerized QT measurement was 0.84.

From these data, we concluded that computer-assisted QT measurements agreed well with manual measurements on standard ECG, although

QT-RR RELATIONSHIPS IN HOLTER RECORDINGS

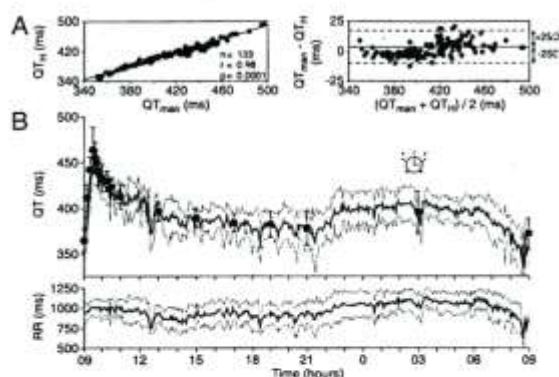


Figure 3. Continuous QT and RR plots after intravenous infusion of dofetilide. (A) Comparison of the QT interval measured manually on standard ECG recordings (QT_{man}) and measured automatically on Holter recordings (QT_H) after intravenous administration of dofetilide. (Left) Correlation between the two methods. Solid line indicates linear regression. (Right) The ordinate shows the difference between manual and automatic QT intervals measurements ($QT_{man} - QT_H$) as a function of the mean value of QT_{man} and QT_H ($(QT_{man} + QT_H)/2$). The solid line represents the mean value of the difference between QT_{man} and QT_H , and the dashed lines indicate the 95% confidence interval (mean $\pm$ 2 SD). (B) QT and RR data. Automatic measurements are presented as a mean (solid line) and standard deviation (hairline). Manual measurements on standard ECG recordings are also presented as a mean (filled data points) and standard deviation. Symbol indicates time of awakening at about 3:00 A.M. when a 12-lead ECG was recorded.

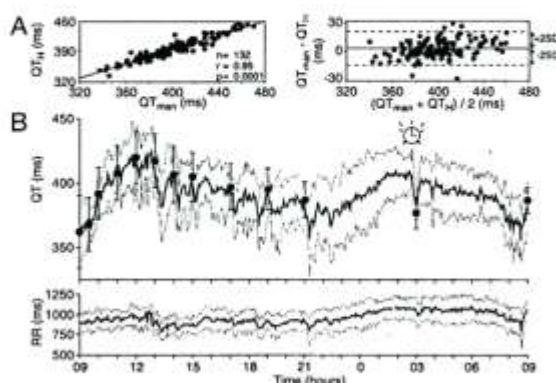


Figure 4. Continuous QT and RR plots after oral administration of dofetilide. Same plots and abbreviations as in Figure 3.

automatic QT measurements after intravenous and oral administration slightly underestimated the dofetilide-induced QT prolongation compared to the manual method. However, the maximum 95% confidence interval between methods (both intravenous and oral data) ranged from -16 ms to $+21$ ms, which represents less than half a millimeter on a standard ECG at the speed of 25 mm/s. We considered this overall small variability between methods as clinically not relevant.

QT-RR Relationship in Individuals and Group Data

Baseline QT-RR data were plotted for each individual during 24-hour, day, and night periods, under non-steady-state and steady-state conditions (individual data). In addition, individual QT-RR data points, under steady-state or non-steady-state conditions, were averaged and the resultant QT-RR relationship for the group of volunteers plotted for the three periods of time (group data). The Bazett correction ($QT = a^2 \sqrt{RR}$, where "a" is a regression parameter)⁴ did not fit QT-RR data under non-steady-state or steady-state conditions in any time period (Fig. 5, see also Fig. 7).

Under non-steady-state conditions, QT-RR plots did not fit a linear relationship, irrespective of the time period (daytime, nighttime, or 24-hour) in individual and group data, and in any lead. RSS, MSR, and AIC values that evaluate the relative accuracy of fit to QT-RR data in lead Y are summarized in Table I. Table I shows the mean RSS, MSR, and AIC values obtained from individual and group QT-RR plots. Under non-steady-state conditions, MSR and AIC always showed smaller values ($P < 0.05$) in the monoexponential compared to the linear model (Table I). For day and night periods (Fig. 5B and C), residuals plotted against RR intervals were randomly distributed around the zero line with the monoexponential fit, but not with the linear model. In contrast, for the 24-hour period, neither the linear nor the monoexponential models correctly fitted QT-RR data. An example for a non-steady-state individual QT-RR plot (subject #8) is illustrated in Figure 6. For the global 24-hour period, the QT-RR plot obviously stacked two distinct QT-RR relationships related to day and night periods.

Beat selection according to a steady cycle length during the preceding minute was conducted on the same recordings. This procedure selected $26 \pm 8\%$ of the beats during the 24-hour period, $29 \pm 7\%$ of the beats during daytime, and $25 \pm 8\%$ of the beats during nighttime. Beats selected according to the steady-state model exhibited a longer QT interval than nonselected beats (non-steady-state model) during the day period, but not during the night period. At a fixed $RR = 1000$ ms,

LANDE, ET AL.

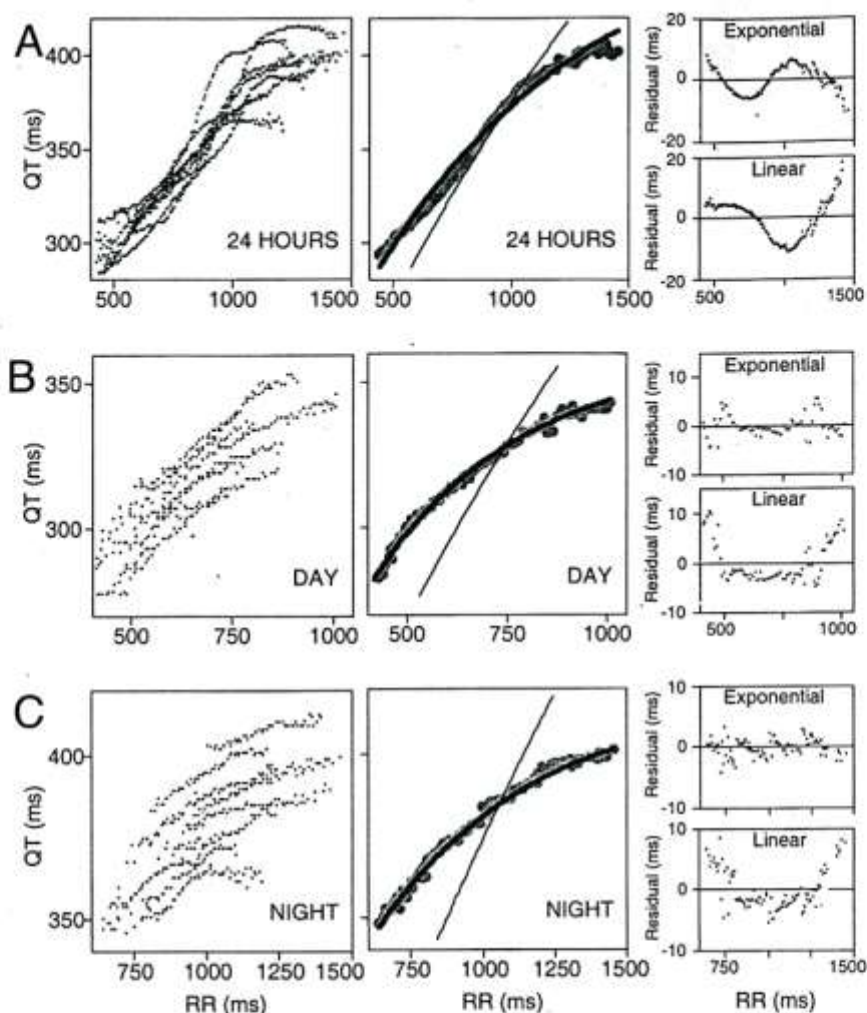


Figure 5. Non-steady-state group and individual QT-RR plots during 24-hour (A), day (B), and night (C) periods in Y lead at baseline. (Left) Individual QT-RR data plots are represented by dots. (Center) Group QT-RR data plots are depicted by large gray data points. The solid line in bold represents the best fit applied to group data (whether linear or exponential), whereas the other shaded solid line represents the regression curve obtained with Bazett's formula. (Right) The residuals corresponding to the best fit to group data are plotted against RR intervals.

steady-state QT1000 in the group data was 374 ± 16 ms, and non-steady-state QT1000 was 358 ± 12 ms ($P < 0.01$) during the day period (QT1000 = 388 ± 14 ms versus 387 ± 17 ms during the night period). In the steady-state model, QT-RR group data fitted a linear relationship when day and night periods were considered (Fig. 7). During these periods, MSR and AIC values were similar between linear and monoexponential fits in individual and group plots (Table I) and in any lead. Residuals plotted against RR intervals were ran-

domly distributed around the zero line in both the linear and the monoexponential model (Fig. 7). During the 24-hour period, QT-RR relationship was slightly better fitted to a monoexponential relationship (Fig. 7A) in individual and group data (Table I).

Overall, our results pointed out that QT-RR data fitted a linear relationship in the steady-state model when day and night periods are considered, whereas the non-steady-state model better agreed with a nonlinear model.

QT-RR RELATIONSHIPS IN HOLTER RECORDINGS

Table I.
Evaluation of Linear and Monoexponential Fits in Individual and Group QT-RR Data

Parameter Fit		Individual QT-RR Data						Group QT-RR Data					
		RRS		MSR		AIC		RRS		MSR		AIC	
		E	L	E	L	E	L	E	L	E	L	E	L
24 hours	non st-st	2146	5531	24.3	55.6	747	825	1896	2958	15.8	24.4	934	987
	st-st	1062 NS	1710	15.1	23.4	458	480	663 NS	1468	6.6	14.6	668	748
Day	non st-st	96	174	2.5	4.4	195	219	457	534	6.8	7.8	434	444
	st-st	41 NS	43	2.2 NS	2.1	89 NS	91	519 NS	644	11.5 NS	14.0	306 NS	314
Night	non st-st	61	95	1.3	2.1	208	225	983	1688	9.9	16.8	708	762
	st-st	37 NS	40	1.9 NS	2.0	81 NS	81	884 NS	830	17.6 NS	16.2	366 NS	360

Residual sum of the squares (RSS in ms); mean square residuals (MSR in ms²) and Akaike information criterion (AIC) are presented for the Y lead in individual and group QT-RR data during 24-hour, day, and night periods, respectively. NS denotes the absence of a significant difference ($P > 0.05$) between the linear (L) and monoexponential (E) models. The absence of a significant difference between values points out a better fit of the linear model on QT-RR data. non st-st = non-steady-state conditions; st-st = steady-state conditions.

Circadian Variations of QT-RR Relationship

The circadian variations of QT rate-dependence, assessed using the steady-state model, fitted a linear relationship. In this model, the rate-dependence of the QT interval is defined by the slope of the QT-RR relationship. The QT/RR slope was steeper during the day than during the night period (0.161 ± 0.007 vs 0.110 ± 0.006 , respectively; $P < 0.005$; lead Y). Similar results were ob-

tained on X and Z leads. Figure 8 shows the circadian trend of the group QT/RR slope analyzed by steps of 2 hours along the 24-hour duration of the recordings. The rate-dependence of the QT interval was less during night than during day periods (the slope was smaller during nighttime than during daytime [Fig. 8A]). The QT/RR slope values were also roughly inversely proportional to the cycle length (Fig. 8C). However, plotting the QT/RR slope values against the cycle length showed a large scatter of the data points around the regression line.

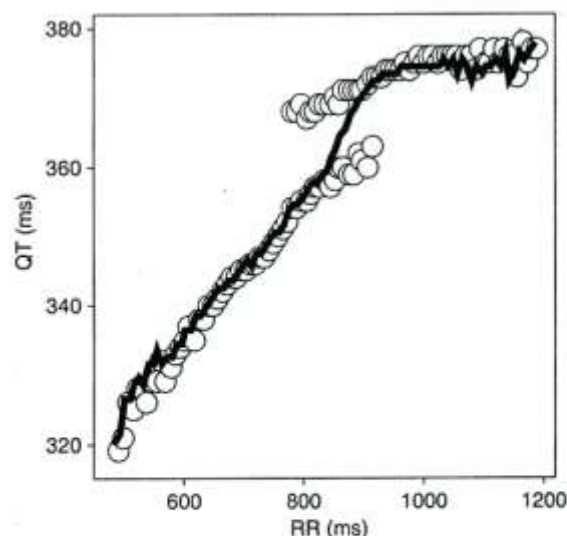


Figure 6. Non-steady-state QT-RR plot in a representative patient at baseline. Circles represent plots of QT-RR intervals during the day (RR range 500 to 950 ms) and night (RR range 800 to 1200 ms) periods. The solid line represents the QT-RR relationship during the 24-hour period.

Discussion

Recent advances in computer engineering allow fast quantification of beat-to-beat QT intervals on 24-hour ambulatory ECG recordings. In contrast to the standard, ECG, ambulatory recordings provide QT measurements within a wide range of cycle lengths and physiological conditions. The question thus arises as to how the QT measurements correspond to the standard ECG and continuous ECG recordings and whether correction formulae developed from standard ECG recordings also apply to dynamic QT measurements. In the present study, we showed that individual and group QT-RR relationships are best described with a linear fit when values are collected at steady-state cycle length during daytime or nighttime. At steady-state cycle length and during a 24-hour period, the QT-RR relationship was close to linearity. Apart from steady-state rhythm, individual and group QT-RR data follow a more complex nonlinear relationship, irrespective of the time period. In addition, our study shows an excellent agreement between manual QT intervals on standard ECG and automatic QT intervals on continuous ECG recordings. Christiansen et al.²⁴ found a lack of agreement between QT measure-

LANDE, ET AL.

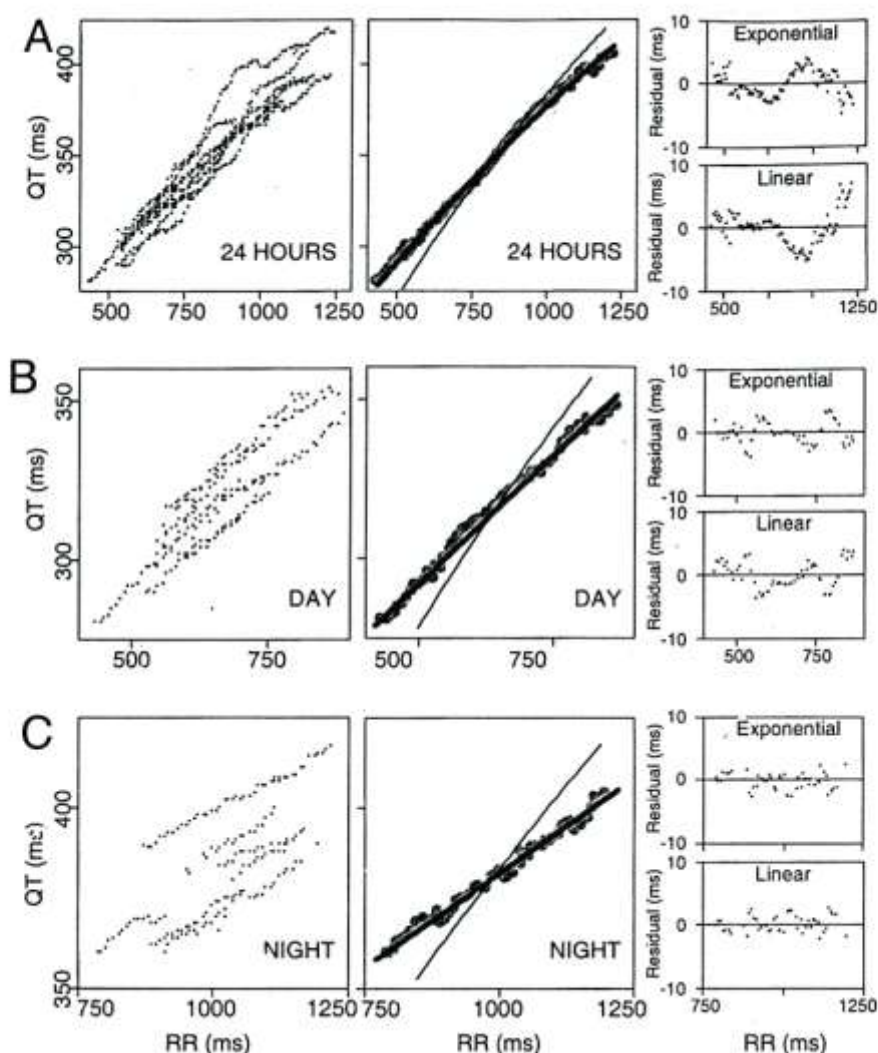


Figure 7. Steady-state group and individual QT-RR plots during 24-hour (A), day (B), and night (C) periods in Y lead at baseline. Plots and abbreviations as in Figure 5.

ment performed manually on both standard ECG and dynamic ECG recordings. QT comparisons were performed by two observers in two different leads, V_1 and V_5 . Continuous ECG recordings were found to underestimate the standard ECG in lead V_1 , whereas an overestimate was found in lead V_5 . However, the interobserver variability in this study was large. In the present study, QT intervals measured automatically were compared with QT intervals measured manually from a standard ECG matched by time. In addition, a comparison was made between the longest QT interval on a standard ECG (lead V_2)²³ and the longest QT interval on ambulatory ECG recordings (lead Y).

Which correction formula should be used has

been a matter of debate for decades.²⁵ Most of the studies have dealt with large groups of individuals where a single value per subject was obtained from a standard ECG performed at rest during daytime. Both curvilinear and linear relationships have been proposed to fit QT-RR data. Most of these relations resulted from the approximate fit of an algebraic function to a set of data with a wide scatter. Bazett's square root,⁴ Fridericia's cubic root,⁵ Ashman's logarithmic,²⁶ Schlamovitz's,²⁷ Adams's,²⁸ and Simonson's²⁹ linear relations were successively advocated as to best correct the QT interval in normal subjects. Puddu et al.³⁰ compared 10 different QT formulae in a cohort of middle-age men and found that the QT versus RR relationship better fitted a

QT-RR RELATIONSHIPS IN HOLTER RECORDINGS

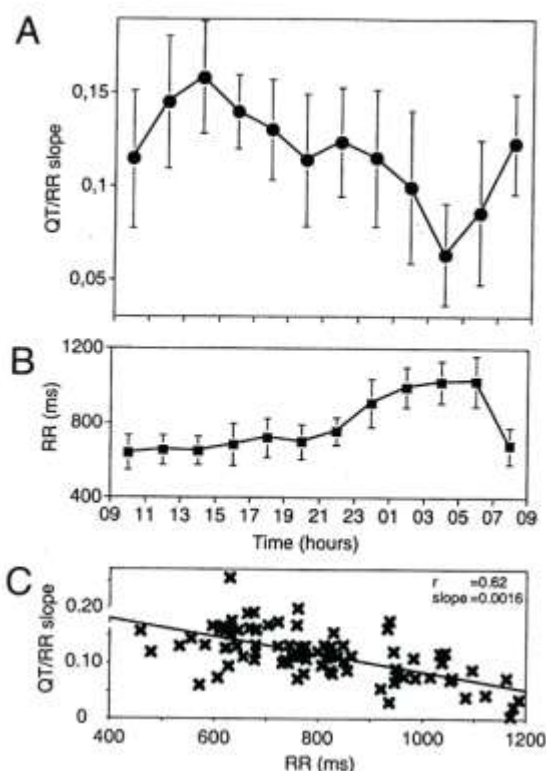


Figure 8. Circadian variations of QT/RR slope in the steady-state model. Mean and standard deviation of the QT/RR slopes (A) and corresponding RR intervals (B) are shown for the 24 hour period in 2-hour steps. (C) Linear regression of the relation between QT/RR slopes and RR intervals.

curvilinear model than a linear model. Using Framingham Heart Study subjects, Sagie et al.⁷ developed a linear regression equation to fit QT-RR data. The authors claimed that the linear formula equally fitted the QT-RR data compared to most of the regression models used by Puddu. More recently, Karjalainen et al.³¹ proposed that the QT-RR relationship was determined by three linear regressions, depending on the range of the cardiac cycle. However, any formula that would fit QT versus RR data in a population does not necessarily describe the QT-RR relationship in a given individual submitted to continuous variations related to exercise, stress, or rest. In our own study, QT-RR data followed a complex nonlinear relationship when beats are not selected for steady state, particularly when the day period is not discriminated from the night period. Similarly, the QT-RR relationship during exercise tests fits an exponential relationship.^{6,32,33} Susmano et al.³⁴ analyzed the QT-RR re-

lationship at various steady-state cardiac cycles obtained with invasive stimulation in patients with complete atrioventricular block. In agreement with our own finding, with beats selected for a stable cycle length during the preceding minute, data collected by Susmano et al. were fitted to a linear relationship. Finally, Franz et al.³⁵ investigated the effects of different cycle lengths on monophasic action-potential duration (MAP) in 17 patients. At steady state, MAP durations correlated linearly with cycle length. When MAP was plotted against a non-steady-state cycle length, the relationship was altered, and yielded a curvilinear shape.

To our knowledge, only one previous study extensively analyzed the nature of the QT-RR relationship in continuous ECG recordings.³⁶ In individual data, MSR values did not discriminate linear and different curvilinear formulae, although AIC values ranked as best the monoexponential model. Similarly, the cubic-root formula was ranked as the best formula in pooled data. The authors concluded that any formula that invokes regression parameters unique to each individual provides satisfactory QT correction. However, the major difference with our own study is that templates were generated representing the averaged QRST for 5-minutes segments (thus including steady-state and non-steady-state complexes), whereas our study was conducted on a beat-to-beat basis. Beat selection, according to cycle length stability during the preceding minute was previously used by Neyroud et al.¹² to compare ventricular repolarization dynamics between long QT syndrome patients and healthy volunteers.

Computerized techniques permit fast beat-to-beat analysis of QT interval in continuous ECG recordings. The software that we used in the present study measured QT duration in the three leads for a 24-hour recording period within less than 10 minutes. The selection method for steady-state cycle length that we propose is simple and provides QT-RR data that follows a linear relationship in a given individual. Statistical comparison of QT-RR data between individuals, or between different periods within the same subject, is made much easier when the relationship is linear.²¹ Besides, analysis of QT interval rate-dependence becomes more accessible when a single parameter (i.e., the slope of the QT-RR relationship) accounts for QT adaptation to various cycle lengths. Our next goal will be to further validate this method in individual patients during various disease states known to affect repolarization, such as the long QT syndrome.

Acknowledgment: We thank Jean Calamel for expert assistance with software development.

References

1. Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with the prolongation of the QT interval, and sudden death. *Am Heart J* 1957; 54:59-60.
2. Algra A, Tijssen JG, Roelandt JR, et al. QTc prolongation measured by standard 12-lead electrocardiography is an independent risk factor for sudden death due to cardiac arrest. *Circulation* 1991; 83:1888-1894.
3. Schouten EG, Dekker JM, Meppelink P, et al. QT interval prolongation predicts cardiovascular mortality in an apparently healthy population. *Circulation* 1991; 84:1516-1523.
4. Bazett HC. An analysis of the time-relations of electrocardiogram. *Heart* 1920; 7:353-370.
5. Fridericia LS. Die Systolendauer in Elektrokardiogramm bei normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand* 1920; 53:469-486.
6. Sarma JSM, Sarma RJ, Bilitch M, et al. An exponential formula for heart rate dependence of QT interval during exercise and cardiac pacing in humans: Reevaluation of Bazett's formula. *Am J Cardiol* 1984; 54:103-108.
7. Sagie A, Larson MG, Goldberg RJ, et al. An improved method for adjusting the QT interval for heart rate (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 1992; 70:797-801.
8. Merri M, Moss AJ, Benhorin J, et al. Relation between ventricular repolarization duration and cardiac cycle length during 24-hour Holter recordings. Findings in normal patients and patients with long QT syndrome. *Circulation* 1992; 85:1816-1821.
9. Coumel P, Fayn J, Maison-Blanche P, et al. Clinical relevance of assessing QT dynamicity in Holter recordings. *J Electrocardiol* 1994; 27:62-66.
10. Emori T, Ohe T, Aihara N, et al. Dynamic relationship between the Q-T interval and heart rate in patients with long QT syndrome during 24-hour Holter ECG monitoring. *PACE* 1995; 18:1909-1918.
11. Okada Y, Ogawa S, Sadanaga T, et al. Assessment of reverse use-dependent blocking actions of class III antiarrhythmic drugs by 24-hour Holter electrocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:84-89.
12. Neyroud N, Maison-Blanche P, Denjoy I, et al. Diagnostic performance of QT interval variables from 24-hour electrocardiography in the long QT syndrome. *Eur Heart J* 1998; 19:158-165.
13. Stramba-Badiale M, Locati EH, Martinelli A, et al. Gender and the relationship between ventricular repolarization and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings. *Eur Heart J* 1997; 18:1000-1006.
14. Maison-Blanche P, Coumel P. Changes in repolarization dynamicity and the assessment of the arrhythmia risk. *PACE* 1997; 20 (Suppl. 2):2614-2624.
15. Le Coz F, Funck-Brentano C, Morell T, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modelling of the effects of oral and intravenous administrations of dofetilide on ventricular repolarization. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57:533-542.
16. Gwilt M, Arrowsmith JE, Blackburn KJ, et al. UK-68,798: A novel, potent and highly selective class III antiarrhythmic agent which blocks potassium channels in cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256:318-324.
17. Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952; 6:378-388.
18. Maison-Blanche P, Catuli D, Fayn J, et al. QT interval, heart rate and ventricular arrhythmias. In AJ Moss, S Stern (ed.): *Noninvasive electrocardiology: Clinical aspects of Holter monitoring*. Philadelphia, WB Saunders 1996, pp. 383-404.
19. Dickhut HH, Bluemner E, Auchschwelk W, et al. The relationship between heart rate and QT interval during atrial stimulation. *PACE* 1991; 4:793-799.
20. Akaike H. An information criterion (AIC). *Math Sci* 1976; 14:5-9.
21. Altman DG, Gardner MJ. Calculating confidence interval for regression and correlation. *Br Med J* 1988; 286:1238-1242.
22. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-310.
23. Cowan JC, Yusoff K, Moore M, et al. Importance of lead selection in QT interval measurement. *Am J Cardiol* 1988; 61:83-87.
24. Christiansen JL, Guccione P, Garson A. Difference in QT interval measurement on ambulatory ECG compared with standard ECG. *PACE* 1996; 19:1296-1303.
25. Funck-Brentano C, Jaillon P. Rate-corrected QT interval: Techniques and limitations. *Am J Cardiol* 1993; 72:17B-22B.
26. Ashman R. Normal duration of QT interval. *Am Heart J* 1942; 23:522-534.
27. Schlamovitz I. An analysis of time relationships within cardiac cycle in electrocardiogram in normal men. The duration of the QT interval and its relationship to the cycle length (RR interval). *Am Heart J* 1946; 31:329-342.
28. Adams W. The normal duration of the electrocardiographic of the ventricular complex. *J Clin Invest* 1936; 15:335-342.
29. Simonson E, Cady LD, Woodbury M. The normal QT interval. *Am Heart J* 1962; 63:747-753.
30. Puddu PE, Jouve R, Mariotti S, et al. Evaluation of 10 QT prediction formulas in 881 middle-aged men from the seven countries study: Emphasis on the cubic root Fridericia's equation. *J Electrocardiol* 1988; 21:219-229.
31. Karjalainen J, Viitasalo M, Mänttari M, et al. Relation between QT intervals and heart rates from 40 to 120 beats/min in rest electrocardiograms of men and a simple method to adjust QT interval values. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:1547-1553.
32. Lecocq B, Lecocq V, Jaillon P. Physiologic relation between cardiac cycle and QT duration in healthy volunteers. *Am J Cardiol* 1989; 63:481-486.
33. Funck-Brentano C, Kibeleur Y, Le Coz F, et al. Rate dependence of sotalol-induced prolongation of ventricular repolarization during exercise in humans. *Circulation* 1991; 83:536-545.
34. Susmano A, Graettinger JS, Carleton RA. The relationship between QT interval and heart rate. *J Electrocardiol* 1969; 2:269-274.
35. Franz MR, Swerdlow CD, Liem MB, et al. Cycle length dependence of human action potential in vivo. Effects of single extrastimuli, sudden sustained rate acceleration and deceleration and different steady-state frequencies. *J Clin Invest* 1987; 97:972-979.
36. Molnar J, Weiss J, Zhang F, et al. Evaluation of five QT correction formulas using a software-assisted method of continuous QT measurement from 24-hour Holter recordings. *Am J Cardiol* 1996; 78:920-926.

2. Article 2

Dynamic analysis of the QT interval in long QT1 syndrome patients with a normal phenotype.

Lande G, Kyndt F, Baro I, Chabannes D, Boisseau P, Pony JC, Escande D, Le Marec H. *Eur Heart J.* 2001;22:410-22.

Le diagnostic du syndrome du QT long reste difficile, en particulier dans les formes mineures, ce d'autant que le syndrome est hétérogène cliniquement et génétiquement, et qu'il existe des variations dépendantes de l'âge et du sexe. Le diagnostic clinique, basé sur le score publié en 1993 (283), ne permet pas d'identifier bon nombre de patients porteurs d'une mutation. Or, la pénétrance du syndrome peut être très basse (30%) (102), et les sujets porteurs sains restent à risque de développer des troubles du rythme, en particulier en présence de circonstances favorisant extérieures comme la prise d'un médicament bloqueur de HERG. Diagnostiquer ces porteurs sains permet donc de mettre en oeuvre des mesures préventives importantes.

Nous avons étudié une famille suivie cliniquement depuis 25 ans atteinte de syndrome du QT long de type 1, la forme la plus fréquente de ce syndrome. La particularité clinique de cette famille consiste en une normalisation de la durée de l'intervalle QT chez les mâles après la puberté. Nous avons démontré que les porteurs sains de la mutation gardaient une anomalie de la dynamique du QT mise en évidence à partir de données Holter. La fréquence dépendance de l'intervalle QT restait plus marquée la nuit que le jour chez les porteurs sains (mâles après la puberté), comme chez les autres sujets porteurs dans cette famille, alors qu'elle est plus marquée le jour que la nuit chez les sujets contrôles.

Cette inversion nyctémérale de la fréquence dépendance de l'intervalle QT, utilisée comme un critère diagnostic, démontre une meilleure sensibilité et une meilleure valeur prédictive négative, mais une aussi bonne spécificité, que la mesure de l'intervalle QTc. Elle permet de diagnostiquer, dans cette famille, les porteurs sains du syndrome, alors que le score clinique proposé par Schwartz et coll. (283) classait la majorité d'entre eux en probabilité intermédiaire.

Commentaire.

Depuis la publication de cette étude, en 2001, d'autres articles ont rapporté l'intérêt de la fréquence dépendance de l'intervalle QT comme outil diagnostic, mais aussi pronostic, dans différentes pathologies rythmiques. Nemec et coll. ont démontré que la fréquence dépendance de QT était plus marquée dans LQT2 et LQT3 que dans LQT1, et plus marquée dans LQT1 que chez les sujets contrôles (679). Extramiana et coll. ont pu différencier les sujets symptomatiques de ceux asymptomatiques dans le syndrome LQT1 à partir d'une analyse dynamique de la fin de T (566).

Dans un autre domaine, Fujiki et coll. ont retrouvé une fréquence dépendance de QT moins marquée, ainsi qu'un intervalle QT plus long à fréquence basse, chez les patients présentant une fibrillation ventriculaire idiopathique, que chez les sujets contrôles (680).

Les progrès de la technique et des connaissances permettent donc de donner à l'analyse dynamique de l'intervalle QT des possibilités diagnostiques performantes. Malgré la relative rapidité des mesures, l'enregistrement Holter ECG reste tributaire de la durée de l'enregistrement, ce qui le rend peu applicable au dépistage à large échelle. Il serait souhaitable que des techniques d'enregistrement de courte durée puissent venir se substituer

aux enregistrements de 24 heures, tout en utilisant éventuellement les principes d'analyse développés grâce à ces derniers.

Dynamic analysis of the QT interval in long QT1 syndrome patients with a normal phenotype

G. Lande^{*1}, F. Kyndt^{*1}, I. Baró¹, D. Chabannes¹, P. Boisseau¹, J.-C. Pony²,
D. Escande¹ and H. Le Marec³

¹INSERM U533, Hôpital Hôtel-Dieu, Nantes, France; ²Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France; ³Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Nantes, France

Aims In families with the long QT syndrome penetrance may be low: up to 70% of gene carriers may have a normal QTc interval. These patients require therapy, similar to that in those with longer QTc intervals, but identifying them, using molecular analysis, is difficult to apply on a large scale. A large French family affected by the long QT1 syndrome was followed-up over a 25-year period. In adult males but not in females, the QTc interval normalized after puberty. We aimed to find clinical criteria, based on ambulatory ECG recordings so that we could improve diagnosis in affected members with a normal QTc.

Methods and Results Linkage analysis and direct sequencing were an indicator of the long QT1 gene in our family. Reverse transcription-polymerase chain reaction analysis demonstrated abnormal transcripts in lymphocytes from silent gene carriers. The functional profile of mutated protein isoforms was investigated using the patch-clamp technique. Dynamic analysis of ventricular depolarization was conducted using Holter recordings in patients, and in

sex- and age-matched controls. Circadian variations of the QTc interval and the QT/RR relationship were assessed. Sensitivity, specificity, and predictive values were evaluated for proposed clinical criteria. We found that dynamic analysis of the QT interval permitted individual diagnosis in mutation carriers even when the QTc interval was normal (adult males).

Conclusion Dynamic analysis of the QT interval is of diagnostic value in the long QT1 syndrome in patients with a normal phenotype. Clinical implications include improvement in screening and patient management. (Eur Heart J 2001; 22: 410–422, doi: 10.1053/euhj.2000.2292)

© 2001 The European Society of Cardiology

Key Words: Long QT syndrome, KvLQT1, ambulatory ECG recording, QT dynamic.

See page 363 for the Editorial comment on this article

Introduction

The congenital long QT syndrome is a genetically heterogeneous disorder. It is most often inherited as an autosomal trait^[1,2] and is related to mutations in *KCNQ1* (a gene encoding the KvLQT1 K⁺ channel protein) in more than 50% of cases^[3]. The phenotype is primarily characterized by a prolonged QTc interval on the surface ECG and also by the occurrence of torsade de pointes arrhythmias leading to syncope and sudden death. The clinical diagnosis of the long QT syndrome is often hampered by age/sex influences on QT duration^[4,5]. Also, it is known that the QT interval duration

and the morphology of the T wave vary remarkably depending on the locus involved^[6] and depending the mutation within the same locus^[7]. In addition, some long QT syndrome families exhibit a low penetrance^[8], with up to 70% of long QT syndrome gene carriers having a normal QTc interval. In 1993 a clinical score for diagnosing the long QT syndrome was proposed^[9]. It is based on a large registry of patients affected by different types of the long QT syndrome and with mainly clinically based diagnoses. Due to the phenotypic heterogeneity of the disease and also to the age-related attenuation of its severity in males^[10], an unexpectedly large number of genetically affected individuals remain undiagnosed^[8]. These silent gene carriers are probably at high risk for developing torsade de pointes when exposed to one of the many drugs that adversely prolong depolarization. Accordingly, silent gene carriers require prevention therapy similar to that required by those with longer QTc intervals^[11].

Revision submitted 22 May 2000, and accepted 24 May 2000.

*Joint first co-authors.

Correspondence: Dr Gilles Lande, INSERM U533, 1 rue Gaston Veil, B.P. 53508, 44093 Nantes Cedex 1, France.

In the present work, we describe a large French family affected by the long QT1 syndrome, and who had a 25-year longitudinal clinical follow-up. In this family, we observed that QTc intervals in genetically affected adult males normalized after puberty. Particular attention was paid to this subgroup of silent gene carriers, in whom the clinical score, as proposed by Schwartz *et al.*^[9], failed to diagnose the disease. We found that dynamic analysis of the QT interval on ambulatory ECG recordings permitted efficient diagnosis in silent gene carriers.

Methods

Population

A large French family with an autosomal dominant (Romano-Ward) long QT syndrome formed the basis of this study^[12]. The proband was an 11-year old boy who was diagnosed with the long QT syndrome in 1973 following syncope upon running (Fig. 1(a); subject III 13). In other family members, the diagnosis for the long QT syndrome was suggested by symptoms and QTc interval prolongation (Table 1). A clinical follow-up was then initiated. Twenty-five years after the proband had been diagnosed, 20 carriers of a mutant *KCNQ1* gene were identified among 42 relatives (Fig. 1(a)). Two additional subjects, with a history of exercise-induced syncope and sudden death (subjects II 1 and III 10), were considered as long QT1 patients without genotypic analysis. This yielded a 52% transmission of the disease. Nine of the affected members (i.e. 41% of the carriers) had experienced at least one episode of exercise-related syncope. Symptoms were obvious by 4 to 16 years. No patient experienced syncope before the age of 4, and two patients remained symptomatic between 16 and 30. At the time of the study, none of the adult carriers were being treated whereas four out of 10 child carriers were under beta-blocker treatment. The age and sex ratios (male/female) of patients were 67.0 ± 4.2 years (range: 64–70 years) and 1.0 for offspring II (n=2), 35.3 ± 3.8 years (range: 31–42 years) and 1.7 for offspring III (n=8), 9.4 ± 3.7 years (range: 5–16 years) and 1.5 for offspring IV (n=10), respectively.

As a control group, we investigated 20 subjects matched in terms of age and sex, whether volunteers or non-gene carriers from the same pedigree. All of the control subjects recruited were normal on the basis of clinical examination, 12-lead surface ECG, standard laboratory tests, and 24-h dynamic ECG recordings. All patients and controls gave written informed consent. Parental consent was given where children were under 18 years. The protocol was approved by the local Committee for the Protection of Human Subjects in Biomedical Research of Nantes-University, France.

Genotyping and mutation analysis

Genomic DNA was prepared from blood using a standard procedure^[13]. The family was genotyped for

polymorphic markers on chromosomes 11p15.5 (long QT1)^[3], 7q35-36 (long QT2)^[14], 3p21-24 (long QT3)^[14], and 4q25-27 (long QT4)^[15]. Amplification of these microsatellite markers using polymerase chain reactions was performed as previously described^[16]. Pairwise linkage analysis was performed using MLINK in the LINKAGE 5.2 software package^[17]. The disease penetrance was set at 0.9 and the long QT syndrome disease gene frequency was assumed to be 0.001 and equal between male and female subjects. The allele frequencies for each DNA marker were assumed to be similar. For DNA sequence analysis, six intronic primer pairs were designed to amplify the *KCNQ1* gene encoding most of the transmembrane spanning segments and channel pore (S1-S6)^[18]. Polymerase chain reaction reactions were sequenced in both directions in order to confirm the identified mutations.

After activation with lectin ($3 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$; Sigma), lymphocytes from long QT syndrome patients were cultured in RPMI 1640 medium (Gibco BRL, Passley, Scotland) supplemented with 10% fetal calf serum, 2 mM L-glutamine (Gibco), $100 \text{ U} \cdot \text{ml}^{-1}$ of penicillin (Gibco), and $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ streptomycin. Total RNA was prepared using Ultraspec[®] RNA (Biotec laboratories, Houston, Texas). Total heart RNA used as control was purchased from Clontech. A cDNA fragment encompassing the *KCNQ1* coding region from exon 5 to 10 was generated by reverse transcription-polymerase chain reaction using primers 10R (5'-AACTGTCATAGCCGTCGACA GAG-3') and 5F (5'-GGGGCATCCGCTTCCTG CAG-3'). This cDNA was used as a template for polymerase chain reaction with primers 6F (5'-AGCTGATA ACCACCTGTACAT-3') and 8R (5'-ATGAGTGAGGCTGCCGC-3')^[19]. Polymerase chain reaction products were size-fractionated by electrophoresis on a 2% agarose NA gel (Pharmacia), followed by ethidium bromide staining. Amplicons were excised from the gel, purified and sequenced in both directions.

Heterologous expression in mammalian cells

The kidney-derived COS-7 cell line was obtained from the American Type Culture Collection. Cells were microinjected into the nucleus with plasmids at day 1 after plating, as previously reported^[20]. Human cardiac KvLQT1 isoform 1 and isoform 2, and IsK cDNAs were similar to those used in previous experiments^[19]. Mutated KvLQT1 isoform 1 plasmid was prepared by mutagenesis with mutagenic primer: 5'-CTGTGG TGGGGGGTGGGGATTCTTGGCTCG-3'. Mutated KvLQT1 isoform 2 plasmid was prepared from wild-type isoform 2 subcloned in pCI vector, and digested with EcoRI and AflIII. The digestion product, corresponding to the 5' end of isoform 2, was ligated into mutated pCI-KvLQT1 isoform 1, and also digested with EcoRI and AflIII. All constructs were verified by sequencing. Wild-type or mutated isoforms 1 and 2 cDNAs were injected at $5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ and $2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$,

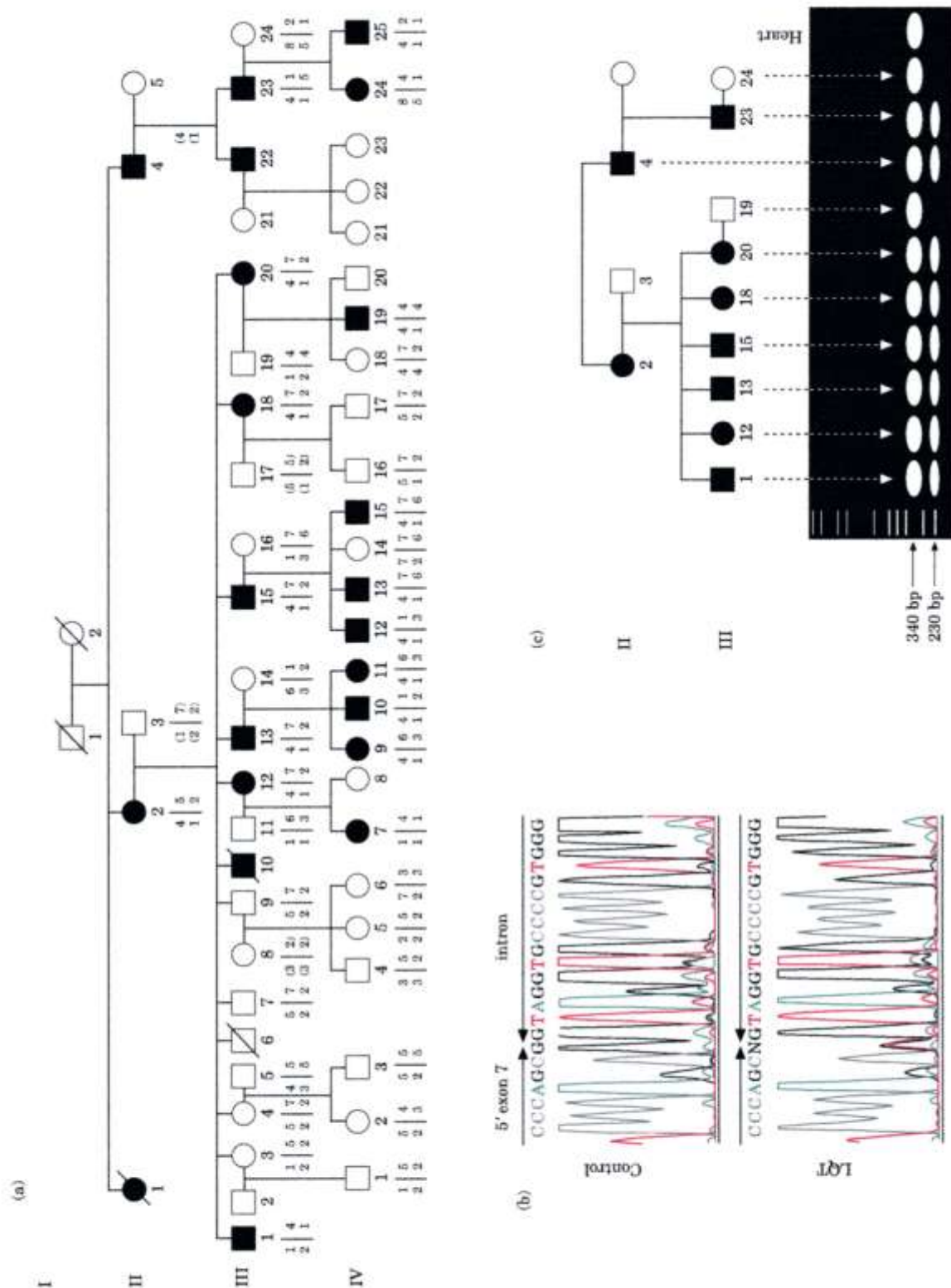


Table 1 Clinical features of affected individuals

Sex	Pedigree	Age (yrs)	RR (ms)		QTc _{Bazett} (ms)		QTc _{Fridericia} (ms)		Symptoms				Beta-blocker
			1973	1998	1973	1998	1973	1998	Type	Start (yrs)	End (yrs)	Trigger	
F	II 1	—	—	—	—	—	—	—	SD	2	—	—	0
F	II 2	69	—	1140	—	450	—	459	0	—	—	—	0
M	II 4	65	—	—	—	—	—	—	syncope	8	26	running	0
F	III 12	37	875	1180	535	451	523	464	0	—	—	—	0
F	III 18	34	829	1160	527	464	511	476	0	—	—	—	0
F	III 20	33	440	470	474	498	462	489	syncope	9	28	swimming	0
M	III 1	44	851	1100	499	400	485	407	0	—	—	—	0
M	III 10	—	—	—	—	—	—	—	SD	12	12	running	0
M	III 13	36	880	1160	501	390	490	400	syncope	6	15	running	0
M	III 15	35	894	1090	476	383	467	389	0	—	—	—	0
M	III 22	42	884	844	511	428	500	415	0	—	—	—	0
M	III 23	37	847	767	500	395	486	376	0	—	—	—	0
F	IV 7	12	—	920	—	500	—	494	syncope	8	9 (tt)	running	+
F	IV 9	16	—	870	—	472	—	461	syncope	8	8 (tt)	swimming	+
F	IV 11	8	—	570	—	503	—	458	0	—	—	—	+
F	IV 22	5	—	560	—	494	—	449	syncope	4	5 (tt)	running	0
M	IV 10	13	—	690	—	506	—	475	syncope	10	10 (tt)	swimming	+
M	IV 12	8	—	740	—	511	—	486	0	—	—	—	0
M	IV 13	6	—	860	—	453	—	442	0	—	—	—	0
M	IV 15	2	—	—	—	—	—	—	0	—	—	—	0
M	IV 19	6	—	580	—	486	—	444	0	—	—	—	0
M	IV 21	11	—	747	—	480	—	457	0	—	—	—	0

Age, at the time of the study, beginning (start) and end of symptoms, are expressed in years (yrs). RR and QTc intervals, according to Bazett's or Fridericia's formula are measured in ms based on a standard ECG, recorded in 1973 or 1998. Type of symptoms is reported as sudden death (SD), syncope, or asymptomatic (0). tt, indicates that patients became asymptomatic after onset of beta-blockers. +, indicates ongoing beta-blocker treatment, whereas 0 indicates absence or cessation of treatment. —, indicates that clinical data are not available.

respectively. IsK cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)^[21] was always co-injected. A green fluorescence protein plasmid (pGFP) was used as an inert plasmid to ensure that the total plasmid concentration injected was always $15 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Whole-cell currents were recorded as previously described^[20]. Cells were continuously superfused with the standard extracellular solution containing (mmol $\cdot \text{l}^{-1}$): NaCl 145; KCl 4; MgCl₂ 1; CaCl₂ 1; HEPES 5; glucose 5; pH adjusted to 7.4 with NaOH. The intracellular medium contained (mmol $\cdot \text{l}^{-1}$): K-gluconate 145, HEPES 5, EGTA 2, 1/2Mg-gluconate 2 (free-Mg²⁺: 0.1), K₂ATP 2, pH 7.2 with KOH. The extracellular medium applied on the studied cells to record pure K⁺ currents was warmed to 35 °C. The extracellular medium contained (mmol $\cdot \text{l}^{-1}$): Na-gluconate 145, K-gluconate

4, 1/2Ca-gluconate 7 (free-Ca²⁺: 1), 1/2Mg-gluconate 4 (free-Mg²⁺: 1), HEPES 5, glucose 5, pH 7.2 with NaOH.

Manual QT interval measurements on 12-lead electrocardiograms

All patients (except #II 4, who refused to participate, and #IV 15, a 2-year-old child), and all controls underwent a 12-lead electrocardiogram. Standard ECG recordings were also available for all offspring III patients during childhood (age: 12.3 ± 3.8 year). Recordings were performed at a paper speed of $25 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ (amplitude: 1 mV=10 mm). The QT interval duration was determined from the onset of the QRST complex to the end

Figure 1 (a) Linkage of family to chromosome 11p15.5-LQT1. Pedigree for family is shown (circles: females; squares: males) with clinical phenotype assigned as either affected (solid) or unaffected (open). Genotypes for the chromosome 11p15.5 DNA markers are indicated below each symbol and are shown as haplotypes. (b) Nucleotide sequence of control and mutant long QT syndrome. *KCNQ1* allele are shown. A G→T splicing transversion was found in all affected family members. (c) Effect of the mutation on splicing. Reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of *KCNQ1* mRNA from lymphocytes of affected and unaffected family members, and from normal human heart is shown. Exon 7 skipping is the transcript of the mutated allele.

of the T wave, defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal downslope of the T wave^[22]. The mean of five consecutive QT intervals was measured in lead V₂. Correction of the duration of the QT interval as a function of cycle length was performed using both Bazett's^[23] and Fridericia's^[24] formulae ($QTc_{Bazett} = QT/\sqrt{RR}$ and $QTc_{Fridericia} = QT/\sqrt[3]{RR}$ with RR expressed in seconds). Considering that no universally acceptable range of normal QTc values has ever been published or proposed, we used the common 440 ms value as the 'normal upper limit' for the corrected QT interval.

Scoring was assessed according to long QT syndrome diagnostic criteria, based on ECG findings, clinical history, and family history, as defined by Schwartz *et al.*^[9]. Point scoring was arbitrarily divided into three probability categories: ≤ 1 , 2 to 3, and ≥ 4 , for a low, intermediate, and high probability of the long QT syndrome, respectively.

Automatic QT interval measurements on Holter recordings

All patients, except four who refused (II 4, III 12, IV 10, and IV 15), and all controls underwent 24-h ambulatory recording. Analog dynamic ECG tracings were obtained using three bipolar thoracic leads in a pseudo-orthogonal configuration (X, Y, Z). Continuous ECGs were recorded by means of amplitude-modulated recorders (Sherpa 3, Reynolds Medical Ltd, Sandwich, U.K.), and then digitized at a sampling rate of 128 Hz, with a resolution of 10 bits (Pathfinder 600, Reynolds Medical Ltd). The system allowed independent beat-to-beat automatic measurements of QT and RR intervals on each lead. The accuracy of automatic QT interval measurements has been assessed independently^[25].

The relationship between QT and RR intervals was analysed using beat-to-beat measurements and denoted as the rate-dependence of the QT interval. This relationship was assessed under steady-state conditions^[25,26] by means of a customized software program run on a personal computer. Beat selection was based on the stability of the cycle length during the preceding minute (most adaptations of QT to a change in cardiac rate is achieved within 1 min)^[27]. Beats were selected for analysis if the preceding RR interval fell within ± 15 ms of the mean RR interval of the preceding minute and the percent of analysed beats exceeded 80%. Individual data represented QT intervals plotted against RR measurements, averaged by 7.8 ms RR interval steps. QT/RR data fitted a linear relationship^[25], and the slope of the QT/RR relationship defined the rate-dependence of the QT interval. The QT/RR relationship was evaluated during three distinct time periods: a 24 h period, a 4 h contiguous period during the day, and a 4 h contiguous period during the night, defined according to time and heart rate. QT/RR data were analysed individually and

separately for X, Y, and Z leads. Considering that manual measurements on a standard ECG were performed from lead V₂, the default lead X, representing a modified V₂ was chosen for automatic Holter measurements. Day, night, and 24-h periods were then compared.

QT and RR duration, from Holter tapes, was also averaged throughout the 24 h recording. The circadian variation of ventricular depolarization was assessed by the difference between night and day values.

Statistics

The RR, QT, QTc_{Bazett} , and $QTc_{Fridericia}$ interval durations were expressed as mean $\pm$ standard deviation, whereas potential and current density values were expressed as mean $\pm$ standard error. Longitudinal comparison of paired ECG parameters were assessed using the Wilcoxon-paired test.

Linear regression slopes were compared individually, or as a mean. Individual linear regression slope comparisons (i.e. long QT syndrome patient vs paired control, whatever the period, or day vs night in the same individual) were assessed by use of the Altman and Gardner method^[28]. This method compares two groups of data by using a 95% confidence interval for the population value of the difference between the slope of regression lines. Mean data were compared using multifactorial analysis of covariance (ANCOVA). Possibly confounding factors such as age, sex, beta-blocker treatment, mean RR and mean QTc_{Bazett} intervals of the periods, were introduced into the model as independent factors. Comparison of RR, QT, and QTc circadian variations were also assessed using ANCOVA, with the same independent factors. Activation kinetic was compared using analysis of variance with repeated measures. A *P* value less than 0.05 was considered significant.

We assessed sensitivity, specificity, negative and positive predictive values, of diagnostic criteria from standard and dynamic ECG analysis.

Results

Genotype expression analysis

There was clear evidence of linkage to the chromosome 11p15.5 long QT1 locus (Fig. 1(a)) with a maximum lod score of 7.1 at $\theta=0$ with D11S1318. Direct sequencing of the *KCNQ1* gene, including exon-intron boundaries, identified a splicing G→T substitution (SP/A344/g-t) at the third position of codon A344 (Fig. 1(b)). This generates a new PvuII restriction site and a restriction fragment length polymorphism, which was further used to confirm co-segregation of the mutation with the phenotype in all affected family members. This restriction fragment length polymorphism was not observed in unaffected family members or on 200 chromosomes from unrelated control subjects.

We evaluated the consequences of the splicing mutation by reverse transcription-polymerase chain reaction in lymphocytes (Fig. 1(c)). Reverse transcription-polymerase chain reaction was performed using primers specific for *KCNQ1* exons 6 and 8. Two transcripts of 340 bp and 230 bp were detected from affected members of the pedigree, but only one transcript of 340 bp corresponding to the wild-type transcript was detected from unaffected subjects. Sequence analysis of the 230 bp transcripts revealed skipping of exon 7 which partially encodes for the pore and the S6 segment of the channel protein^[18].

Functional expression

To determine the consequences of exon 7 skipping on KvLQT1 isoform 1 ($\Delta 7$ -isoform 1) and on its dominant-negative splice variant isoform 2 ($\Delta 7$ -isoform 2) on their respective activity, patch-clamp experiments were conducted in a mammalian expression system. In a previous work, we showed that two isoforms of KvLQT1 are co-expressed in the human myocardium^[19]: isoform 1, which constitutes the pore of the K^+ channel and isoform 2, which has a dominant-negative influence on isoform 1. COS-7 cells expressing $\Delta 7$ -isoform 1 cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), and IsK cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exhibited no K^+ current ($n=5$). Since Romano-Ward mutated KvLQT1 isoforms 1 have dominant-negative activity on wild-type KvLQT1 channel activity^[29], the dominant-negative properties of $\Delta 7$ -isoform 1 were also investigated. Cells were co-injected with wild-type isoform 1 cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), $\Delta 7$ -isoform 1 cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), and IsK cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$). These cells showed a K^+ current with a more positive potential for half maximal activation ($V_{0.5}$; Fig. 2(a)): $V_{0.5}$ was $-0.5 \pm 1.6 \text{ mV}$ vs $+24.5 \pm 7.1 \text{ mV}$, in the absence and presence of $\Delta 7$ -isoform 1, respectively ($P<0.01$). These cells also exhibited slower activation kinetics (Fig. 2(b)) which may lead to a smaller I_{Ks} current in the action potential range. However, the average current densities in the presence or absence of $\Delta 7$ -isoform 1 were not statistically different (Fig. 2(d)). Therefore, the mutated $\Delta 7$ -isoform 1 exerts only weak dominant-negative effects on wild-type isoform 1 channel activity.

We have previously demonstrated^[30] that the Romano-Ward phenotype is more directly related to the consequences of the mutations on KvLQT1 isoform 2 than on isoform 1, since Romano-Ward mutated isoforms 2 preserve their dominant-negative activity toward wild-type isoform 1, while Jervell and Lange-Nielsen mutated isoforms 2 do not. We therefore evaluated the efficiency of $\Delta 7$ -isoform 2 as a dominant-negative product, by recording K^+ currents in cells injected with wild-type isoform 1 cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), $\Delta 7$ -isoform 2 cDNA ($2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), and IsK cDNA ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$). These data demonstrate that $\Delta 7$ -isoform 2 reduces the I_{Ks} current amplitude to a similar degree to the wild-type isoform 2 (Fig. 2(c and d)). Thus,

according to this criterion, the G→T substitution reported here behaves like a typical Romano-Ward mutation^[30].

QT interval measurements on standard ECGs

Table 1 shows that all affected individual male and female QTc values were greater than the upper limit during childhood, i.e. in 1973 and 1998 for offspring III and IV, respectively. Longitudinal follow-up of offspring III from 1973 to 1998 (Fig. 3(a) and Table 1) showed how the QTc interval in males normalized as they became adult. In affected males, both QTc_{Bazett} and QTc_{Fridericia} intervals dropped from prolonged values during childhood ($497 \pm 13 \text{ ms}$ and $486 \pm 12 \text{ ms}$, respectively) to normal values during adulthood ($399 \pm 17 \text{ ms}$ and $397 \pm 15 \text{ ms}$, respectively; $P<0.05$). An example of QT normalization is illustrated in Fig. 3(b) from two ECGs recorded at a 25-year interval. In contrast, in affected females, QTc_{Bazett} and QTc_{Fridericia} intervals remained prolonged both during childhood ($512 \pm 33 \text{ ms}$ and $499 \pm 32 \text{ ms}$, respectively) and adulthood ($471 \pm 24 \text{ ms}$ and $476 \pm 12 \text{ ms}$, respectively; ns). When only considering the ECGs recorded at the time of the study, Bazett's and Fridericia's corrected QT interval provided a sensitivity, specificity, negative predictive value, and positive predictive value of 72%, 100%, 100%, and 78%, respectively.

QT interval analysis in dynamic ECG recordings

In terms of the family history, the score of genetically unaffected members ($n=18$) according to Schwartz's criteria equalled 1.5, corresponding to an intermediate probability of the long QT syndrome. In gene carriers, only 7/18 patients had a high probability of the long QT syndrome (5.8 ± 0.9), whereas the remainder had an intermediate probability (2.0 ± 0.9), mainly due to the family history. Thus, the clinical score proposed by Schwartz *et al.*^[9] failed to diagnose the disease in genetically affected members. We therefore performed dynamic analysis of the QT interval on ambulatory ECG recordings in the search for alternative criteria.

Circadian variations of QT interval

Using Fridericia's correction formula, the difference between night and day QTc durations (Table 2) was decreased or even reversed in long QT syndrome patients compared to matched controls ($P<0.05$). The same trend was observed in male adult patients (i.e. in carriers with normal QTc intervals) in comparison to matched controls, but did not reach statistical significance because of the few available data ($n=5$; $1 \pm 9 \text{ ms}$ vs $13 \pm 12 \text{ ms}$; ns). Figure 4 shows representative examples where QT intervals of a similar cycle length

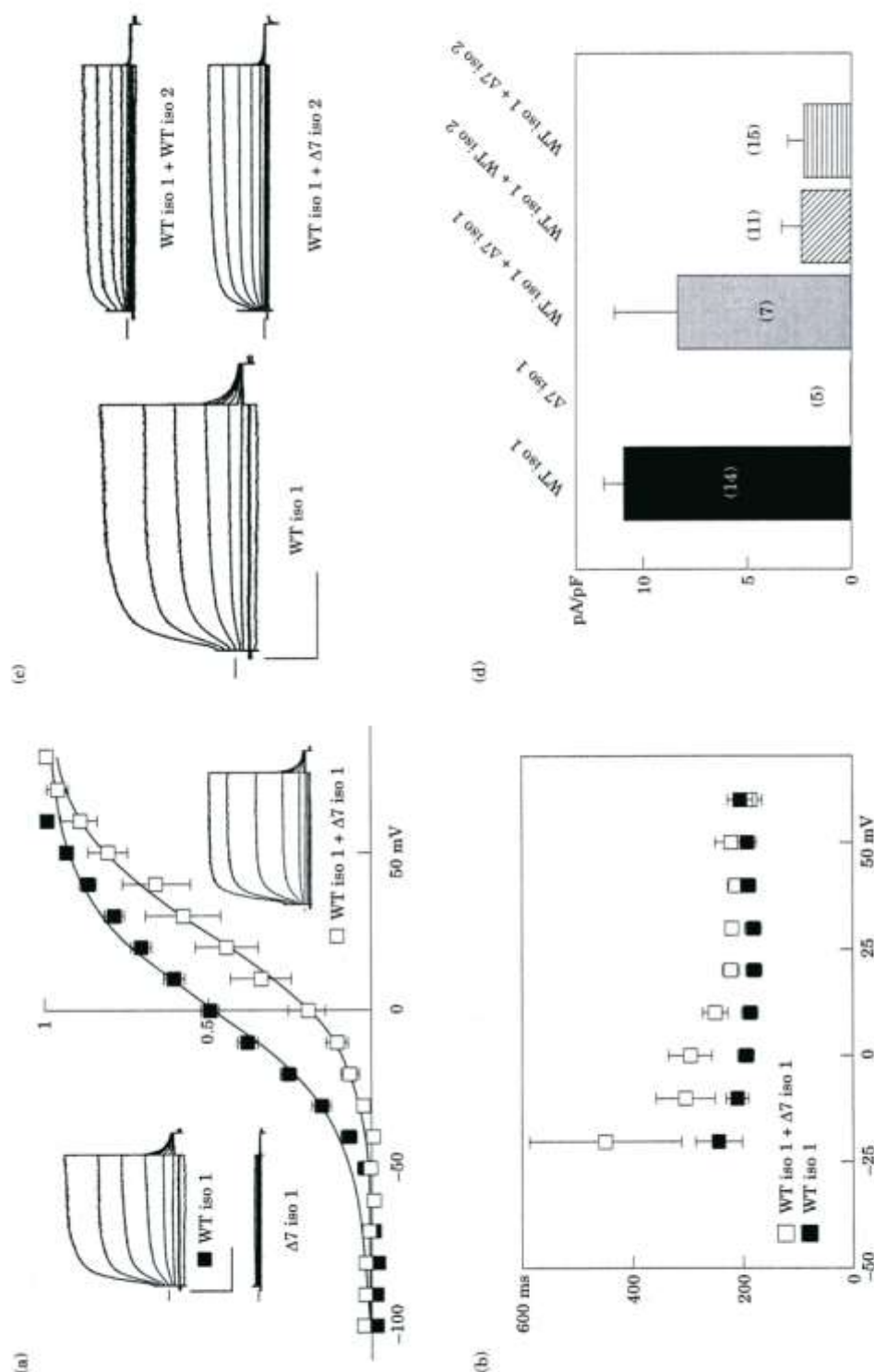


Figure 2 Activation curves (a) and activation kinetics (b) of the I_{Ks} current in COS-7 cells in the absence and presence of KvLQT1 $\Delta 7$ -isoform. (a) COS-7 cells injected with WT KvLQT1 isoform 1 (WT iso 1; $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) in the absence (n=8) or presence (n=4) of $\Delta 7$ -isoform 1 ($\Delta 7$ -iso 1; $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Data are averaged relative current tail amplitudes $\pm$ standard error of the mean. Holding potential: -80 mV ; voltage steps between -100 and $+60 \text{ mV}$ and then back to -40 mV where tail currents were measured. Fitted to a Boltzmann distribution (continuous curves). Inset: typical current traces (voltage steps: 20 mV increment) obtained in a COS-7 cell injected with WT isoform 1 (top left), with $\Delta 7$ -isoform 1 (bottom left) or with WT isoform 1 plus $\Delta 7$ -isoform 1 (right). Current scale: 20 pA/pF ; time scale: 1 s . (b) Activation time constants for the I_{Ks} current in relation to pulse potential in cells injected with WT isoform 1 alone (n=8) or with WT isoform 1 plus $\Delta 7$ -isoform 1 (n=4). Same voltage protocol as in (a). (c) Dominant-negative properties of $\Delta 7$ -mutated KvLQT1 isoform 2 ($\Delta 7$ -iso 2). Typical current traces obtained in COS-7 cells injected with WT isoform 1 (top), with WT isoform 1 plus $\Delta 7$ -isoform 2 cDNAs (middle) or with WT isoform 1 plus $\Delta 7$ -isoform 1 cDNAs (bottom). Same voltage protocol and scales as in (a). (d) Average tail current density measured after a depolarization to $+40 \text{ mV}$ in COS-7 cells injected with a mixture of plasmid as indicated above bars.

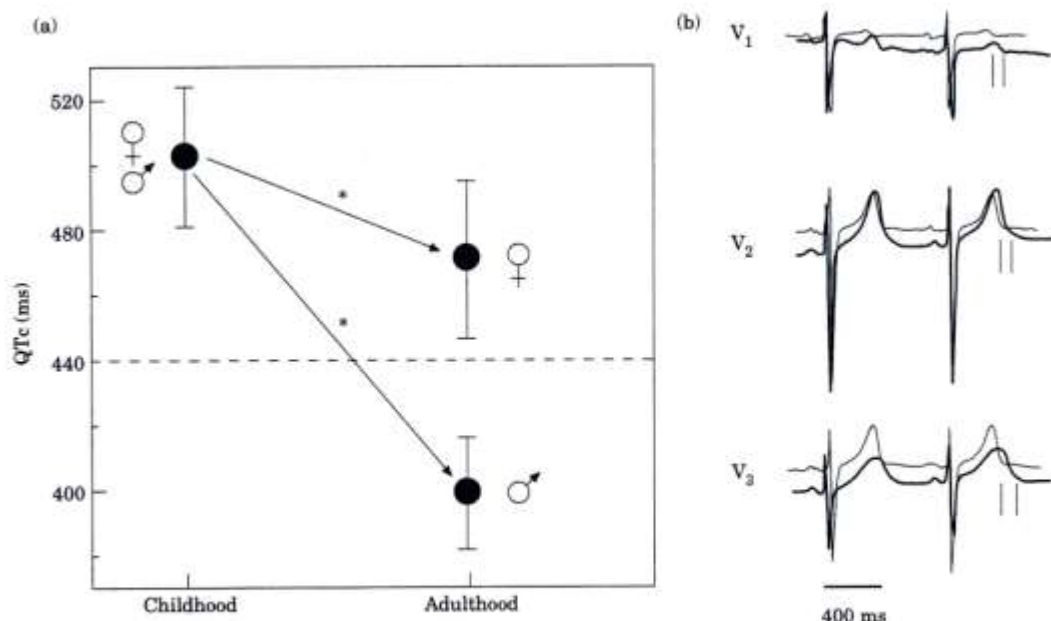


Figure 3 Regression of QTc prolongation with ageing in offspring III males. (a) The ordinate shows the QTc interval (QTc interval according to Bazett's formula) measured on a standard ECG. Plots represent mean QTc $\pm$ standard deviation in childhood ($n=8$), and in adulthood according to sex. (b) Example of QT modification recorded in right precordial leads in patient no. III8 at the age 11 (lower tracing) and 35 (upper tracing). There is a clear shortening of the QT interval measured at the same cycle length in adulthood.

were compared in the absence of correction formula. In the healthy subject taken as an example, the QT interval was longer during the night than the day (Fig. 4(a)). In long QT syndrome patients, whether with the long QT phenotype (Fig. 4(b)) or normal QT phenotype (Fig. 4(c)), the QT interval was similar when measured at the same cycle length during the day or night. We used daytime Fridericia QTc intervals subtracted from night-time Fridericia QTc intervals as a diagnostic criteria. A mean cut-off value of 10 ms provided good sensitivity and specificity (sensitivity, specificity, negative predictive value, and positive predictive value were 64%). A shorter cut-off value set at 0 ms yielded excellent specificity and a negative predictive value, but a weaker sensitivity (sensitivity, specificity, negative predictive value, and positive predictive value were 29%, 100%, 100%, and 58%, respectively).

Circadian variations of QT interval rate-dependence (Table 3 and Fig. 4)

Circadian variations of QT interval rate-dependence are revealed when day and night QT/RR slopes are compared. Individual linear regressions of QT/RR plots led to high values of Pearson correlation coefficients (0.96 ± 0.04). In controls, 12/14 subjects showed a steeper QT/RR slope during the day than the night ($P<0.05$). In contrast, 13/14 long QT syndrome subjects showed a reversed circadian QT interval rate-dependence ($P<0.05$), with a steeper QT/RR slope during the night than the day. Comparisons of mean values

were in agreement with individual comparisons. Remarkably, this reverse QT rate-dependence pattern was observed irrespective of the QT duration. Even with a normal QTc interval, affected members had a steeper QT/RR slope during the night than the day ($P<0.05$). This reverse circadian QT/RR slope pattern used as a diagnostic criteria, had a good sensitivity and positive predictive value, and excellent specificity and negative predictive value (sensitivity, specificity, negative predictive value, and positive predictive value were 93%, 100%, 100%, and 93%, respectively). Comparisons were also conducted between long QT syndrome patients and matched controls. During the night, the mean QT/RR slope was steeper in long QT syndrome patients than in controls ($P<0.001$; 15/16 patients). In contrast, during the day and over 24-h, the mean QT/RR slope was shallower in long QT syndrome patients than in controls ($P<0.02$; 7/14 patients).

Discussion

In the present study, a 25 year longitudinal follow-up of a genetically uniform type of long QT1 family demonstrates complete normalization of the QTc interval in adult males. An abnormal dynamic ECG pattern continued to identify gene carriers with a normal QTc duration. As yet, information is poor concerning longitudinal alterations in long QT patients. Post-puberty QTc shortening has been shown in long QT males^[5,10],

Table 2 Circadian differences between night and day ambulatory ECG parameters, in long QT patients and matched controls

Sex	Pedigree	LQT patients										Controls													
		Day					Night					Day					Night								
		RR	QT	QTb	QTf	RR	QT	QTb	QTf	Circadian difference	RR	QT	QTb	QTf	RR	QT	QTb	QTf	Circadian difference	RR	QT	QTb	QTf		
F	II 2	950	484	493	489	1101	513	486	493	151	29	-7	4	783	372	418	401	1032	445	435	437	249	73	17	36
F	III 18	870	432	462	451	1163	468	431	442	293	36	-31	-9	915	381	395	389	1050	414	402	405	135	33	7	16
F	III 20	757	393	450	429	1076	471	451	456	319	78	1	27	645	326	404	375	964	397	401	399	319	71	-3	24
M	III 1	828	384	420	407	960	392	397	394	132	8	-23	-13	836	372	404	392	1087	407	387	392	251	35	-17	0
M	III 13	656	370	454	422	1030	427	418	419	374	57	-36	-3	682	319	383	359	925	360	371	367	243	41	-12	8
M	III 15	738	372	431	409	1142	440	409	418	404	68	-22	9	662	337	414	385	939	397	407	402	277	60	-7	17
M	III 22	750	380	436	415	926	411	424	418	176	31	-12	3	708	344	406	383	1113	433	408	415	405	89	2	32
M	III 23	767	346	395	376	707	346	408	385	-60	0	13	9	650	324	400	371	765	348	395	377	115	24	-5	6
F	IV 7	831	443	483	468	931	480	494	488	100	37	11	20	638	331	413	382	845	387	419	406	207	56	6	24
F	IV 9	—	—	—	—	1147	528	491	502	183	51	0	19	620	309	391	360	1173	458	421	432	—	—	—	—
F	IV 11	640	382	475	440	823	433	475	459	122	36	1	14	533	295	401	360	866	370	396	386	246	61	5	26
F	IV 22	540	338	457	412	662	374	458	426	122	36	1	14	533	295	401	360	786	353	396	380	253	58	-5	20
M	IV 12	683	388	468	438	1029	450	442	443	346	62	-26	56	784	360	404	387	971	391	395	393	187	31	-9	6
M	IV 13	614	357	453	417	790	401	449	431	176	44	-4	14	633	341	425	394	888	400	424	414	255	59	-1	20
M	IV 19	553	364	487	440	778	395	445	426	225	31	-42	-14	591	319	411	376	725	344	402	380	134	25	-9	4
M	IV 21	—	—	—	—	791	428	479	460	—	—	—	—	—	—	—	—	948	414	423	419	—	—	—	—
Mean		727	388*	455*	430*	941	435*	447*	441*	210	41	-13	6	691	338	405	380	942	395	405	400	234	51	-2	17*
SD		120	40	27	28	165	49	31	34	126	22	17	13	104	26	11	13	128	34	16	20	77	20	9	11

RR, QT, QTb, and QTf, expressed in ms, are mean values of day and night periods. QTb and QTf are corrected QT intervals according to Bazett's and Fridericia's formulae, respectively. Daytime values subtracted from night-time values are circadian differences.

*Indicates a significantly higher value between long QT patients and matched controls ($P<0.05$).

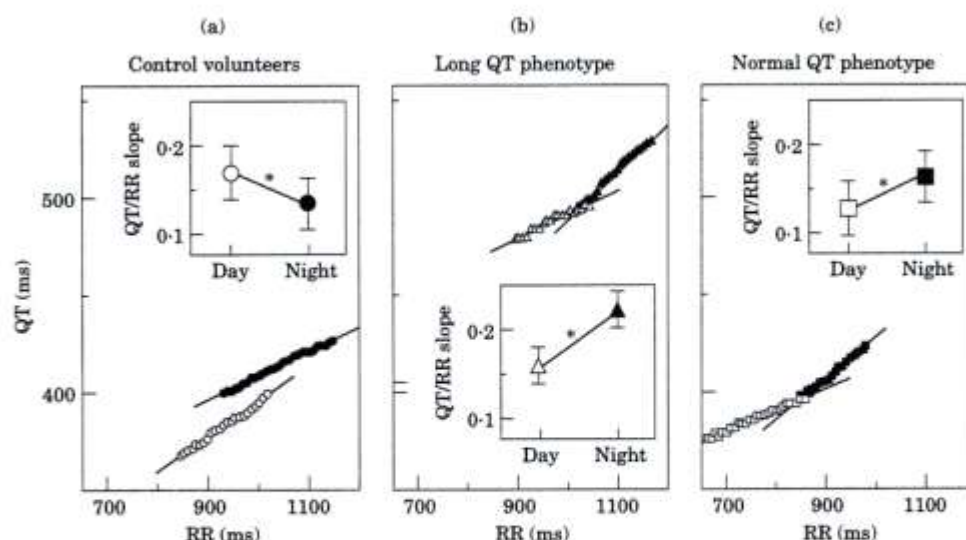


Figure 4 Circadian variations in the QT interval rate-dependence. (a) QT/RR plots in a control subject during the day (open circles) and at night (solid circles). The solid line shows linear regression. The inset shows mean $\pm$ standard deviation QT/RR slope values during the day (open circles) and at night (solid circles). (b) Same representation in long QT patients with the long QT phenotype. (c) Same representation in long QT patients with the normal QT phenotype.

Table 3 Ambulatory ECG QT/RR relationships in long QT patients and matched controls, during the day, at night and the 24-h period, respectively

Sex	Pedigree	LQT patients			Controls		
		Day	Night	24-h	Day	Night	24-h
F	II 2	0.126	0.234*†	0.290†	0.143*†	0.097	0.253
F	III 18	0.148	0.221*†	0.166	0.169*†	0.127	0.195†
F	III 20	0.155	0.194†	0.244†	0.170*	0.101	0.215
M	III 1	0.074	0.125*†	0.117	0.120*†	0.102	0.134†
M	III 13	0.139	0.160*†	0.168	0.130	0.121	0.171
M	III 15	0.153	0.205*†	0.152	0.166*	0.128	0.191†
M	III 22	0.137	0.170*†	0.152	0.182*†	0.116	0.206†
M	III 23	0.134	0.152*†	0.145	0.145*	0.114	0.167†
F	IV 7	0.192	0.222*†	0.285†	0.196*	0.169	0.242
F	IV 9	—	0.203†	—	—	0.132	—
F	IV 11	0.172	0.241*†	0.255†	0.201*†	0.156	0.222
F	IV 22	0.153	0.248*†	0.218	0.180†	0.173	0.210
M	IV 12	0.182†	0.199*†	0.172	0.154*	0.115	0.178†
M	IV 13	0.163	0.203*	0.201	0.235*†	0.200	0.235†
M	IV 19	0.152	0.232*†	0.167	0.179*	0.126	0.178
M	IV 21	—	0.257†	—	—	0.154	—
Mean		0.149	0.204*†	0.195	0.169*†	0.133	0.200†
SD		0.028	0.037	0.055	0.030	0.029	0.033

*Indicates a steeper ($P < 0.05$) individual (or mean) QT/RR relationship between the day and night, whether in long QT patients, or matched controls.

†Indicates a steeper ($P < 0.05$) individual (or mean) QT/RR relationship between long QT patients and matched controls, whether during the day, at night, or the 24 h period.

—Indicates that data were not available.

but complete normalization of the QTc interval has only been revealed in individuals^[31]. Post-puberty QTc shortening may be the reason for the lower incidence of symptoms among adult males^[32,33]. New insight is

provided by the present report: we show that in a genetically uniform pedigree, the QTc interval in all affected males is completely normalized in adulthood. Thus, as affected male subjects grew older, the gene

status changed from non-silent to silent carrier status. In normal subjects, males but not females shorten their QTc interval after puberty^[4,34]. This difference may account for the increased risk of iatrogenic torsade de pointes in adult females^[35]. A similar propensity by d,l-sotalol to induce torsade de pointes in women of either pre- or post-menopausal age suggests that androgens but not oestrogens contribute to this difference^[36]. Accordingly, experimental data suggest that androgen-treated tissues resist the depolarization lengthening effects produced by quinidine^[37].

Sequence analysis revealed a G-to-T splicing substitution at the third position of the last codon (344) of exon 7, a previously recognized hot spot for mutations in the *KCNQ1* gene^[38,39]. Our data strongly suggest that SP/A344/g-t mutation led to an abnormal protein lacking exon 7. Using the patch-clamp technique, we demonstrated that the splicing mutation provided similar electrophysiological consequences as other Romano-Ward mutations^[30]. The question arose as to whether gene expression differs between silent gene and non-silent gene carriers, i.e. between affected subjects with the normal or long QTc phenotype. In the long QT1 family, identification of gene carriers was partially based on the clinical data reported in 1973, thus at a time when affected offspring III males could be clinically recognized. Using reverse transcription-polymerase chain reaction in lymphocytes, we detected a 230 bp abnormal transcript in both adult male and adult female lymphocytes. Thus, even in silent-gene carriers, we found an abnormal gene expression, corresponding to the splicing mutation identified, at least in lymphocytes.

Increasing evidence now suggests that the acquired (drug-induced) long QT syndrome has a genetic predisposition, revealed by drugs^[40]. A 'forme frustre' of the long QT has been reported, where the initiating mutation was recognized only after identification of drug-induced arrhythmias^[7]. Up to 70% of gene carriers in some long QT families have a normal QTc interval^[8]. Therefore, the emergence of drug-induced torsade de pointes in subjects with a normal QTc interval could be the expression of an underlying and undiagnosed predisposition to proarrhythmic effects, i.e. silent forms of the congenital long QT. Most trials conducted in different patient populations yielded a comparable incidence of arrhythmogenic events, i.e. 2 to 6%^[41-43], thus indicating that the prevalence of silent gene carriers may be much higher than previously thought.

A diagnosis of a long QT gene carrier with a normal QTc interval has important clinical value. The diagnosis is crucial for the prevention of proarrhythmic events related to drugs in these patients and their relatives. In particular, without diagnosis, silent gene carriers would not receive information regarding passing on the mutation to future offspring, the possible benefit of beta-blocker therapy, and the prevention of drug-induced arrhythmias. In the present pedigree, the diagnostic sensitivity of Bazett's and Fridericia's formulas was low. The clinical score, as proposed by Schwartz *et al.*^[9], classified the majority (66%) of gene carriers into the

category of intermediate probability for the long QT. We performed dynamic analysis of the QT interval on ambulatory ECG recordings with the aim of defining alternative criteria. The QT interval is prolonged during sleep independent of the change in RR interval duration^[44,45]. In our study, the circadian variation of the QTc interval (according to Fridericia's formula) in mutation carriers was shortened or even reversed. It is known that the adrenergic tone predominates during the day. Epinephrine prolonged monophasic action potential duration and the QT interval in long QT patients, but not in control subjects^[46]. Thus, one can speculate that in long QT1 patients, adrenergic stimulation during the day is responsible for a paradoxical prolongation of the QT interval, decreasing or reversing the usual circadian QT difference. Whatever the explanation for this phenomenon may be, the diagnosis, based on QT interval circadian variations, did not show a better performance than standard QTc measurements.

The QT/RR relationship is a unique parameter characterizing ventricular depolarization. Merri *et al.*^[47] first reported an increased rate-dependence of the RTm interval (i.e. the beginning of the QRS complex to the maximum amplitude of the T wave) in long QT patients. Recently, Neyroud *et al.*^[48] showed, in genotyped long QT1 patients recruited from 10 different families, a significant increase in the QT/RR slope during the night, as compared to control subjects. Our study was performed in genetically uniform subjects but with a different phenotype, including a normal phenotype. In control subjects, the rate-dependence QT interval was steeper during the day than at night. Inversely, in long QT1 patients, the QT/RR slope was steeper during the night than the day. This reversed circadian pattern, used as a diagnostic criteria, offers better sensitivity and negative predictive value, but a similar specificity as compared to the corrected QT interval. Most importantly, the reverse circadian pattern was found to be relevant to the diagnosis of gene carriers with a normal QTc interval.

Based on our findings, we propose that future studies should be conducted to extend the evaluation of Holter diagnostic criteria to a larger population of genotyped long QT patients and matched controls. The present study, performed in long QT1 patients recruited from a single pedigree, has its own limitations. Genetic uniformity is a strength for the evaluation of diagnostic criteria but is also a weakness since other mutations of the same gene may produce diverging functional expression. Further investigations are therefore needed to determine whether the diagnostic criteria, as proposed here, can be extrapolated to other long QT1 mutations and to other long QT syndromes.

This work was supported by a special grant from the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale to DE and HLM (PROGRES 4P009D), and by a Projet Hospitalier de Recherche Clinique 1997 to HLM. We thank Béatrice Leray and Marie-Joseph Louerat for expert technical assistance. We thank Dr. P. Maison-Blanche and Pr Ph. Coumel for fruitful discussions about steady-state analysis of the QT interval in Holter recordings.

References

- [1] Romano C, Gemme G, Pongiglione R. Aritmie cardiache rare dell'eta pediatrica. *Clin Pediatr* 1963; 45: 656-83.
- [2] Ward OC. A new familial cardiac syndrome in children. *J Irish Med Ass* 1964; 54: 103-6.
- [3] Wang Q, Curran ME, Splawski I *et al*. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet* 1996; 12: 17-23.
- [4] Rautaharju PM, Zhou SH, Wong S *et al*. Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age. *Can J Cardiol* 1992; 8: 690-5.
- [5] Lehmann MH, Timothy KW, Frankovich D *et al*. Age-gender influence on the rate-corrected QT interval and the QT-heart rate relation in families with genotypically characterized long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 93-9.
- [6] Roden DM, Lazzara R, Rosen M, Schwartz PJ, Towbin J, Vincent GM. Multiple mechanisms in the long-QT syndrome. Current knowledge, gaps, and future directions. The SADS Foundation Task Force on LQTS. *Circulation* 1996; 94: 1996-2012.
- [7] Donger C, Denjoy I, Berthet M *et al*. KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. *Circulation* 1997; 96: 2778-81.
- [8] Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ. Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact. *Circulation* 1999; 99: 529-33.
- [9] Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. *Circulation* 1993; 88: 782-4.
- [10] Locati EH, Zareba W, Moss AJ *et al*. Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry. *Circulation* 1998; 97: 2237-44.
- [11] Vincent GM, Timothy K, Fox J, Zhang L. Long QT syndrome patients with normal to borderline prolonged QTc intervals are at risk for syncope, cardiac arrest and sudden death (Abstr). *Circulation* 1999; 18: 1-245.
- [12] Pony JC, Mattheyses M, Daubert JC, Fourdilis M, Gouffault J. Le syndrome QT long-syncope familial. Deux observations de syndrome de Romano et Ward. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1977; 70: 1105-14.
- [13] Lathrop GM, Lalouel JM. Easy calculations of lod scores and genetic risks on small computers. *Am J Hum Genet* 1984; 36: 460-5.
- [14] Jiang C, Atkinson D, Towbin JA *et al*. Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity. *Nat Genet* 1994; 8: 141-7.
- [15] Schott JJ, Charpentier F, Peltier S *et al*. Mapping of a gene for long QT syndrome to chromosome 4q25-27. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1114-22.
- [16] Gyapay G, Morissette J, Vignal A *et al*. The 1993-94 Genethon human genetic linkage map. *Nat Genet* 1994; 7: 246-339.
- [17] Grunebaum L, Cazenave JP, Camerino G *et al*. Carrier detection of Hemophilia B by using a restriction site polymorphism associated with the coagulation Factor IX gene. *J Clin Invest* 1984; 73: 1491-5.
- [18] Splawski I, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, Lehmann MH, Keating MT. Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, and KCNE1. *Genomics* 1998; 51: 86-97.
- [19] Demolombe S, Baro I, Prieon Y *et al*. A dominant negative isoform of the long QT syndrome 1 gene product. *J Biol Chem* 1998; 273: 6837-43.
- [20] Mohammad-Panah R, Demolombe S, Riouchet D *et al*. Hyperexpression of recombinant CFTR in heterologous cells alters its physiological properties. *Am J Physiol* 1998; 274: C310-8.
- [21] Barhanin J, Lesage F, Guillemare E, Fink M, Lazdunski M, Romey G. KvLQT1 and Isk (minK) proteins associate to form the IKs cardiac potassium current. *Nature* 1996; 384: 78-80.
- [22] Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952; 6: 378-88.
- [23] Bazett HC. An analysis of the time relations of the electrocardiograms. *Am Heart J* 1920; 7: 353-70.
- [24] Fridericia LS. Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand* 1920; 53: 469-86.
- [25] Lande G, Funck-Brentano C, Ghadanfar M, Escande D. Steady-state versus non-steady-state QT-RR relationships in 24-hour Holter recordings. *Pacing Clin Electrophysiol* 2000; 23: 293-302.
- [26] Badilini F, Maison-Blanche P, Childers R, Coumel P. QT interval analysis on ambulatory electrocardiogram recordings: a selective beat averaging approach. *Med Biol Eng Comput* 1999; 37: 71-9.
- [27] Dickhut HH, Bluemner E, Auchschweik W, Zehnder M, Irmer M, Meinertz T. The relationship between heart rate and QT interval during atrial stimulation. *Pacing Clin Electrophysiol* 1991; 14: 793-9.
- [28] Altman DG, Gardner MJ. Calculating confidence intervals for regression and correlation. *Br Med J* 1988; 296: 1238-42.
- [29] Chouabe C, Neyroud N, Guicheney P, Lazdunski M, Romey G, Barhanin J. Properties of KvLQT1 K⁺ channel mutations in Romano-Ward and Jervell and Lange-Nielsen inherited cardiac arrhythmias. *EMBO J* 1997; 16: 5472-9.
- [30] Mohammad-Panah R, Demolombe S, Neyroud N *et al*. Mutations in a dominant-negative isoform correlates with phenotype in inherited cardiac arrhythmias. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1015-23.
- [31] Hashiba K. Sex differences in phenotypic manifestation and gene transmission in the Romano-Ward syndrome. *Ann NY Acad Sci* 1992; 644: 142-56.
- [32] Hashiba K. Hereditary QT prolongation syndrome in Japan: genetic analysis and pathological findings of the conducting system. *Jpn Circ J* 1978; 42: 1133-50.
- [33] Zareba W, Moss AJ, Le Cessie S *et al*. Risk of cardiac events in family members of patients with long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1685-91.
- [34] Stramba-Badiale M, Locati EH, Martinelli A, Courville J, Schwartz PJ. Gender and the relationship between ventricular depolarisation and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings. *Eur Heart J* 1997; 18: 1000-6.
- [35] Makkar RR, Fromm BS, Steinman RT, Meissner MD, Lehmann MH. Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *JAMA* 1993; 270: 2590-7.
- [36] Lehmann MH, Hardy S, Archibald D, Quart B, MacNeil DJ. Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol. *Circulation* 1996; 94: 2535-41.
- [37] Drici MD, Burklow TR, Haridas V, Glazer RI, Woosley RL. Sex hormones prolong the QT interval and downregulate potassium channel expression in the rabbit heart. *Circulation* 1996; 94: 1471-4.
- [38] Li H, Chen Q, Moss AJ *et al*. New mutations in the KVLQT1 potassium channel that cause long-QT syndrome. *Circulation* 1998; 97: 1264-9.
- [39] Murray A, Donger C, Fenske C *et al*. Splicing mutations in KCNQ1: A mutation hot spot at codon 344 that produces In frame transcripts. *Circulation* 1999; 100: 1077-84.
- [40] Roden DM. Taking the 'idio' out of 'idiosyncratic': predicting torsades de pointes [editorial]. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21: 1029-34.
- [41] Roden DM, Woosley RL, Primm RK. Incidence and clinical features of the quinidine-associated long QT syndrome: implications for patient care. *Am Heart J* 1986; 111: 1088-93.
- [42] Hohnloser SH, Woosley RL. Sotalol. *N Engl J Med* 1994; 331: 31-8.
- [43] Stambler BS, Wood MA, Ellenbogen KA, Perry KT, Wakefield LK, Vanderlugt JT. Efficacy and safety of repeated intravenous doses of ibutilide for rapid conversion of atrial flutter or fibrillation. Ibutilide Repeat Dose Study Investigators. *Circulation* 1996; 94: 1613-21.

-
- [44] Bexton RS, Vallin HO, Camm AJ. Diurnal variation of the QT interval — influence of the autonomic nervous system. *Br Heart J* 1986; 55: 253–8.
- [45] Browne KF, Prystowsky E, Heger JJ, Chilson DA, Zipes DP. Prolongation of the Q-T interval in man during sleep. *Am J Cardiol* 1983; 52: 55–9.
- [46] Hirao H, Shimizu W, Kurita T *et al.* Frequency-dependent electrophysiologic properties of ventricular depolarisation in patients with congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1269–77.
- [47] Merri M, Moss AJ, Benhorin J, Locati EH, Alberti M, Badilini F. Relation between ventricular depolarisation duration and cardiac cycle length during 24-hour Holter recordings. Findings in normal patients and patients with long QT syndrome. *Circulation* 1992; 85: 1816–21.
- [48] Neyroud N, Maison-Blanche P, Denjoy I *et al.* Diagnostic performance of QT interval variables from 24-h electrocardiography in the long QT syndrome. *Eur Heart J* 1998; 19: 158–65.

3. Article 3

Measurement of potassium concentration in salivary and sweat fluids as a screening test for the long QT1 syndrome.

Lande G, Dudouet D, Escande D.

***Int J Cardiol.* 2001;77:323-4.**

L'expression phénotypique du syndrome du QT long peut être mineure chez un grand nombre de patients, bien que ceux-ci restent à risque de troubles du rythme ventriculaire. La mise au point d'un outil diagnostique performant, c'est à dire rapide et sensible, comporte des implications cliniques importantes dans la prévention des syncopes, voire de la mort subite, chez ces patients.

Dans la mucoviscidose, la mesure de la concentration en chlore de la sueur est un outil diagnostique de pratique courante.

Les canaux potassiques KvLQT1, dont les mutations correspondent à environ 50% des syndromes du QT long, sont exprimés dans les épithéliums des glandes sudorales et salivaires. Nous avons donc testé la valeur diagnostique de la mesure de concentration potassique dans la sueur et dans la salive chez des patients atteints du syndrome du QT long de type 1, en présence ou non (porteurs sains) d'un allongement de l'intervalle QTc.

Nous avons montré qu'il n'existe aucune différence significative de taux de potassium, tant dans la sueur que dans la salive, chez les patients en comparaison d'un groupe contrôle apparié en âge et en sexe.

L'invalidité du test à la sueur ou à la salive dans le diagnostic des patients atteints du syndrome du QT long de type 1 est probablement liée à une fonctionnalité suffisante des protéines non mutées pour assurer un taux de potassium suffisant dans ces fluides.



Letter to the Editor

Measurement of potassium concentration in salivary and sweat fluids as a screening test for the long QT1 syndrome

Gilles Lande^{*}, Danièle Dudouet, Denis Escande

INSERM U 533, Hôpital Hôtel-Dieu, CHU, 44035 Nantes, France

Received 24 October 2000; accepted 17 November 2000

The long QT syndrome is a genetic disease, inherited most often as an autosomal dominant trait, and characterised by a prolonged QTc interval on the surface ECG eventually leading to ventricular arrhythmias, syncope and sudden death [1]. In more than 50% of the cases, long QT syndrome relates to mutations in *KCNQ1* (long QT1 syndrome), a gene encoding cardiac and epithelial KvLQT1 potassium channels [2]. Genetically affected patients often present a minor or no phenotype [3]. As yet, no practical clinical diagnostic test is available to identify these patients who are likely at risk for drug-induced arrhythmias [3]. In cystic fibrosis, another genetic disease related to mutation in an epithelial ion channel, the presence of a mutated protein in exocrine glands leads to abnormal sweat chloride concentration, which has established as a standard screening test [4]. Because KvLQT1 potassium channel also expresses in human salivary and sweat glands [2], we hypothesised that a defect in KvLQT1 could alter in some way the potassium concentration in salivary and sweat fluids, leading to a simple clinical screening test.

A large long QT syndrome French family related to a *KCNQ1* mutation was recruited in which gene carriers had either normal ($n=3$) or long ($n=11$) QTc interval (>440 ms according to Bazett's formula). Age of patients and controls ($n=18$) were 30 ± 18 year (range: 8 to 65 year), and 35 ± 8 year (range: 26

to 51 year), respectively. Sex ratio was 1 in both groups. Mixed saliva was collected without stimulation at least 2 h after lunch by dribbling 2–3 ml into a tube. Centrifugation was performed to remove exogenous materials, and supernatant was 1:3 diluted for measurements. A quantitative pilocarpine iontophoresis test was performed at the same time to collect 30–90 μ l (mean $\pm$ S.D.: 45 ± 21 μ l) of sweat (Macroduct, Wescor Inc., Logan, Utah) [5]. Time of stimulation and collection were 5 and 40 min, respectively. Samples were kept at a temperature of 4°C until analysis. Measurements of potassium concentration in the fluids were performed using flame photometry (Eppendorf 6341; Roucaire Ltd., France). An average of at least 3 measurements was performed. Comparisons were conducted using multifactorial covariance analysis with potassium concentration as the dependent variable, and disease, age, and gender as independent factors ($P<0.05$ considered as significant). Long QT1 syndrome patients and controls were not significantly different for potassium concentrations whether in saliva (21.9 ± 7.6 mEq/l, and 20.6 ± 7.5 mEq/l, respectively), or sweat (9.5 ± 2.3 mEq/l, and 9.4 ± 3.3 mEq/l, respectively). Similar results were obtained when gene carriers with normal QTc intervals were excluded from the analysis.

Increasing data suggest that patients exposed to the risk of drug-induced ventricular arrhythmias have an underlying genetic predisposition related to the long QT syndrome. Accordingly, diagnosing a long QT

^{*}Corresponding author.

syndrome patient with normal QTc interval remained an unresolved clinical challenge. We showed that measurement of the potassium concentration in salivary and sweat fluids is not a suitable screening test to identify patients with long QT1 syndrome. In these patients, we assume that the amount of functional KvLQT1 channel proteins encoded by the normal allele is sufficient for the salivary and sweat glands to remain unaffected.

References

- [1] Viskin S. Long QT syndromes and torsade de pointes. *Lancet* 1999;354:1625–33.
- [2] Yang WP, Levesque PC, Little WA, Conder ML, Shalaby FY, Blum MA. KvLQT1, a voltage-gated potassium channel responsible for human cardiac arrhythmias. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4017–21.
- [3] Donger C, Denjoy I, Berthet M et al. KvLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. *Circulation* 1997;96:2778–81.
- [4] Stem RC. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997;336:487–91.
- [5] Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994;124:255–60.

4. Article 4

Paramyotonia congenita with an SCN4A mutation affecting cardiac repolarization.

Pereon Y, Lande G, Demolombe S, Nguyen The Tich S, Sternberg D, Le Marec H, David A.

***Neurology*. 2003;60:340-2.**

La paramyotonie congénitale est une maladie autosomique dominante touchant les muscles striés squelettiques, et liée à des mutations dans SCN4A. Bien que l'atteinte cardiaque ne fasse pas partie du syndrome, nous avons retrouvé des anomalies de la repolarisation ventriculaire (modifications de la morphologie de l'onde T) dans une famille comportant 4 sujets atteints. L'expression de SCN4A a été confirmée au niveau cardiaque par technique de RT-PCR.

Bien que la survenue de syncopes ou de troubles du rythme ventriculaire ne fasse pas partie de la paramyotonie congénitale, l'existence de troubles de la repolarisation doit inciter à la vigilance dans la prescription de médicaments arythmogènes, en particulier des bloqueurs de HERG.

thy is not known. Common sense suggests that "diseased nerves" may be more vulnerable to toxic nerve injury. An analogy might be found in the enhanced vulnerability with "double-crush" injuries. Some of the toxic drugs affect axoplasmic transport and others may affect nerve excitability by altering ion conduction of the axon or Schwann cells. In nerves with functional or structural compromise, either mechanism could potentially be detrimental at a lower dose.

References

1. Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol* 2002;249:9-17.
2. Hilfens PH, van den Bent MJ. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 1997;350-361.
3. Cornblath DR, Chaudhry V, Carter K, Lee D, Seyedsadr M, Miernicki M, et al. Total Neuropathy Score: validation and reliability study. *Neurology* 1999;53:1660-1664.
4. Chaudhry V, Rowinsky EK, Sartorius SE, Donehower BC, Cornblath DR. Peripheral neuropathy from Taxol and cisplatin combination chemotherapy: clinical and electrophysiological studies. *Ann Neurol* 1994;35:304-311.
5. Cuddy EB, Jelliffe AM, Le Quang PM, Elliott YL. Vincristine neuropathy: clinical and electrophysiological observations. *Brain* 1973;96:69-86.
6. Hildebrandt G, Haller E, Wasmuth M, et al. Acute deterioration of Charcot-Marie-Tooth disease 1A (CMT 1A) following 2 mg of vincristine chemotherapy. *Ann Oncol* 2000;11:743-747.
7. Iguchi M, Thompson EI, Rivera GK. Vincristine neuropathy in type 1 and type 2 Charcot-Marie-Tooth disease (hereditary motor sensory neuropathy). *Med Pediatr Oncol* 1995;25:115-118.
8. Calabrese L, Fleischer AB. Thalidomide: current and potential clinical applications. *Am J Med* 2000;108:487-495.
9. Wulff CH, Hoyer H, Achse-Hansen G, Brodthagen H. Development of polyneuropathy during thalidomide therapy. *Br J Dermatol* 1985;112:475-480.
10. Chaudhry V, Cornblath DR, Corso AM, Freeman M, Simmons-O'Brien E, Vagstad G. Thalidomide-induced neuropathy. *Neurology*, in press.

Paramyotonia congenita with an SCN4A mutation affecting cardiac repolarization

Y. Périon, MD, PhD; G. Lande, MD; S. Demolombe, PhD; S. Nguyen The Tich, MD; D. Sternberg, MD; H. Le Marec, MD, PhD; and A. David, MD

Abstract—Paramyotonia congenita (PC) is linked to mutations of the skeletal muscle voltage-gated sodium channel α -subunit gene *SCN4A*. The authors report a family where the proband and three of her four children have PC (mutation R1448C) and present repolarization abnormalities at electrocardiogram. They demonstrate that the *SCN4A* α -subunit gene is expressed in normal human heart. Cardiac consequences of mutations of the *SCN4A* gene may be insignificant in standard conditions, but critical if patients with PC are treated with drugs inducing QT prolongation.

NEUROLOGY 2003;60:340-342

Paramyotonia congenita (PC) is an autosomal dominant disease characterized by painless stiffness (myotonia) that occurs upon exposure to cold or after strenuous exercise. PC has been linked to mutations of the skeletal muscle voltage-gated sodium channel α -subunit gene *SCN4A*.

No cardiac complication usually occurs in patients with PC and expression of the *SCN4A* gene seems to be restricted to skeletal muscle.¹ However, we report a family where the proband and three of her four children have PC (mutation R1448C) and present repolarization abnormalities. Moreover, we demonstrate that the skeletal muscle voltage-gated sodium channel α -subunit gene is expressed in normal hu-

man heart, suggesting a potential relationship between electrocardiogram (EKG) abnormalities and *SCN4A* mutation.

Case report. The proband is a 36-year-old woman with muscle stiffness, cramps, and attacks of weakness occurring in cold conditions. She initially noted the symptoms early in her childhood but did not worry as these symptoms were part of her family history (see the supplementary pedigree at www.neurology.org). She approached us in order to obtain some relief for three of her four children, who had the same symptoms. Careful history and physical examination revealed the same pattern in the woman and her three affected children, mainly with a hand myotonia induced by grip or percussion, primarily after cold exposition was tested in the laboratory. In addition, her oldest daughter had muscular hypertrophy. No other anomaly was clinically noted and none of these patients had cardiac symptoms.

All five subjects underwent a 12-lead standard EKG recording. None of them was taking medication at the time of the study. The QT interval duration was determined from the onset of the QRS complex to the end of the T wave, defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal downslope of

Additional material related to this article can be found on the Neurology Web site. Go to www.neurology.org and scroll down the Table of Contents for the January 28 issue to find the title link for this article.

From the Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles (Drs. Périon and Nguyen The Tich), Hôpital-Dieu, Nantes; INSERM U533 (Drs. Périon, Lande, Demolombe, and Le Marec), Faculté de Médecine, Nantes; Service de Biochimie B (Dr. Sternberg), Hôpital de la Salpêtrière, Paris; and Service de Génétique Clinique (Dr. David), Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Nantes, France.

Received May 10, 2002. Accepted in final form August 28, 2002.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Yann Périon, Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital-Dieu, University Hospital, F-44093 Nantes cedex, France; e-mail: Yann.Perion@nantes.inserm.fr.

340 Copyright © 2003 by AAN Enterprises, Inc.

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table QT interval measurement on standard 12-lead electrocardiogram

Subject	Age, y	QT, ms	RR, ms	QTc, ms
III-1*	36	410	930	425
IV-1*	11	380	790	428
IV-2*	9	380	720	448
IV-3*	8	380	700	454
IV-4	5	340	630	428

Subject numbers correspond to the pedigree shown in the online figure (www.neurology.org). Measurements are performed in lead V2.

* Abnormal muscular pattern.

RR = cycle length; QTc = Bazett corrected QT interval.

the T wave. The mean of two consecutive QT intervals was measured in lead V2. Correction of the duration of the QT interval as a function of cycle length was performed using Bazett formula ($QTc = QT/\sqrt{RR}$). Considering that no universally acceptable range of normal QTc values has ever been published or proposed, we used the common 440 msec value as the normal upper limit for the corrected QT interval.

Two of the four affected members had a slightly prolonged QTc interval (table). However, all the affected members shared an abnormal T wave pattern. The normal T wave shape is characterized by a descending limb steeper than the ascending limb. In contrast, affected members presented a reverse T wave pattern, with an ascending limb steeper than the descending limb or a notched T-wave (figure 1).

Single-strand conformational polymorphism (SSCP) detection and direct sequencing of the *SCN4A* gene from blood samples of the proband and her oldest child revealed the R1448C heterozygous mutation in exon 24 of *SCN4A*³ (see supplementary figure E2 at www.neurology.org).

SCN4A gene expression. Paravertebral muscles were obtained from two patients undergoing spine surgery with no neuromuscular disease history. Human heart tissues from three explanted hearts were used. Aorta tissue was also obtained from four patients. Samples were quick-frozen in liquid nitrogen and total RNA was isolated separately from each sample. Expression of the *SCN4A* skeletal and *SCN5A* and *SCN6A* cardiac sodium channel α -subunits was investigated using reverse transcription (RT)-PCR. RT-PCR clearly detected the skeletal muscle sodium channel α -subunit mRNA in both skeletal muscle and heart (figure 2). As expected, the signal intensity specific for *SCN4A* was higher in skeletal muscle than in cardiac tissues. Expressed as a percentage of skeletal muscle expression level, *SCN4A* reaches about 27% in the right ventricle and 30% in the left ventricle. *SCN5A* seems to be more expressed in cardiac tissues as compared to skeletal muscle. No significant signal was obtained in aorta.

Details about SSCP detection and sequencing of the *SCN4A* gene, RNA isolation, and RT-PCR procedures are provided on the *Neurology* Web site ([go to www.neurology.org](http://www.neurology.org)).

Discussion. The mutation found in the family resulted in the substitution of a highly conserved arginine residue with cysteine (R1448C).³ The 1448 arginine residue is the most extracellular positively charged amino acid within the fourth transmembrane segment of domain D4 of the channel. R1448 mutations are responsible for significant slowing of inactivation, accelerated recovery from inactivation, or shifts in steady-state inactivation, accounting for muscle fiber depolarization. Specifically, R1448C channels recover faster from inactivation than normal channels at potentials less than -60 mV.⁴

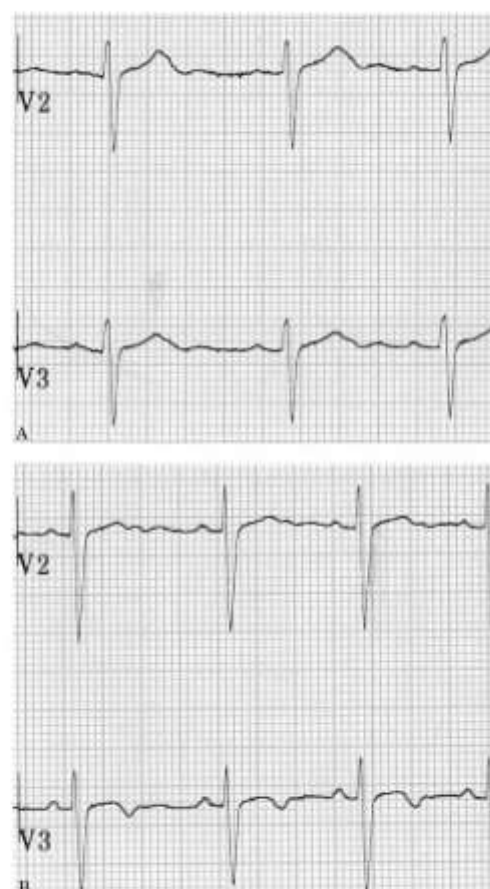


Figure 1. Reverse T wave pattern in affected members: standard V2 and V3 lead electrocardiogram recorded in the proband (A) and her older daughter (B). Note the reverse T wave pattern, with an ascending limb steeper than the descending limb and a hump in the descending limb.

Therefore, the entry into inactivated states will be more frequent for R1448C channels than normal ones, and hence a greater degree of steady state inactivation.

Affected members of this family presented an abnormal T wave pattern and QTc interval was prolonged in two of them. Prolonged QT is an electrophysiologic feature of the long-QT syndromes (LQTS), characterized by labile QT interval changes, syncope, and sudden death due to arrhythmias.⁴ LQTS are caused by mutations in specific ion channels. Five LQTS genes have been identified so far, including cardiac sodium channel *SCN5A* responsible for LQT3 variant. Mutations of *SCN5A* gene cause a sustained noninactivating sodium current, amounting to a few percent of the peak inward so-

January (2 of 2) 2002 NEUROLOGY 60 311

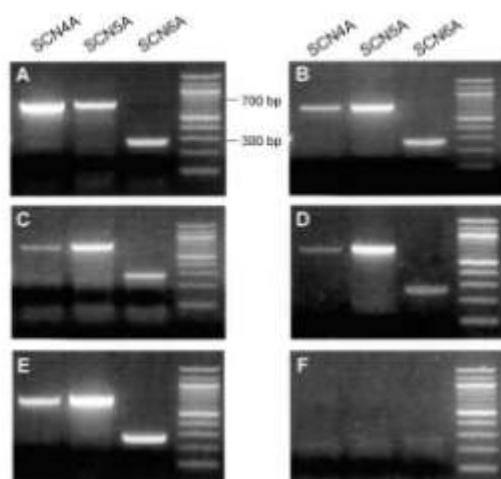


Figure 2. Detection of skeletal muscle sodium channel α -subunit (SCN4A) in human skeletal muscle (A), heart ventricles (B, left ventricle; C, right ventricle), auricle (D), and septum (E). Aorta (F) was used as negative control. SCN5A and SCN6A, the cardiac sodium channels, were used as positive controls. Representative ethidium bromide staining of the reverse transcription-PCR products electrophoresed on a 2% agarose gel. The lanes display 693-, 713-, and 278-bp products representative of SCN4A, SCN5A, and SCN6A. On the right are ladder markers.

dium current, with changes in the voltage dependence and rate of inactivation as well as in the rate of recovery from inactivation.⁴ In addition, patients with LQTS may exhibit abnormal T wave morphology and notched T waves have even been included in diagnostic criteria.⁶

The current work demonstrates that the skeletal muscle sodium channel SCN4A gene is also expressed in the heart. It was initially reported that SCN4A gene was expressed in adult skeletal muscle but not in heart.¹ However, gene expression was assessed using northern blot analysis whose sensitivity is known to be low. Here, RNA isolation was performed from heart muscle, and it could be proposed that nonmuscle cells (vascular smooth muscle cells) could be responsible for the expression of the gene. However, we did not detect the skeletal muscle sodium channel on aorta samples. Thus, it is likely that heart muscle fibers are the cells that express this gene. Similar data recently have been reported in mice.⁷

SCN4A gene mutations associated with paramyotonia phenotype actually involve gain of function

mechanisms very close to those observed in SCN5A gene mutation. The latter may also present decrease in the stability of inactivation,⁸ slowing the rate of inactivation by prolonging the duration of individual channel openings. If one hypothesizes that the SCN4A channel, being weakly but significantly expressed in heart muscle, contributes to the action potential, it is likely that QT abnormalities encountered in our patients are linked to SCN4A-defective inactivation in heart.

So far, no cardiac complication has been reported in patients with PC. A large variety of nonantiarrhythmic drugs (antihistaminics, psychiatric drugs, antibiotics) share the property of blocking the cardiac potassium channel human ether-a-go-go-related gene (HERG), a major current in ventricular repolarization.⁹ These drugs may induce the so-called drug-induced LQTS, which potentially leads to ventricular arrhythmias (torsade de pointes) and sudden death. However, genetic defects yielding to subtle abnormality or prolongation of ventricular repolarization could lower the threshold for the development of drug-induced LQTS.¹⁰

PC is a neuromuscular channelopathy that might also affect cardiac repolarization because of cardiac expression of the SCN4A gene. Clinicians and PC-affected patients should become aware of the proarrhythmic effects of HERG-blocking drugs, and take precautions to minimize these effects.

Acknowledgment

Yann Péron and Damien Sternberg are members of RESO-CANAU, whose contribution to this work is acknowledged.

References

- George AL Jr, Kammerer J, Kallen RO, Easch RL. Primary structure of the adult human skeletal muscle voltage-dependent sodium channel. *Ann Neurol* 1992;31:181-187.
- Pfaffek LJ, George AL Jr, Easch RL, et al. Mutations in an S4 segment of the adult skeletal muscle sodium channel cause paramyotonia congenita. *Neuron* 1992;8:891-897.
- Yang N, Ji S, Zhou M, et al. Sodium channel mutations in paramyotonia congenita exhibit similar biophysical phenotypes in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:12785-12789.
- Roden DM, Snyman PH. Inherited long QT syndromes: a paradigm for understanding arrhythmogenesis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;10:1664-1683.
- Wang DW, Yanawa K, George AL Jr, Bennett PB. Characterization of human cardiac Na⁺ channel mutations in the congenital long QT syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:18300-18305.
- Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. *Circulation* 1993;88:782-784.
- Zimmer T, Bellenckhoff C, Haufe V, Birch-Hirschfeld E, Benndorf K. Mouse heart Na⁺ channels: primary structure and function of two isoforms and alternatively spliced variants. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;283:H1007-1017.
- Bennett PB, Yanawa K, Makita N, George AL Jr. Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia. *Nature* 1996;381:688-690.
- Hevinkamp W, Breithardt G, Camm AJ, et al. The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Failure Conference of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2000;47:212-223.
- Prini SO, Napolitano C, Schwartz PJ. Low penetrance in the long QT syndrome: clinical impact. *Circulation* 1998;99:679-688.

5. Article 5

Abnormalities of cardiac repolarization in multiple sclerosis: relationship with a model of allergic encephalomyelitis in rat.

Drouin E, Nataf S, Lande G, Louboutin JP.

***Muscle Nerve.* 1998;21:940-2.**

La sclérose en plaques est souvent associée à une dysautonomie neurovégétative. Le système nerveux autonome fait partie des déterminants de la repolarisation ventriculaire. Nous avons recherché l'existence de troubles de la repolarisation chez des patients atteints de sclérose en plaque, ainsi que dans un modèle animal de cette pathologie, l'encéphalomyélite allergique acquise du rat.

Nous avons pu observer, tant chez les patients, que dans le modèle animal, un allongement significatif de la repolarisation ventriculaire, par rapport à un groupe témoin. Bien que la survenue de syncopes ou de troubles du rythme ventriculaire ne fasse pas partie de la sclérose en plaques, l'existence de troubles de la repolarisation doit inciter à la vigilance dans la prescription de médicaments arythmogènes, en particulier des bloqueurs de HERG.

Commentaire.

Deux articles plus récents ont confirmé le lien entre des maladies neurologiques dégénératives comportant une atteinte du système nerveux autonome, et l'existence de troubles de la repolarisation.

Le premier concerne aussi la sclérose en plaques (681). Les auteurs confirment l'existence d'un allongement de l'intervalle QTc dans cette pathologie. Grâce à la technique de résonance magnétique nucléaire, ils établissent un lien entre l'allongement de l'intervalle QTc et l'existence d'une diminution du cordon médullaire. L'allongement de l'intervalle QTc serait donc secondaire à une diminution du pool d'axones, plutôt qu'à un phénomène de démyélinisation.

Le deuxième concerne la maladie de Parkinson et les syndromes apparentés, dont on sait qu'ils comportent également une dysautonomie neurovégétative (682). Il existe également dans ce type de syndromes un allongement de l'intervalle QTc. Il existe cependant une discordance partielle entre le niveau d'allongement de l'intervalle QTc et les résultats des tests visant à quantifier la dysautonomie neurovégétative.

SHORT REPORT

ABSTRACT: Ventricular repolarization was investigated for the first time in 48 multiple sclerosis (MS) patients using measurement of QTc interval on standard electrocardiographic recordings. The repolarization process was prolonged significantly in MS compared to control subjects ($P = 0.0001$). This result was confirmed with an animal model of MS, i.e., the experimental allergic encephalomyelitis in rat. The contribution of prolonged QT to syncope attack or sudden cardiac death in MS patients need further investigation.

© 1998 John Wiley & Sons, Inc. *Muscle Nerve* 21: 940–942, 1998

ABNORMALITIES OF CARDIAC REPOLARIZATION IN MULTIPLE SCLEROSIS: RELATIONSHIP WITH A MODEL OF ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS IN RAT

EMMANUEL DROUIN, PhD,¹ SERGE NATAF, MD,² GILLES LANDE, MD,³ and JEAN-PIERRE LOUBOUTIN MD, PhD⁴

¹ Department of Pediatrics, University Hospital, Nantes, France

² Department of Neurology, University Hospital, Nantes, France

³ Department of Cardiology, Hôpital G-R Laënnec, Nantes, France

⁴ CjF Inserm 96-01, Hôpital G-R Laënnec, Nantes, France

Accepted 15 October 1997

An impairment of the autonomic nervous system (ANS) is often present in multiple sclerosis (MS) patients.¹⁰ Concerning ANS involvement, bladder, bowel, sexual, and sudomotor dysfunctions are the prominent clinical features of MS and are well documented.^{2,15,16} More recently, studies have dealt with cardiovascular ANS abnormalities in this disorder.^{2,17} Documentation of impaired sympathetic and parasympathetic reflexes of the cardiovascular system has been reported in MS patients via standard noninvasive tests. However, these studies have failed to demonstrate a relationship between the severity of the cardiovascular ANS abnormalities and the localization of brain stem lesions, even with magnetic resonance imaging.²

The association between ANS disorders and cardiac arrhythmias, especially prolongation of ventricular repolarization, has been well established by clinical and experimental studies.¹³ However, there

are very limited clinical reports about the association between ANS demyelination observed in MS patients and cardiac arrhythmias.¹⁴ Furthermore, to our knowledge, prolongation of the QT interval in MS has never been described. Thus, we compared QTc interval of 48 MS patients to matched control subjects using 12-lead electrocardiographic (ECG) recordings.

Experimental allergic encephalomyelitis (EAE) is considered to be an instructive animal model for MS studies.^{1,11} In this way, we measured the QTc interval in both treated EAE female Lewis rats and control female Lewis rats.

MATERIALS AND METHODS

Population. The population was composed by two sex- and age-matched groups. The MS group included 48 patients (10 males and 38 females) aged 51 ± 14 years (range 19–73 years), whereas the control (C) group included 48 healthy subjects (10 males and 38 females) aged 49 ± 15 years (range 18–74 years). MS and C subjects were not on medication likely to influence ANS or QT interval. No cardiac disease could be detected by clinical examination. The patients had no other disease which could influence ANS, such as diabetes mellitus. Stan-

Key words: multiple sclerosis; QT interval; autonomic nervous system; experimental allergic encephalomyelitis

Correspondence to: Emmanuel Drouin, PhD, Department of Pediatrics, Hospital of Mother and Children, 10 quai Moncousu, 44035 Nantes Cedex, France

CCC 0148-639X/98/070940-03
© 1998 John Wiley & Sons, Inc.

dard biological examination was normal in all patients. The neurological state of the patients was graded according to the Kurtzke disability status scale (KDSS).⁷

Chronic relapsing EAE in female Lewis rats (8–9 weeks old) was induced as previously described.^{5,11}

Measurement of the QT Interval. In patients, 12-lead ECG was recorded at a paper speed of 25 mm/s and 250 mm/s, respectively, in patients and rats. To reduce the influence of heart rate, QT intervals were corrected by use of the cubic root Fridericia formula: $QTc = QT/(RR)^{1/3}$ (RR expressed in seconds, for which the upper normal limit is 440 ms).

Statistical Analysis. RR, QT, and QTc interval durations are presented in mean $\pm$ standard deviation. Statistical comparison of results was performed using the Wilcoxon signed-rank test for paired data and the Mann-Whitney *U* test for nonpaired data. A *P* value less than 0.05 was considered significant.

RESULTS

Patients. All the MS patients were in sinus rhythm. ECG parameters for the MS group (*n* = 48) and the control group (*n* = 48) are shown in Table 1. RR interval did not differ significantly, but QTc interval was longer in MS than in the control group (*P* = 0.001).

Thirteen patients (27% of the population), 3 males and 10 females, had a prolonged QTc interval, whereas none had a prolonged QT in the control group. Besides, the morphology of T wave was unusual in some cases in the subgroup of MS patients with ventricular repolarization prolongation. Among these 13 patients with long QTc interval (LQT), 7 were progressive MS (KDSS: 5.1 ± 2.4) and 6 were remitting (KDSS: 2.5 ± 1.3). There was no significant difference between the LQT subgroup and the other MS patients, concerning age (55.1 ± 8.7 versus 49.4 ± 14.0 years) and RR interval (Table 1).

Table 1. ECG characteristics in patients and rats.

	RR (ms)	QT (ms)	QTc (ms)
Patients			
Control (<i>n</i> = 48)	821 $\pm$ 111	365 $\pm$ 27	391 $\pm$ 24
MS (<i>n</i> = 48)	832 $\pm$ 151	396 $\pm$ 52*	423 $\pm$ 48*
Rats			
Control (<i>n</i> = 7)	150 $\pm$ 10	70 $\pm$ 3	131 $\pm$ 6
EAE (<i>n</i> = 7)	167 $\pm$ 24	103 $\pm$ 4*	188 $\pm$ 15*

Data are presented as mean $\pm$ SD. Abbreviations used are: RR, duration of RR interval; QT, duration of the QT interval; QTc, QT corrected by the Fridericia formula.
**P* < 0.05 vs. control.

EAE Lewis Rats. ECG parameters for the control group (*n* = 7) and the EAE group (*n* = 7) are shown in Table 1. RR interval did not differ significantly, whereas QTc interval was significantly longer in the EAE group (*P* < 0.002).

DISCUSSION

The main result of this study is to show a prolongation of the ventricular repolarization in some patients with MS.

QT interval prolongation was never reported in MS, but dysfunction of the ANS is often present.⁹ Valsalva maneuver, rhythmic deep breathing, and sustained isometric handgrip are merely three of many methods that have been used to assess cardiovascular ANS dysregulation of heart rate, as well as of arterial blood pressure. Sympathetic skin response appears also to be a simple and effective means of assessing sympathetic sudomotor outflow disturbances, providing a valuable additional test to current electrophysiological procedures to detect MS lesions. These tests⁹ have shown that sympathetic dysfunction is predominant over parasympathetic dysfunction.^{6,12} The involvement of the central vasomotor sympathetic nerve fibers might be due to spinal cord lesions affecting the intermediolateral cells columns.

Since vagal innervation of heart is normal but sympathetic activity is decreased in patients with high spinal cord lesions, basal heart rate is not increased⁸ as in our patients. Cardiovascular disturbances in MS have been attributed to brain stem lesions,¹⁷ and the ANS cardiovascular nuclei are located in the periventricular region of the fourth ventricle.¹²

In conclusion, the prolongations of QT interval described in some MS patients and in the EAE model were similar and probably involved the ANS in both situations. Indeed, in our MS population, all the patients with LQT showed clinical signs of medullar localization. On the other side, this might indicate that lesions in the branched supramedullary reflex pathways or in the spinal cord, affecting the intermediolateral cells columns, could account for the LQT.

Actually, in congenital LQT syndrome, ANS seems to play a major role in the genesis of arrhythmias, probably by creating a sympathetic innervation imbalance. As there is multiple evidence suggesting a critical role for ANS disturbance in the genesis of sudden cardiac death, especially in a context of a long QT interval, it should be reasonable to look at the QT duration in MS patients before beginning a pharmacologic treatment known to prolong cardiac

repolarization, such as tricyclic agents or antiarrhythmic drugs.

Contract grant sponsor: Association pour la Recherche sur la Sclérose en Plaques

REFERENCES

- Allegretta M, Nicklas JA, Sriram S, Albertini RJ: T cells responsive to myelin basic protein in patients with multiple sclerosis. *Science* 1990;247:718-721.
- Anema JR, Heijnenbroek MW, Faes TJC, Heimans JJ, Lanting P, Polman CH: Cardiovascular autonomic function in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1991;104:129-134.
- Elie B, Louboutin JP: Sympathetic skin response (SSR) is abnormal in multiple sclerosis. *Muscle Nerve* 1995;18:185-189.
- Ewing DJ, Clarke BF: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 1982;285:916-918.
- Feurer CD, Prentice DE, Cammisuli S: Chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis in the Lewis rat. *J Neuroimmunol* 1985;10:159-166.
- Karaszewski JW, Reder AT, Maselli R, Brown M, Arnason BGW: Sympathetic skin responses are decreased and lymphocyte beta-adrenergic receptors are increased in progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1990;27:366-372.
- Kurtzke JF: On the evaluation of disability in multiple sclerosis. *Neurology* 1961;11:686-694.
- Mathias CJ, Franckel HL: Autonomic failure in tetraplegia, in Bannister R (ed): *Autonomic Failure*. Oxford, Oxford University Press, 1983, pp 453-488.
- Matthews WB: Clinical aspects, in Matthews WS, Acheson ED, Batchelor JR, Weller RO (eds): *McAlpine's Multiple Sclerosis*. London, Churchill Livingstone, 1985, pp 49-280.
- McLeod JG, Tuck RR: Disorders of the autonomic nervous system: Part 1. Pathophysiology and clinical features. *Ann Neurol* 1987;21:419-430.
- Nataf S, Louboutin JP, Chabannes D, Fève JR, Muller JY: Pentoxifylline inhibits experimental allergic encephalomyelitis. *Acta Neurol Scand* 1993;88:97-99.
- Nordenbo AM, Boesen F, Andersen EB: Cardiovascular autonomic function in multiple sclerosis. *J Auton Nerv Syst* 1989;26:77-84.
- Rosen MR, Cynthia DJ, Steinberg S: Autonomic modulation of cellular repolarization and electrocardiographic QT interval. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1992;3:487-499.
- Scott W, Schroth SM, Tenner SC, Rappaport BA, Mani R: Multiple sclerosis as a cause of atrial fibrillation and electrocardiographic changes. *Arch Neurol* 1992;49:422-424.
- Senaratne M, Carroll D, Warren KG, Kappagoda T: Evidence for cardiovascular autonomic nerve dysfunction in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47:947-952.
- Thomaides TN, Zoukos Y, Chaudhuri KR, Mathias CJ: Physiological assessment of aspects of autonomic functions in patients with secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 1993;240:139-143.
- Vita G, Fazio MC, Milone S, Blandino A, Salvi L, Messina C: Cardiovascular autonomic dysfunction in multiple sclerosis is likely related to brainstem lesions. *J Neurol Sci* 1993;120:82-86.

II. L'EFFET DES MEDICAMENTS SUR LA REPOLARISATION VENTRICULAIRE

1. Article 6

Lande G, Drouin E, Gauthier C, Chevallier JC, Godin JF, Chiffolleau A, Le Marec H.
Effet arythmogène du chlorhydrate de sultopride: corrélation clinique et électrophysiologique.

***Ann Fr Anesth Reanim.* 1992;11:629-35.**

Cet article correspond à la première documentation publiée de l'effet arythmogène du chlorhydrate de sultopride. Ce produit, un neuroleptique de la classe des benzamides substitués (dont le chef de file est le sulpiride), a induit un allongement de l'intervalle QTc (réversible à l'arrêt du traitement) et des accès enregistrés de torsade de pointes, chez une patiente hospitalisée pour une crise d'asthme. L'étude électrophysiologique a démontré que cette molécule donnait lieu à un allongement du potentiel d'action ainsi qu'à des post-dépolarisations précoces.

Effets arythmogènes du chlorhydrate de sultopride : corrélation clinique et électrophysiologique cellulaire

Arrhythmogenicity of sultopride hydrochloride : correlation between the clinical picture and cellular electrophysiology

G. LANDE*, E. DROUIN**, C. GAUTHIER**, J.C. CHEVALLIER*, J.F. GODIN*, A. CHIFFOLEAU***, H. LE MAREC**

* Clinique cardiologique, Hôpital G et R Laënnec, 44035 Nantes

** Laboratoire de Cardiologie, URA-CNRS 1340, Universités de Nantes, 44035 Nantes

*** Centre Régional de Pharmacovigilance, CHU de Nantes, 44035 Nantes

RÉSUMÉ : Nous rapportons une étude électrophysiologique cellulaire qui permet d'illustrer le rôle favorisant du chlorhydrate de sultopride (neuroleptique de type benzamide substitué) dans la genèse de torsades de pointes constatées chez une patiente de 48 ans traitée au long cours par le chlorhydrate de sultopride. Les effets du chlorhydrate de sultopride ($0,2$; 2 ; $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) ont été étudiés sur des préparations isolées de fibres de Purkinje de furets maintenues dans une solution de Tyrode à température constante ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) et saturées par $\text{O}_2/\text{CO}_2 = 95/5\%$. A l'état basal ($\text{K}^+ : 4 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{Ca}^{++} : 2,7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), il n'apparaît pas de postdépolarisations précoces pour chacun des cycles de stimulation étudiés variant entre 1 000 et 10 000 ms. L'allongement des potentiels d'action est d'autant plus rapide et important que la dose est élevée. Toutes les fibres ($n = 9$) présentent des postpotentiels précoces et de l'activité déclenchée à partir de $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ pour des cycles de stimulation supérieurs à 4 000 ms. Ainsi, nous rapportons le premier cas documenté établissant une corrélation entre la prise de chlorhydrate de sultopride et la survenue de torsades de pointes. En effet, de nombreux arguments expérimentaux et cliniques font penser que les postdépolarisations précoces sont à l'origine de ce type de troubles du rythme cardiaque. L'emploi de cette molécule devra donc être d'autant plus prudent qu'il existe d'autres facteurs favorisant la survenue de torsades de pointes.

Mots-clés : CŒUR : arythmies, torsades de pointes, troubles du rythme cardiaque ; COMPLICATIONS : torsades de pointes ; ÉLECTROPHYSIOLOGIE : fibres de Purkinje ; EXPÉRIMENTATION ANIMALE : furet ; MÉDICAMENTS : neuroleptiques, sultopride.

INTRODUCTION

Les torsades de pointes [5, 9, 21] sont des troubles ventriculaires paroxystiques du rythme cardiaque survenant le plus souvent à l'occasion d'anomalies importantes de la repolarisation et dont le risque majeur est la transformation en fibrillation ventriculaire.

Un cas de torsades de pointes avec allongement de l'espace QT est rapporté chez une patiente traitée par le chlorhydrate de sultopride (Barnettil®) [15] pour une névrose hystérique. Ce médicament est un neuroleptique de synthèse couramment prescrit en psychiatrie lors d'états d'agitation [17] ou à l'occasion d'états psychotiques chroniques [16].

Madame B. est une patiente de race blanche, âgée de 48 ans, prise en charge depuis 25 ans dans

un hôpital psychiatrique dans un contexte de névrose hystérique nécessitant un traitement par chlorhydrate de sultopride à la dose journalière de 400 mg depuis sept ans et de 2 000 mg depuis six mois. Elle reçoit également un traitement substitutif depuis 1983 pour une hypothyroïdie et est traitée depuis 1987 par des bronchodilatateurs en raison d'une bronchite chronique posttabagique à composante spastique. Il n'existe pas d'antécédent personnel d'ordre cardiovasculaire. La repolarisation était normale en 1981 (espace QT mesuré à 360 ms pour une fréquence cardiaque à $82 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, soit un QT_c à 424 ms selon la formule de Bazett).

Le 17 juillet 1990, survient un épisode bronchospastique aigu qui, du fait de sa gravité, entraîne une hospitalisation en urgence dans un service de soins intensifs en Pneumologie. Le traitement

d'entrée associe quotidiennement *per os* : 2 000 mg de chlorhydrate de sultopride, 10 mg de diazépam (Valium®), 5 mg de trihexyphénidyle (Parkinane®), 75 µg de lévothyroxine sodique (Lévothyrox®), 5 mg de prednisolone (Solupred®) 20 mg de terbutaline (Bricanyl®) et 600 mg de théophylline (Théostat®).

L'existence de signes cliniques graves (troubles de la conscience, polypnée à $40 \text{ c} \cdot \text{min}^{-1}$, tirage, insuffisance ventriculaire droite) sous salbutamol (Salbumol®) ($6 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$ par voie i.v.) et une mesure des gaz du sang artériel objectivant un pH à 7,12 avec une Paco_2 à 15 kPa (soit 107 mmHg) et une PaO_2 à 26 kPa (soit 185 mmHg) nécessitent l'intubation et la ventilation de la patiente. La normalisation des gaz du sang artériel est acquise au bout de quatre heures. La fréquence cardiaque est régulière à $85 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$ et la pression artérielle est stable à 130/80 mmHg.

Vingt et une heures après son admission, alors que la situation pneumologique semble contrôlée, surviennent plusieurs épisodes syncopaux correspondant à des accès de tachycardies à complexes

larges de type torsades de pointes (fig. 1A), traités avec succès par des injections successives par voie i.v. de sulfate de magnésium (MgSO_4) en bolus de 2 g [3, 26, 27], à l'exception d'un accès qui se dégrade en fibrillation ventriculaire et nécessite un choc électrique externe.

Il est à noter que lorsque les troubles du rythme cardiaque sont apparus, la patiente a reçu de l'héparine calcique ($10\,000 \text{ UI} \times 3$ par voie s.c./j) du salbutamol ($1 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$ par voie i.v.), de l'hydrocortisone hémisuccinate ($50 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$ par voie i.v.), du flunitrazépam ($0,5 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$ par voie i.v. de Narcozep®) et du chlorure de potassium ($6 \text{ g} / 24 \text{ h}$ par voie i.v.). On note rétrospectivement que la kaliémie est normale, tant à l'arrivée dans le service ($4,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), que lors des épisodes de torsades de pointes ($4,3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ; vingt et une heures après l'admission (j1), on mesure sur l'ECG un espace QT à 500 ms pour une fréquence cardiaque à $108 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, soit un QT_C à 668 ms (d'après la formule de Bazett) et un QT_C théorique à 300 ms ; le bilan thyroïdien est normal sous lévothyroxine sodique.

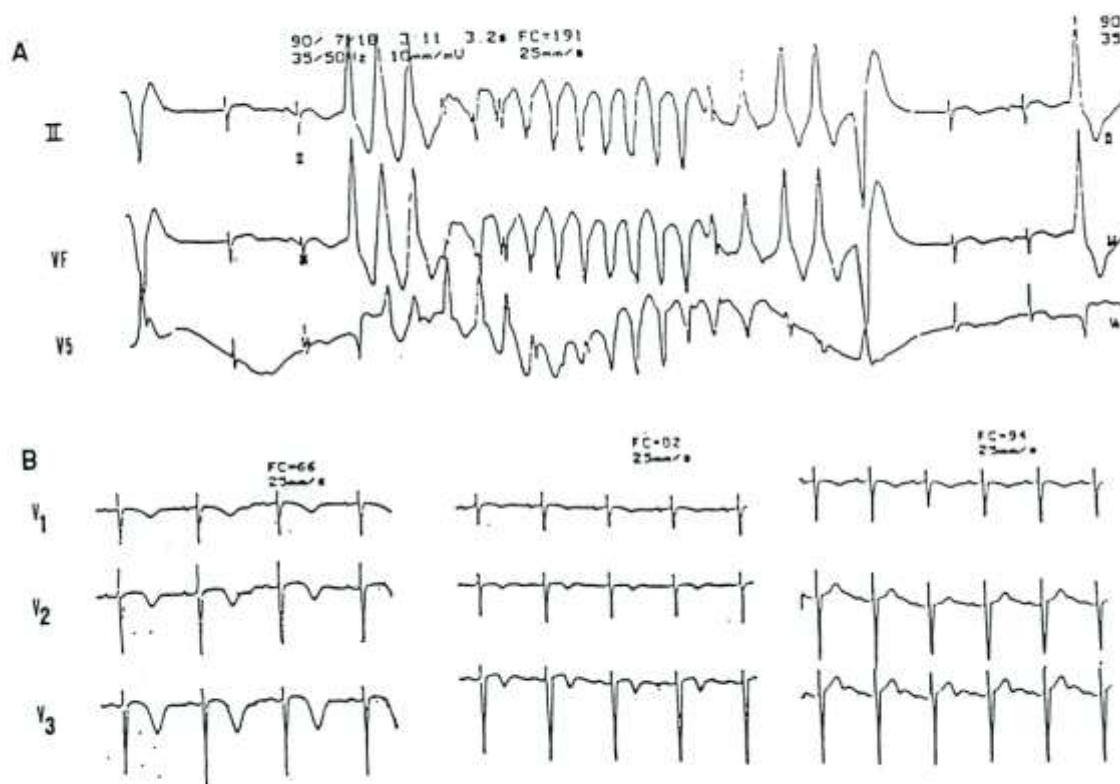


Fig. 1. — A : Episode de torsades de pointes. B : Evolution de l'intervalle QT en fonction du temps : à gauche, j4 (QT = 520 ms, fréquence cardiaque à $66 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, $\text{QT}_C = 548 \text{ ms}$ selon la formule de Bazett) ; au centre, j7 (QT = 340 ms, fréquence cardiaque à $82 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, $\text{QT}_C = 397 \text{ ms}$ selon la formule de Bazett) ; à droite, huit mois après l'épisode (QT = 300 ms, fréquence cardiaque à $94 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, $\text{QT}_C = 381 \text{ ms}$ selon la formule de Bazett).

L'évolution des troubles du rythme cardiaque est favorable en quelques heures sous perfusion continue de MgSO_4 à la dose de $10 \text{ g} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$. Le salbutamol est arrêté progressivement le 20 juillet, compte tenu de l'amélioration clinique, et l'extubation est réalisée. Le 21 juillet (j4), le QT est mesuré à 520 ms pour une fréquence cardiaque à $66 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, soit un QT_c à 548 ms (formule de Bazett) et un QT_c théorique à 370 ms . Le chlorhydrate de sultopride est arrêté le 22 juillet. Deux jours plus tard (j7), l'espace QT est normalisé (mesuré à 340 ms pour une fréquence cardiaque à $82 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$, soit un QT_c à 397 ms selon la formule de Bazett), mais il persiste des ondes T négatives en V1, V2, V3 (fig. 1B).

Le traitement de sortie associe quotidiennement, par voie buccale, chlorure de potassium ($1\ 200 \text{ mg}$), prednisolone (5 mg), lévothyroxine sodique ($75 \mu\text{g}$), trihexyphénidyle (5 mg), et salbutamol (4×2 bouffées). La surveillance à six mois permet de constater la stabilité clinique sur le plan pneumologique, l'absence de récurrence du trouble du rythme ainsi que l'existence d'un espace QT normal. On note la persistance d'une onde U dans les dérivations précordiales (fig. 1B), déjà notée en 1989, qui cependant a disparu sur l'ECG de décembre 1991.

Or, on ne reconnaît pas, dans la liste de médicaments prescrits, un produit susceptible de provoquer de tels troubles du rythme. En revanche, plusieurs publications font état de cas isolés de torsades de pointes, ou de mort subite, avec des neuroleptiques de la famille des phénothiazines [12] ou des butyrophénones [11, 13]. Enfin, la littérature est muette sur le rôle arythmogène des neuroleptiques de la famille des benzamides substitués, à laquelle appartient le chlorhydrate de sultopride.

Le but de ce travail est donc d'étudier les effets du chlorhydrate de sultopride sur la repolarisation du potentiel d'action de fibres de Purkinje de cœur de furet en utilisant la technique de la microélectrode.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les effets du chlorhydrate de sultopride sont étudiés à l'aide de la technique des microélectrodes standards fixes [19], permettant un empallement prolongé, sur des préparations isolées de fibres de Purkinje de furets mâles adultes. Le potentiel transmembranaire est enregistré à partir de microélectrodes remplies de KCl (3 mol) et d'impédance de 20 à $30 \text{ M}\Omega$ connectées à un amplificateur (VF 102-Biologic) à haute impédance d'entrée et possédant un dispositif de compensation des capacités parasites. Le signal amplifié est réparti sur un oscilloscope numérique quatre voies (Gould 1604) en relation avec une table traçante (Gould 6300) par une interface IEEE 488, sur un enregistreur thermique (Gould 8188) et sur un magnétoscope vidéo par l'intermédiaire d'une interface PCM (Sony 501). L'analyse des paramètres électrophysiologiques est réalisée ultérieurement à partir des bandes d'enregistrement visuali-

sées sur l'oscilloscope numérique. Les mesures sont obtenues manuellement, par l'intermédiaire d'un curseur, sur un potentiel d'action non moyenné à l'état stable. Les furets sont anesthésiés à l'éther; le cœur est prélevé après thoracotomie médiane [3] et rapidement placé dans une solution de Tyrode normale contenant $131 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de NaCl, $18 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de NaHCO_3 , $1,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de NaH_2PO_4 , $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de MgCl_2 , $2,7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de CaCl_2 , $4 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de KCl, $5,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de glucose et $1,1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ de mannitol ($\text{pH} = 7,35$). Les faisceaux de fibres de Purkinje isolés du ventricule gauche sont montés dans la cuve expérimentale et perfusés par la solution de Tyrode saturée par un mélange de 95% d' O_2 et 5% de CO_2 . La température est maintenue à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Afin de stabiliser les préparations, les faisceaux de fibres sont stimulés à l'aide d'un cardio-stimulateur orthorhythmique (Savita) à une durée de cycle de stimulation basale de $1\ 000 \text{ ms}$ pendant 1 à 2 heures avec des impulsions rectangulaires de $1,5 \text{ ms}$ et d'intensité égale à deux fois le seuil de stimulation, par l'intermédiaire d'une électrode bipolaire en argent recouverte de téflon, excepté à la pointe.

Protocole expérimental

Chaque fibre ($n = 9$) est étudiée d'abord en présence de solution de Tyrode normale puis sous trois concentrations successives de chlorhydrate de sultopride ($5,6 \times 10^{-7}$; $5,6 \times 10^{-6}$; $5,6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$; soit $0,2$; 2 ; $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$; soit D_1 , D_2 , D_3). Pour chaque concentration, l'état stable est atteint en stimulant les fibres à une fréquence de cycle de $1\ 000 \text{ ms}$ pendant 30 minutes. A la fin de la période de stabilisation, un protocole de stimulation est appliqué; il consiste en des séquences successives de stimulation d'environ deux minutes pour obtenir l'état stable, à des cycles de $1\ 000$ puis $2\ 000$, $3\ 000$, $4\ 000$, $5\ 000$, $6\ 000$ et $10\ 000 \text{ ms}$.

Les effets du chlorhydrate de sultopride sont étudiés sur le déroulement du potentiel d'action (PA) en fonction de la fréquence de stimulation. A l'état stable pour les différents cycles de stimulation, la durée (ms) du potentiel d'action à 90% de la repolarisation (DPA 90) est mesurée. Lors de la stimulation à un cycle de $1\ 000 \text{ ms}$, le potentiel (mV) diastolique maximal (PDM), la vitesse maximale de dépolarisation (mV) de la phase 0 du PA (V_{max}) et la DPA 90 sont mesurés. On recherche la présence de postdépolarisations précoces (PDP) que CRANFIELD définit comme une dépolarisation du potentiel de membrane qui apparaît avant la repolarisation complète et entraîne une interruption ou un retard dans la repolarisation cellulaire [6, 7]. Cette définition est d'abord appliquée à la phase 3 du potentiel d'action; c'est-à-dire pour des potentiels membranaires d'environ -60 mV ; ces PDP sont dites de haut seuil. Les PDP peuvent aussi apparaître à la fin de la phase 2 du potentiel d'action, c'est-à-dire pour des potentiels de -30 mV ; ces PDP sont dites de bas seuil. On recherche également la survenue d'activité déclenchée (AD), qui est une activité rythmique induite par ces postdépolarisations. Chaque PA naît d'un postpotentiel provoqué par le PA précédent [6, 7]; à bas voltage, la différenciation entre PDP et AD se fait selon l'amplitude du phénomène (PDP si l'amplitude est inférieure à 10 mV ; AD si l'amplitude est supérieure à 10 mV).

Substances étudiées

Les différentes concentrations de chlorhydrate de sultopride sont obtenues par dilution du contenu d'ampoules du commerce pour préparations injectables ($200 \text{ mg}/2 \text{ ml}$). Etant donné la présence d'alcool benzyle, une étude des effets électrophysiologiques du solvant seul est réalisée selon le même protocole expérimental. On utilise l'alcool benzyle ($n = 4$)

en proportion de sa concentration dans l'ampoule injectable, et dans les dilutions identiques à celles du protocole avec chlorhydrate de sultopride.

Analyse des résultats

L'analyse des variables quantitatives est effectuée par analyse de variance (test de Wilcoxon). Les résultats obtenus sont exprimés en moyennes $\pm$ écart-type dans les tableaux. Ils sont représentés graphiquement par des courbes de moyennes $\pm$ erreur standard (SEM).

RÉSULTATS

Effets du chlorhydrate de sultopride sur les caractéristiques électrophysiologiques des potentiels d'action à une durée de cycle de stimulation de 1 000 ms (tableau I)

Il existe une discrète hyperpolarisation du PDM induite par le chlorhydrate de sultopride pour les doses D2 et D3 *versus* Tyrode ($p < 0,03$). La $V_{\max}$ n'est pas modifiée de façon significative sauf pour la dose D1 *versus* Tyrode ($p < 0,03$) et il apparaît une augmentation dose-dépendante de la DPA 90 en présence de chlorhydrate de sultopride ($p < 0,01$), sauf pour la dose D1 *versus* Tyrode.

Tableau I. — Caractéristiques électrophysiologiques des potentiels d'action pour une durée de cycle de stimulation de 1 000 ms, selon les concentrations (D1, D2, D3) de chlorhydrate de sultopride

	Solution de Tyrode	D1	D2	D3
PDM (mV)	88,4 $\pm$ 0,9	89,1 $\pm$ 1,2	90,0 $\pm$ 1,1*	90,1 $\pm$ 1,2†
$V_{\max}$ (V $\cdot$ s ⁻¹)	485,7 $\pm$ 58,1	399,2 $\pm$ 38,4*	422,0 $\pm$ 43,7	404,1 $\pm$ 49,0
DPA 90 (ms)	286 $\pm$ 6,1	303,1 $\pm$ 5,8	348,9 $\pm$ 12,1†	468,1 $\pm$ 36,7F

PDM (mV) : Potentiel Diastolique Maximum ; $V_{\max}$ (V $\cdot$ s⁻¹) : vitesse maximale d'ascension du potentiel d'action ; DPA 90 : durée du potentiel d'action à 90 % de la repolarisation ; D1 : 0,2 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-7}$ mol $\cdot$ l⁻¹) ; D2 : 2 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-6}$ mol $\cdot$ l⁻¹) ; D3 : 20 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-5}$ mol $\cdot$ l⁻¹) ; * : $p < 0,01$; † : $p < 0,02$ *versus* Tyrode ; † : $p < 0,03$ *versus* Tyrode ; F : $p < 0,004$ *versus* Tyrode, D1 ; F : $p < 0,004$ *versus* Tyrode, D1, D2.

Effets des variations de la fréquence de stimulation et de la dose (fig. 2A)

Le chlorhydrate de sultopride induit un allongement de la durée des potentiels d'action d'autant plus important que la fréquence de stimulation est basse et que la dose utilisée est élevée. Cet effet dose-dépendant est significatif ($p < 0,01$ *versus* Tyrode) à partir de $5,6 \times 10^{-6}$ mol $\cdot$ l⁻¹ (soit 2 mg $\cdot$ l⁻¹). Il n'existe pas d'effet significatif entre la courbe contrôle et la première concentration de chlorhydrate de sultopride ($5,6 \times 10^{-7}$ mol $\cdot$ l⁻¹, soit 0,2 mg $\cdot$ l⁻¹).

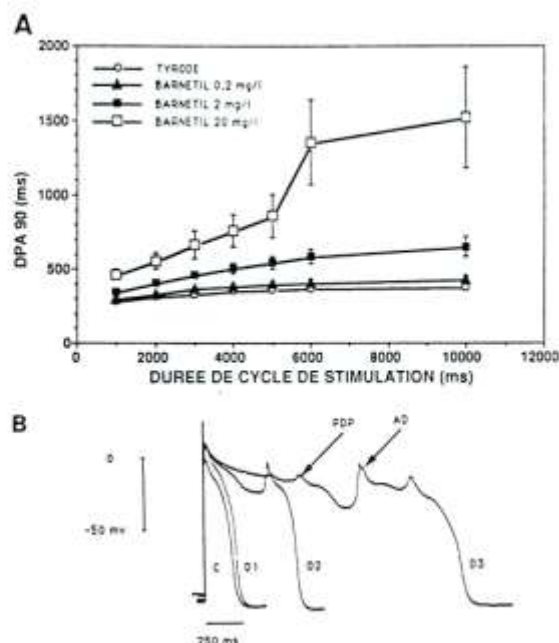


Fig. 2. — A : Evolution de la durée (ms) du potentiel d'action à 90 % de la repolarisation (DPA 90, en ordonnée), en fonction de la durée (ms) du cycle de stimulation (en abscisse). L'allongement de la DPA 90 devient significatif à partir de 2 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-6}$ mol $\cdot$ l⁻¹) dès le cycle de stimulation de 1 000 ms. B : Evolution des potentiels d'action (PA) d'une fibre de Purkinje enregistrés à un cycle de stimulation de 10 000 ms. C : Solution de Tyrode seule ; D1 : 0,2 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-7}$ mol $\cdot$ l⁻¹) ; D2 : 2 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-6}$ mol $\cdot$ l⁻¹) et D3 : 20 mg $\cdot$ l⁻¹ ($5,6 \times 10^{-5}$ mol $\cdot$ l⁻¹) de chlorhydrate de sultopride. La durée du potentiel d'action s'allonge de manière dose-dépendante et il apparaît des post-dépolarisations précoces (PDP) et une activité déclenchée (AD) aux deux plus fortes concentrations.

Apparition de post-dépolarisation précoce et d'activité déclenchée (fig. 2B)

Aucune des fibres étudiées ne présente de post-dépolarisation précoce au cours de la perfusion de solution de Tyrode et de la première concentration de chlorhydrate de sultopride. Trois fibres sur neuf présentent des PDP de bas seuil pour la dose D2 au dernier cycle de stimulation étudié (10 000 ms), sept sur neuf ont des PDP de bas seuil à partir de 3 000 ms de durée de cycle de stimulation à la dernière dose de chlorhydrate de sultopride, et trois donneront de l'activité déclenchée à un cycle de stimulation de 10 000 ms.

Effet du solvant (tableau II)

On ne constate aucun effet significatif sur les paramètres électrophysiologiques étudiés à un cycle de stimulation de 1 000 ms (PDM, $V_{\max}$, DPA 90).

Tableau II. — Caractéristiques électrophysiologiques des potentiels d'action pour une durée de cycle de stimulation de 1 000 ms, selon les concentrations (d1, d2, d3) de solvant (alcool benzyle)

	Solution de Tyrode	d1	d2	d3
PDM (-mV)	91,1 ± 1,1	90,4 ± 0,8	93,5 ± 0,9	91,6 ± 0,2
V _{max} (V · s ⁻¹)	460,5 ± 78,3	491,7 ± 66,4	484,8 ± 63,0	530,0 ± 85,0
DPA 90 (ms)	287,2 ± 25,6	304,3 ± 26,8	285,8 ± 19,3	302,5 ± 15,3

PDM (-mV) : Potentiel Diastolique Maximum ; V_{max} (V · s⁻¹) : vitesse maximum d'ascension du potentiel d'action ; DPA 90 (ms) : durée du potentiel d'action à 90 % de la repolarisation ; d1 : $2,1 \times 10^{-8}$ mol · l⁻¹ ; d2 : 2×10^{-8} mol · l⁻¹ ; d3 : $2,1 \times 10^{-7}$ mol · l⁻¹.

DISCUSSION

Le chlorhydrate de sultopride est un neuroleptique sédatif majeur, utilisé depuis plusieurs années en psychiatrie, dont la dose proposée peut varier de 50 à 2 400 mg · j⁻¹ et dont la demi-vie plasmatique est de 3 à 5 heures. Lors de l'administration *per os* d'une dose de 400 mg, le pic plasmatique ($3,7 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) est observé deux heures après la prise. La pharmacocinétique du produit est linéaire et les concentrations plasmatiques sont proportionnelles aux doses administrées. La biodisponibilité est de 80 à 90 % pour les formes orales, la répartition est égale entre le plasma et les érythrocytes, et la liaison aux protéines est très faible (10 %). Le chlorhydrate de sultopride exerce son action au niveau du système nerveux central et, à l'opposé d'un certain nombre de substances comme les antidépresseurs tricycliques, ne semble pas influencer les tests d'exploration du système nerveux autonome, dont on connaît le rôle fondamental dans la genèse des troubles du rythme [23]. Aucun produit de la famille du chlorhydrate de sultopride (benzamide substitué, dont le chef de file est le sulpiride) n'a été reconnu comme pouvant entraîner des torsades de pointes. On sait que ces troubles du rythme sont favorisés ou induits par un certain nombre de substances [24] ou de circonstances physiopathologiques parmi lesquelles l'acidose [18], l'hypokaliémie [8], la stimulation bêta-adrénergique [1], les antidépresseurs tricycliques [25], les phénothiazines [11], les antiarythmiques de classe I A et III [22], et la fréquence ventriculaire lente [4, 7, 10].

Dans cette observation, le contexte de traitement au long cours dans un milieu hospitalier et la normalité du bilan thyroïdien sous lévothyroxine sodique sont en faveur d'une bonne observance de la thérapeutique, et donc d'une prise effective et ancienne de chlorhydrate de sultopride. Lors de l'hospitalisation, les torsades de pointes surviennent à l'occasion d'importants troubles de la repolarisation, dans un contexte de stimulation bêta-adrénergique (salbutamol). La normalisation de

l'espace QT deux jours après l'arrêt du chlorhydrate de sultopride (demi-vie de 3 à 5 heures), sans qu'intervienne un autre facteur connu comme modifiant également la repolarisation, est un argument en faveur du rôle arythmogène de cette substance.

Ces anomalies rythmiques n'ont pas été décrites jusqu'à présent, mais il faut noter que WILKENING et coll. [28] ont rapporté un épisode de tachycardie paroxystique chez un patient ayant reçu du chlorhydrate de sultopride (800 mg par voie i.m.) de manière occasionnelle. Il a été conclu à l'époque que « cet épisode de tachyarythmie préexistait et avait été la cause de l'agitation qui avait elle-même motivé l'administration du chlorhydrate de sultopride ». Actuellement, la banque centrale de pharmacovigilance ne dispose que de deux observations documentées de torsades de pointes en rapport avec la prise de chlorhydrate de sultopride : une observation nantaise (M^{me} B, décrite au centre de pharmacovigilance de Nantes, Service du P^r Larousse), puis une observation lyonnaise.

L'étude *in vitro* confirme l'hypothèse soulevée par le fait clinique. En effet, il existe une corrélation directe entre la durée de l'espace QT et celle du potentiel d'action [20], et on constate un allongement significatif de la DPA 90, dose et fréquence-dépendant, lors du protocole de stimulation utilisant le chlorhydrate de sultopride. En revanche, le potentiel d'action n'est pas modifié par le solvant (alcool benzyle), ce qui permet d'incriminer uniquement le principe actif dans les effets constatés.

Lors d'un cycle de stimulation de 1 000 ms, il n'existe que de faibles variations de la V_{max} avec le chlorhydrate de sultopride. Ces molécules ne peuvent donc pas être considérées comme un anti-arythmique de classe I A, où il existe une diminution dose-dépendante de la V_{max} pour les fréquences étudiées. De même, le PDM est peu modifié, ce qui suggère que les différents processus membranaires intervenant dans cette gamme de potentiels ne sont pas perturbés.

La survenue de post-dépolarisations précoces et d'activité déclenchée lors du protocole de stimulation utilisant le principe actif est un élément supplémentaire en faveur du rôle arythmogène du chlorhydrate de sultopride. En effet, bien que le sujet reste encore débattu, de nombreux arguments expérimentaux et cliniques font penser que les post-dépolarisations précoces sont à l'origine des torsades de pointes. Le modèle le plus souvent utilisé est celui du césium qui agit comme bloqueur des canaux potassiques. *In vitro*, ce dernier entraîne un allongement de la durée du potentiel d'action et induit des PDP et de l'activité déclenchée aux basses fréquences de stimulation. *In vivo*, la technique d'enregistrement des potentiels d'action monophasiques permet d'obtenir des phénomènes rythmiques semblables, aussi bien en pré-

sence de césium [14] que dans le cas des patients atteints d'un syndrome du QT long [2]. Le sulfate de magnésium permet de supprimer ces activités rythmiques *in vitro* [3], et représente un traitement efficace des torsades de pointes *in vivo* [27], ce qui a été le cas chez la patiente.

Ainsi, il est probable que le chlorhydrate de sultopride soit à l'origine du substrat arythmogène responsable des torsades de pointes dans notre observation.

CONCLUSION

Cette étude rapporte le premier cas historique documenté d'une attaque syncopale en rapport avec la survenue d'épisodes de torsades de pointes qui peuvent être dus à l'existence de post-dépolarisations précoces induites par l'administration de chlorhydrate de sultopride.

L'emploi de cette molécule devra donc être d'autant plus prudent s'il existe un autre facteur favorisant la survenue de ce trouble du rythme cardiaque, et, en particulier, la prise de tricycliques, compte tenu de l'indication habituelle de ce médicament.

Enfin, l'injection par voie i.v. d'un bolus de 2 g de sulfate de magnésium représente, comme pour les autres causes médicamenteuses, le traitement d'urgence, efficace et facile à mettre en œuvre, des torsades de pointes.

BIBLIOGRAPHIE

1. BHANDARI AK, SHAPIRO WA, MORADY F, SHEN EN, MASON J, SCHEINMAN MM. Electrophysiologic testing in patients with the long QT syndrome. *Circulation*, **71** : 63-71, 1985.
2. BONATTI V, ROLLI A, BOTTI G. Monophasic action potential studies in human subjects with prolonged ventricular repolarization and long QT syndromes. *Eur Heart J*, **6** (suppl D) : 131-143, 1983.
3. BORGAT C, CHARPENTIER F, LE MAREC H. Effets du magnésium sur les post-dépolarisations précoces et l'activité déclenchée induites par le césium sur les fibres de Purkinje de furet. *Arch Mal Cœur*, **85** : 83-90, 1992.
4. BRACHMANN J, SCHERLAG BJ, ROSENSHTRAUH LV, LAZZARA R. Bradycardia-dependent triggered activity: relevance to drug-induced multifocal ventricular tachycardia. *Circulation*, **68** : 846-856, 1983.
5. COUMEL P, LUCET V. Les syndromes de torsades de pointes. Variétés et limites. *Ann Cardiol Angiol*, **35** : 205-214, 1986.
6. CRANFIELD PF. Action potentials, afterpotentials, and arrhythmias. *Circ Res*, **41** : 415-423, 1977.
7. CRANFIELD PF, ARONSON RS. Torsades de pointes and other pause-induced ventricular tachycardias: the short-long-short sequence and early afterdepolarization. *Pace*, **11** : 670-678, 1988.
8. DAVY JM, WEISSBURGER J, ERTZBISCHOFF O, LAINÉE P, CEEZALVIEL F, POIRIER JM, CHEYMOL, MOTTE G. Torsades de pointes expérimentales avec le sotalol chez le chien vigile en bloc auriculo-ventriculaire. Rôle de l'hypokaliémie. *Arch Mal Cœur*, **81** : 1117-1124, 1988.
9. DESSERTENNE F. La tachycardie ventriculaire à deux foyers opposés variables. *Arch Mal Cœur*, **59** : 263-272, 1966.
10. FONTAINE G, FRANCK R, LASCAULT G, TONET JL, FILLETTE F, GROSOGGEAT Y. Torsades de pointes favorisées par stimulations ventriculaires à rythme lent. *Arch Mal Cœur*, **76** : 918-924, 1983.
11. HUYSE F, SCHUNDEL RB. Haloperidol and cardiac arrest. *Lancet*, **2** : 568-569, 1988.
12. KIRIIE N, MAEDA Y, NISHIWAKI S, IZUMIHA Y, KATAHARA S, MUI K, KAWAKITA Y, NISHIKIMI T, TAKEUCHI K, TAKEDA T. Iatrogenic torsades de pointes induced by thioridazine. *Biol Psychiatry*, **22** : 99-103, 1987.
13. KRIWISKY M, PERRY GY, TARCHITSKY D, GUTMAN Y, KISON Y. Haloperidol-induced torsades de pointes. *Chest*, **98** : 482-484, 1990.
14. LEVINE JH, SPEAR JF, GUARNIERI T, WEISFELDT ML, DE LANGEN CDJ, BECKER LC, MOORE EN. Cesium chloride-induced long QT syndrome: demonstration of afterdepolarizations and triggered activity in vivo. *Circulation*, **72** : 1092-1103, 1985.
15. LUGEZ-RENAN F, FONTAN M, MIENS C, WEISS D. Un neuroleptique nouveau: le sultopride. *Sem Hôp Paris*, **52** : 63-67, 1976.
16. MOREL D. Psychose au long cours et sultopride. *Sem Hôp Paris*, **59** : 2337-2341, 1983.
17. POINSON Y. Barnétil et états d'agitation. *Sem Hôp Paris*, **60** : 2197-2200, 1984.
18. ROZANSKI GJ, WITT RC. Early afterdepolarizations and triggered activity in rabbit cardiac Purkinje fibers recovering ischemic-like conditions. Role of acidosis. *Circulation*, **83** : 1352-1360, 1991.
19. ROSEN MR, MERKER C, GELBAND H, HOFFMAN BF. Effects of procainamide on the electrophysiologic properties of the canine ventricular conducting system. *J Pharmacol Exp Ther*, **1985** : 438-446, 1973.
20. EL-SHERIF N, ZEILER RH, CRAELIUS W, GROUGH WB, HENKIN R. QTU prolongation and polymorphic ventricular tachyarrhythmias due to bradycardia-dependent early after depolarizations. After depolarizations and ventricular arrhythmias. *Cir Res*, **63** : 286-305, 1988.
21. SLAMA R, COUMEL P, MOTTE G, GOURDON R, WAYNBERGER M, TOUCHE S. Tachycardies ventriculaires et torsades de pointes. Frontières morphologiques entre les dysrythmies ventriculaires. *Arch Mal Cœur*, **66** : 1401-1411, 1973.
22. SOFFER J, DREIFUS L, MICHELSON E. Polymorphic ventricular tachycardia associated with normal and long QT intervals. *Am J Cardiol*, **49** : 2021-2029, 1982.
23. SCHWARTZ PJ, PRIORI SG. Sympathetic nervous system and cardiac arrhythmias (pp 330-343). In: Cardiac electrophysiology, from cell to bedside. DP ZIPES, J JALIFE eds. WB Saunders, 1990.
24. STRATMANN HG, KENNEDY HL. Torsades de pointes associated with drugs and toxins: recognition and management. *Am Heart J*, **113** : 1470-1482, 1987.
25. STRASBERG B, COELHO A, WELCH W, SWIRIN S, BAERNFEIND R, ROSEN K. Doxepin induced torsade de pointes. *Pace*, **5** : 873-877, 1982.
26. TZIVONI D, KEREN A, COHEN M, LOEBEL H, ZAHANVI I, CHENZBRAUN A, STERN S. Magnesium therapy for torsades de pointes. *Am J Cardiol*, **53** : 528-530, 1984.
27. TZIVONI D, BANAI S, SHUGER C, BENHORIN J, KEREN A, GOITTLIEB S, STERN S. Treatment of torsades de pointes with magnesium sulfate. *Circulation*, **77** : 392-397, 1988.
28. WILKENING M, FOISSAC JC, BESANÇON A, DUPONT G. Utilisation du sultopride par un service mobile d'urgence et de réanimation. A propos de trente observations. *Sem Hôp Paris*, **62** : 2141-2146, 1986.

2. Article 7

Dynamic analysis of dofetilide-induced changes in ventricular repolarization.

Lande G, Maison-Blanche P, Fayn J, Ghadanfar M, Coumel P, Funck-Brentano C.
Clin Pharmacol Ther. 1998;64:312-21.

Le dofétilide est un antiarythmique de classe III pur, avec un effet de blocage sur le seul courant IKr. Il comporte un effet potentiellement proarythmique, en rapport avec un allongement de l'intervalle QTc, pouvant favoriser la survenue de torsades de pointes. Cet effet proarythmique peut être favorisé par un comportement dynamique particulier de la repolarisation ventriculaire appelé, fréquence dépendance inverse. On observe dans ce cas un allongement de l'intervalle QT prédominant à fréquence cardiaque basse, et diminuant à fréquence cardiaque élevée.

Nous avons étudié des enregistrements Holter dans le cadre d'une étude de phase 1, où des sujets sains mâles (n=10) recevait un placebo, puis une dose unique de dofétilide, donnant lieu à deux enregistrements Holter de 24 heures par individu. La dynamique de l'intervalle QT a été étudiée en tenant compte de la cinétique plasmatique de la molécule, de la période d'activité, et de l'environnement de fréquence.

Nous avons observé que le dofétilide allongeait l'intervalle QTc d'une valeur moyenne de 12%. Il existe un comportement de fréquence dépendance inverse tant pendant la période de jour, que pendant la période de nuit, alors que les taux plasmatiques résiduels de dofétilide sont faibles.

Commentaire.

Le bénéfice de l'enregistrement Holter sur l'enregistrement de l'ECG standard dans la recherche d'un effet potentiellement proarythmique d'un médicament est multiple. Tout d'abord, il permet de mesurer l'allongement de l'intervalle QT induit par une molécule en l'absence de toute formule de correction. Or on sait que la validité de ces formules est débattue. Ensuite, il permet d'étudier le comportement dynamique de la repolarisation ventriculaire, comportement qui peut en lui-même renforcer ou atténuer l'effet proarythmique d'une molécule. Enfin, ce qui n'a pas été le cas dans cette étude, il peut permettre de mettre en évidence directement l'effet proarythmique par l'enregistrement d'une torsade de pointes.

Dynamic analysis of dofetilide-induced changes in ventricular repolarization

Objective: To use dynamic electrocardiographic (ECG) techniques to study the influence of heart rate on dofetilide-induced QT prolongation among healthy volunteers.

Background: The extent to which heart rate modulates QT prolongation induced by the new class III antiarrhythmic drug dofetilide is a matter of debate.

Methods: Ten healthy volunteers underwent two 24-hour ECG recordings, one in the absence of dofetilide and the other after a single oral dose of 0.5 mg dofetilide. Two 4-hour periods were defined during the second recording: D_h , which corresponded to stable high concentration of the drug, and D_l , which corresponded to low concentration of the drug. Corresponding baseline recording periods, C_h and C_l , matched by time with D_h and D_l were selected from the control ECG recording in the absence of dofetilide. QT versus R-R relations were compared in the presence and absence of dofetilide. The QT versus R-R relation slope was used as an index of the rate dependence of QT prolongation. Rate-independent changes in QT duration also were analyzed.

Results: During D_h , dofetilide induced a mean 12% lengthening of ventricular repolarization. Dynamic ECG analysis showed that this prolongation increased as R-R cycles became longer, a phenomenon known as reverse rate dependence. However, QT prolongation persisted at the shortest (600 ms) R-R cycle length that could be analyzed. During D_l , dynamic ECG analysis showed a persistent, although small, effect of dofetilide on both QT prolongation (3%) and reverse rate dependence of this effect.

Conclusions: Dofetilide prolongs QT duration, and this class III effect is influenced by heart rate. Although dofetilide-induced QT prolongation decreases when the R-R cycle shortens, this reverse rate dependence is only partial because marked QT prolongation persists at an R-R cycle of 600 ms. The results of our study indicated that dynamic ECG techniques can be useful in detection of subtle, drug-induced changes in the duration of ventricular repolarization. (Clin Pharmacol Ther 1998;64:312-21.)

Gilles Lande, MD, Pierre Maison-Blanche, MD, Jocelyne Fayn, PhD,
Mathieu Ghadanfar, MD, Philippe Coumel, MD, and
Christian Funck-Brentano, MD, PhD *Paris and Lyon, France*

Class I antiarrhythmic agents, which act by blocking sodium channels, increase the mortality rate among patients with ischemic heart disease.¹ In the treatment of patients with ventricular arrhythmias, emphasis has shifted to class III antiarrhythmic agents, which lengthen ventricular repolarization. Amiodarone, an

antiarrhythmic drug with a complex pharmacologic profile, has been shown² to decrease significantly the rate of arrhythmic death and resuscitated cardiac arrest among patients with depressed left ventricular function and recent myocardial infarction. Conversely, no pure class III compound has been shown to prolong survival among patients at risk for arrhythmic death. Dofetilide is a class III antiarrhythmic drug.³ It has a specific inactivating effect on the rectifying potassium current I_{Kr} ⁴ and no effect on the sodium current. It prolongs the action potential and effective refractory period but has no effect on conduction velocity. Its plasma half-life is 8 to 10 hours. Pharmacokinetic studies performed with healthy volunteers have shown a linear, dose-dependent increase in drug plasma concentration and prolongation of the corrected QT interval (QTc).⁵ In contrast to *d*-sotalol,⁶ another I_{Kr} blocker, preliminary

From the Department of Cardiology, Lariboisière Hospital, and the Department of Pharmacology, Saint-Antoine University Hospital, and Pfizer Clinical Research Group, Paris, and INSERM U121, Lyon.

Supported by Pfizer Central Research, Sandwich, England.

Received for publication Dec. 29, 1997; accepted May 11, 1998.

Reprint requests: Gilles Lande, MD, Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Boulevard J. Monod, 44093 Nantes Cedex 01, France.

Copyright © 1998 by Mosby, Inc.

0009-9236/98/\$5.00 + 0 13/191693

reports showed that with dofetilide there was no change in mortality rate among patients with heart disease.⁷

A specific noninvasive method^{8,9} of continuous electrocardiographic (ECG) recording was used as a tool to measure QT duration, and evaluate the dynamics of ventricular repolarization within the range of physiologic cycle-length durations. Although not proved, the absence of sympathetic blockade and the presence of the so-called phenomenon of reverse rate dependence may be the Achilles' heel of pure potassium channel inhibitors in the management of ventricular arrhythmias. The decline in QT lengthening as the R-R cycle decreases may diminish the antiarrhythmic properties at short R-R cycle and favor the proarrhythmic effect, that is, torsade de pointes, at long R-R cycle. Thus assessment of drug-induced QT rate dependence appears to be of clinical importance. We performed a study that involved single-dose oral intake of dofetilide to analyze the influence of heart rate on dofetilide-induced QT prolongation, at both high and low drug plasma concentrations.

METHODS

Study population

Ten healthy male volunteers (mean age $\pm$ SD, 23.8 $\pm$ 3.4 years; range, 18 to 27 years) were recruited to participate in this open study. All subjects were healthy on the basis of a clinical examination, including 12-lead surface ECG recording, standard laboratory tests, and 24-hour dynamic ECG recording. All subjects gave written informed consent. The protocol was approved by the committee for the protection of human subjects in biomedical research of Saint-Antoine University Hospital (Paris, France). Recordings were performed while subjects were taking part in a phase I study of dofetilide at the clinical pharmacology unit of Saint-Antoine University Hospital, as described previously.⁵

Study design

The study was based on two 24-hour dynamic ECG recordings performed for each healthy volunteer. The second recording was obtained after administration of a single oral dose of 0.5 mg dofetilide (at 9 AM, designated as T_0) during hospitalization. The resulting data were compared with those obtained from the first 24-hour ECG recording obtained 2 days before dofetilide administration, that is, during the ambulatory recruitment phase of the protocol. Blood samples were taken, and 12-lead surface ECG recordings were performed before (T_0) and $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, and 24 hours after dofetilide administration.

Two 4-hour study periods were defined on the basis of plasma dofetilide concentrations and 12-lead QT interval values after dofetilide administration. The first study period (D_h) was based on the period of maximal QT prolongation and high dofetilide plasma concentration occurring during waking hours, usually 3 hours after administration of the oral dose. The second study period (D_l) occurred many hours after drug administration, during sleep, and corresponded to a period in which the plasma concentration of dofetilide and QT prolongation were the least. On the basis of these measurements, 2 corresponding periods of equal duration (C_h and C_l) were retrospectively selected on baseline recordings. Data were compared between C_h and D_h , C_l and D_l , C_h and C_l , and D_h and D_l .

Data recordings

Twelve-lead surface ECG recordings were obtained at a paper speed of 50 mm/s (amplitude, 1 mV = 20 mm) with the use of a Case 15 recorder (Marquette Electronics, Milwaukee, Wis.). Analog dynamic ECG tracings were obtained with 3 bipolar thoracic leads in a pseudo-orthogonal configuration (X, Y, Z) from amplitude-modulated recorders (type 8500, Marquette Electronics). They were digitized at a sampling frequency of 128 Hz with a resolution of 10 bits. Detection and subsequent classification of QRST complexes was performed automatically by means of a commercial system (Laser 8000 system; Marquette Electronics).¹⁰ Each recording, at baseline or after dofetilide administration, was analyzed successively through 2 software programs. In the first analysis, cardiac beats were selected and averaged. The second analysis, a 3-dimensional quantitative ECG analysis, measured duration of ventricular repolarization from the averaged QRST complexes.

Dofetilide assay

Blood samples were collected in heparin-treated tubes. After centrifugation, plasma was separated from the pellet and immediately frozen at -20°C . Dofetilide plasma concentrations were determined by means of a specific radioimmunoassay method described previously.¹¹

Data analysis

Measurement of QT interval on standard 12-lead ECG tracings. The QT interval was measured from the onset of the QRST complex to the end of the T wave. The end of the T wave was defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal downslope of the T wave.¹² Correction of QT duration

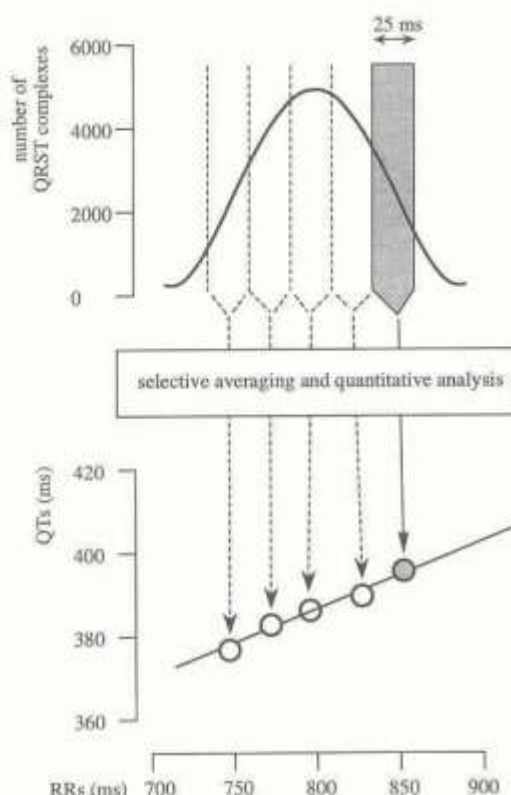


Figure 1. Selection of QRST complexes. **Top panel.** Schematic distribution of R-R intervals within the first (D_h) and second (D_i) study periods and the corresponding baseline recording periods matched by time with D_h and D_i periods (C_h or C_i). The paired values of QTs and R-Rs were selected within a given period by means of scanning the entire distribution of R-R cycles, 25 ms stepwise. At each R-R cycle step, the collected values yielded a QRST template, which was selected for analysis if it included a minimum of 50 QRST complexes. This allowed calculation of the QTs versus R-Rs relation (**bottom panel**).

as a function of heart rate was performed with both the Bazett formula:

$$QTc_B = QT/\sqrt{R-R}$$

and the Fridericia formula:

$$QTc_F = QT/\sqrt[3]{R-R}$$

in which R-R is expressed in seconds. The Fridericia formula has been shown to limit the deficiencies of the former in correction of QT duration for heart rate.¹³

The mean of 5 consecutive QT intervals on lead V_2 was taken. Results were expressed as the change in rate-corrected QT interval with respect to baseline (T_0) value.

QT analysis of dynamic ECG recordings

Selective beat averaging. Dynamic analysis of ventricular repolarization was performed by means of selective beat averaging with a customized software program.¹⁴ This system considered each digitized QRST complex as a function of its heart rate environment. When the immediately preceding R-R intervals and the mean R-R interval of the preceding minute were compared, beats were considered as recorded in a stable heart rate environment (± 15 ms) and were designated QTs and R-Rs. The averaging process also improved signal-to-noise ratio.

Quantitative ECG analysis. Quantification of ventricular repolarization was performed by means of a quantitative 3-dimensional ECG software program as described previously.^{8,15,16} The T-wave loops first were represented in a preferential plane related to the heart itself, thus avoiding nonphysiologic variations in the T-wave loop. The system quantified the variations between a reference T-wave loop and a T-wave loop series. For each recording, 2 reference forms were defined that corresponded to the average sinus complex for each given period.

QT interval rate-dependence analysis. Selection of QRST complexes according to length of the previous R-R interval allowed investigation of the rate adaptation of QT interval (under stable heart rate conditions). The distribution of R-R cycles was scanned in a given period in 25-ms steps (Figure 1). Paired data (QTs and R-Rs) were fitted with the linear regression formula:

$$QTs = aR-Rs + b$$

in which a and b represent regression parameters. The rate dependence of the QTs interval was defined as the slope (a) of the QTs versus R-Rs relation. Comparison of rate dependence (ie, of slopes) was performed with pooled data from each period.

Rate-independent analysis of QT variations. With mode of beat selection, rate-independent comparison of QTs intervals was performed. The difference of QTs intervals between 2 different periods (C_hD_h , C_iD_i , C_hC_i , and D_hD_i) was evaluated at equal R-Rs cycles without a correction formula. For individual comparisons, the change in QTs interval was measured at the mean R-Rs cycle of the 2 compared periods (mQT prolongation at mR-R). Rate-independent QTs measurements were performed at R-Rs cycles of 600, 800, and 1000 ms for the comparison of C_hD_h and 800, 1000, and 1200 ms for the comparison of C_iD_i . These measurements were per-

formed mainly with observed values. When the linear regression model led to a high value of Pearson coefficient, extrapolated measurements were performed.

Statistical analysis

Results are expressed as mean values $\pm$ SD. Plasma concentration and R-R, R-Rs, QT, QTs, QTc_B, and QTc_F durations were compared by means of the Wilcoxon paired test. The linear relation between QTs and R-Rs values was analyzed by means of least-squares regression methods. The significance of regression was determined with ANOVA. A *P* value $< .05$ was considered to be significant. Comparison of regression line slopes was performed by use of the Altman and Gardner method.¹⁷ This method is used to compare 2 groups of data with a 95% confidence interval (CI) for the population value of the difference between the slope of regression lines.

RESULTS

D_h and D_l characteristics based on 12-lead surface ECG and pharmacokinetic data. The time course of dofetilide concentrations is shown in Figure 2. Stable concentrations were observed for measurements made between 2 and 6 hours after drug intake (1.30 ± 0.25 to 1.65 ± 0.30 ng/mL). A peak value was reached 3 hours after administration (1.80 ± 0.3 ng/mL). Dofetilide plasma concentrations had dropped to 0.50 ± 0.10 ng/mL at the twelfth hour and 0.25 ± 0.05 ng/mL at the eighteenth hour after drug administration.

According to 12-lead ECG data (Figure 2), dofetilide administration with respect to *T₀* was associated with a lengthening of ventricular repolarization. Two to 6 hours after *T₀*, values for QT (419 ± 29 to 427 ± 25 ms), QTc_B (410 ± 22 to 420 ± 36 ms), and QTc_F (414 ± 19 to 420 ± 37 ms) intervals were relatively stable. Peak value was reached 3 hours after dosing for the QT interval (60.1 ± 18.2 ms; ie, $16.4\% \pm 5.0\%$), 5 hours after dosing for the QTc_B interval (44.5 ± 33.1 ms; ie, $11.8\% \pm 8.7\%$), and 5 hours after dosing for the QTc_F interval (47.5 ± 31.0 ms; ie, $12.7\% \pm 8.3\%$). The period between 2 and 6 hours after dofetilide administration was designated *D_h* (Table I).

No significant QTc_B interval lengthening was detected 12 hours after dofetilide administration, whereas lengthening of the QT and QTc_F intervals remained significant throughout the circadian period ($P < .05$) and persisted for 24 hours (22.5 ± 14.4 ms; ie, $8\% \pm 5\%$ and 7.8 ± 10.2 ms; ie, $2\% \pm 2\%$, respectively). QTc_F prolongation at hour 18 was 8.3 ± 9.9 ms ($P < .05$). The *D_l* period was defined as the 4-hour time period beginning 18 hours after *T₀* (Table I).

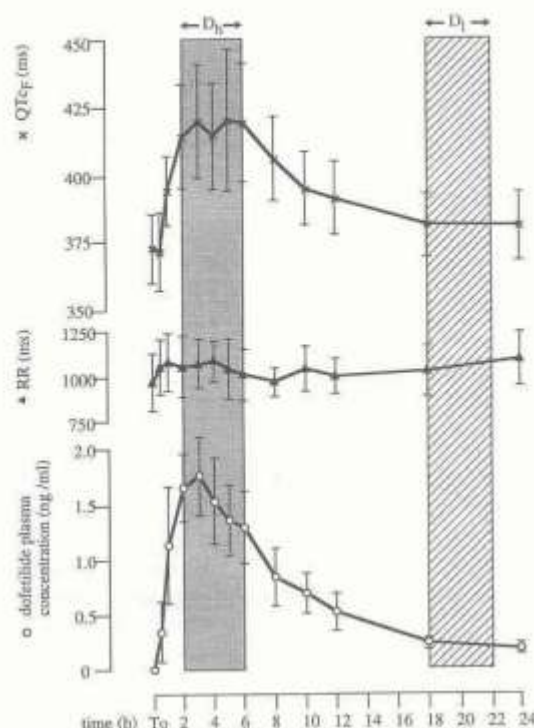


Figure 2. Determination of *D_h* and *D_l* study periods. Pharmacokinetic (plasma dofetilide concentration) and pharmacodynamic (QTc_F duration from standard 12-lead ECG) values are presented for the 10 volunteers during the 24-hour period after drug administration (*T₀*). *D_h* and *D_l* were selected as periods during which plasma concentrations of dofetilide were high and low but remained stable.

Influence of dofetilide on ventricular repolarization on the basis of continuous ECG recordings. Three of 40 periods were excluded from the study because of a poor signal-to-noise ratio (periods *C_h*, *C_l*, and *D_l* for subjects 2, 6 and 8, respectively). The remaining individual QTs versus R-Rs relations are shown in Table II.

Influence of high concentration of dofetilide on ventricular repolarization (*C_h* versus *D_h*; *n* = 9). The mean duration of the R-R cycle during *D_h* was longer than that during *C_h* (931 ± 97 ms versus 660 ± 80 ms; $P < .01$). The QTs/R-Rs slope (pooled data) was steeper ($P < .05$) during *D_h* (mean, 0.159; 95% CI, 0.142 to 0.176) than during *C_h* (mean, 0.130; 95% CI, 0.116 to 0.143; Figure 3, A). Individual linear regressions led to very high values of the Pearson correlation coefficients (0.979 ± 0.029 ; range, 0.874 to 0.99). Prolongation of the mQT interval was found during study period

Table I. Characteristics of D_h and D_l study periods

Characteristic	D_h ($n = 9$)	D_l ($n = 9$)
R-R (ms)	1047 $\pm$ 144	1021 $\pm$ 137
QT (ms)	423 $\pm$ 28	383 $\pm$ 16
QTc _B (ms)	415 $\pm$ 30	381 $\pm$ 17
QTc _F (ms)	417 $\pm$ 26	381 $\pm$ 12
Cp (ng/mL)	1.53 $\pm$ 0.37	0.25 $\pm$ 0.05

Data are mean values $\pm$ SD.

Characteristics of the D_h and D_l study periods were based on standard 12-lead ECG data (R-R, QT, QTc_B, and QTc_F intervals) and plasma concentration of dofetilide (Cp). For the D_h study period, data were obtained 2, 3, 4, 5, and 6 hours after dofetilide administration. For the D_l study period, the only data available were obtained 18 hours after dofetilide administration.

D_h , Four-hour period of dynamic ECG recording during which concentrations of dofetilide were high; D_l , 4-hour period of dynamic ECG recording during which concentrations of dofetilide were low.

D_h , after dofetilide administration, compared with study period C_h , in which dofetilide was not given (Figure 4). The mQT prolongation at a mean mR-R of 797 $\pm$ 61 ms during C_h and D_h was 39.9 $\pm$ 10.1 ms (11.7%; $P < .01$). It was important that the increase in QTs interval during D_h compared with C_h was proportionately smaller as the R-Rs interval decreased (Figure 4). Thus the difference in QTs intervals decreased from 45 $\pm$ 9 ms to 33 $\pm$ 11 ms as R-Rs cycles shortened from 1000 ms to 600 ms ($P < .01$). However, significant QTs prolongation persisted with dofetilide at the shortest R-Rs cycle length that could be analyzed (600 ms; Table III).

Influence of low concentration of dofetilide on ventricular repolarization (C_l versus D_l ; $n = 8$). Mean durations of R-R cycles during C_l and D_l were not significantly different (994 $\pm$ 104 versus 1046 $\pm$ 135 ms; $P = 0.24$). The QTs/R-Rs slope (pooled data) shifted from 0.094 (95% CI, 0.081 to 0.108) without dofetilide to 0.122 (95% CI, 0.107 to 0.137) with drug ($P < .05$; Figure 3, B), indicating a persistent effect of dofetilide when plasma concentration was low (D_l).

Individual linear regressions led to very high values of the Pearson correlation coefficients (0.98 $\pm$ 0.03; range, 0.90 to 0.99). In contrast to QTc_B but according to QTc_F measurements, dynamic analysis showed a persistent lengthening of ventricular repolarization during D_l . The similarity of R-Rs cycle recorded during periods C_l and D_l allowed rate-independent QTs comparisons for a large number of observed R-Rs cycle values. The mean mQT prolongation during D_l was 12.1 $\pm$ 12.5 ms (3.2%; $P < .05$) at the mean mR-R of C_l and D_l (1022 $\pm$ 117 ms). Again, the difference of QTs intervals decreased from 16 $\pm$ 12 to 10 $\pm$ 16 ms when the R-Rs cycle shortened from 1200 to 800 ms, but the difference did not reach statistical significance (Table III). However, rate-independent QTs prolongation was significant at R-Rs

Table II. Rate dependence of QT interval represented by individual slopes of the QTs duration versus R-Rs duration linear relationships

Subject No.	C_h	C_l	D_h	D_l
1	0.124	0.113	0.134	0.127
2	0*	0.088	0.159	0.150
3	0.095	0.113	0.158	0.116
4	0.102	0.078	0.114	0.101
5	0.114	0.134	0.171	0.102
6	0.132	0*	0.164	0.109
7	0.102	0.108	0.144	0.129
8	0.156	0.055	0.160	0*
9	0.141	0.085	0.145	0.112
10	0.141	0.107	0.174	0.098

C_h , Four-hour control period of dynamic ECG recording matched by time with D_h ; C_l , 4-hour control period of dynamic ECG recording matched by time with D_l .

*Data could not be analyzed for 3 data sets (0).

intervals of 1200 and 1000 ms but was not different from zero at an R-Rs interval of 800 ms (Table III).

Circadian variation of ventricular repolarization (C_h versus C_l ; $n = 8$). Circadian variation of ventricular repolarization was assessed at baseline. The mean duration of the R-R cycle during C_h was shorter than during C_l (660 $\pm$ 80 ms versus 1016 $\pm$ 119 ms; $P < .01$). The QTs/R-Rs slope (pooled data) was steeper ($P < .05$) during C_h (mean, 0.128; 95% CI, 0.115 to 0.142) compared with C_l (mean, 0.105; 95% CI, 0.091 to 0.120; Figure 3, C). Again, individual linear regression analyses led to very high values of the Pearson coefficients of correlation (0.982 $\pm$ 0.029; range, 0.88 to 0.99). The mean mQT prolongation during C_l was 19 $\pm$ 14 ms (5.5%; $P < .05$) at the mean mR-R of C_h and C_l (839 $\pm$ 76 ms).

Both circadian modulation and dofetilide may influence ventricular repolarization during D_h compared with D_l . The mean duration of the R-R cycle during D_h was shorter than during D_l (931 $\pm$ 97 ms versus 1060 $\pm$ 136 ms; $P < .01$). The QTs/R-Rs slope (pooled data) was steeper ($P < .05$) during D_h (mean, 0.152; 95% CI, 0.131 to 0.172) than during D_l (mean, 0.118; 95% CI, 0.103 to 0.133; Figure 3, D). The mean mQT prolongation during D_h was 23 $\pm$ 10 ms ($P < .05$) at the mean mR-R of D_h and D_l (991 $\pm$ 107 ms).

DISCUSSION

In this study, dofetilide prolonged QT duration and the extent of this effect was modulated by heart rate.

Influence of dofetilide on ventricular repolarization. Because dofetilide is a specific inhibitor of the inward rectifying potassium current I_{Kr} , it induces

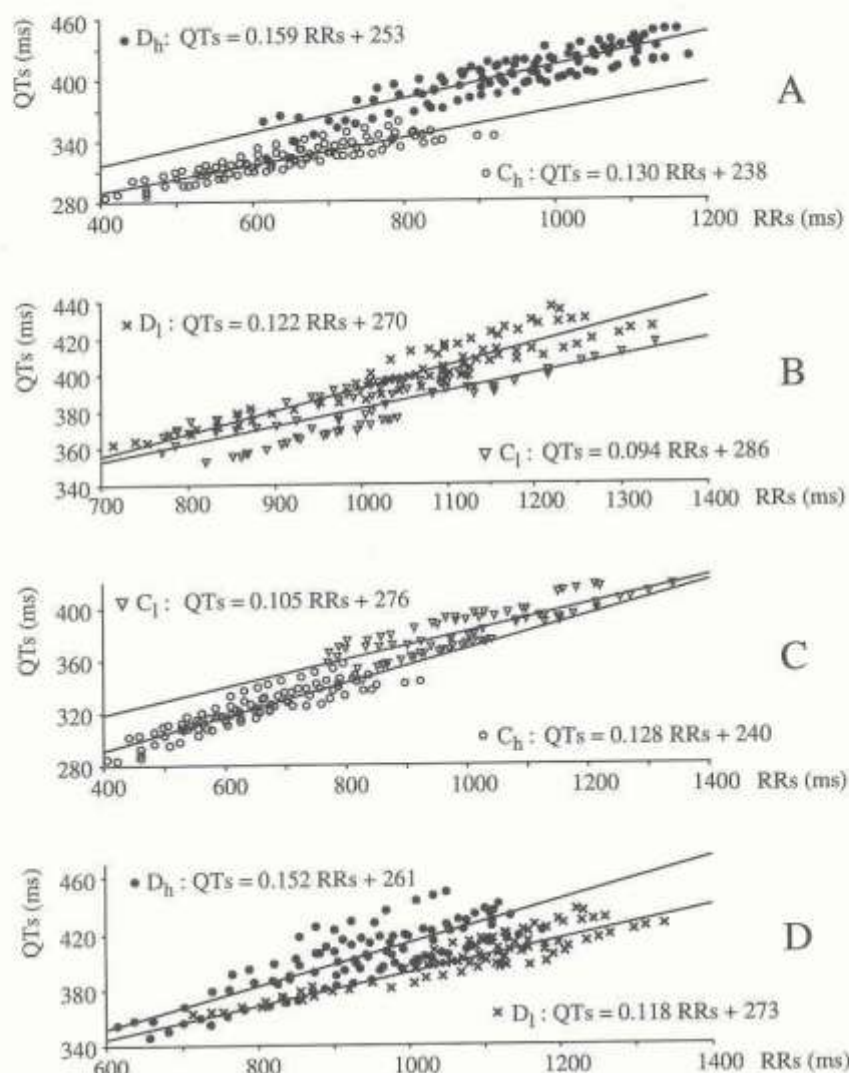


Figure 3. Comparison of QTs interval rate dependence between C_h and D_h , C_l and D_l , C_h and C_l , D_h and D_l . Rate dependence of QT interval is analyzed in a stable heart rate environment (QTs and R-Rs). QTs and R-Rs intervals are plotted and fitted with a regression line. **A**, Influence of high dofetilide plasma concentration (D_h) compared with baseline (C_h) (day, $n = 9$). **B**, Persisting effect of dofetilide (D_l) compared with baseline (C_l) at a recording time far from drug administration (night, $n = 8$). **C**, Circadian variation between day (C_h) and night (C_l) ($n = 8$) in the absence of dofetilide. **D**, Circadian variation between day (D_h) and night (D_l) after a single oral dose of dofetilide ($n = 9$).

lengthening of ventricular repolarization (the so-called class III effect). The influence of dofetilide on ventricular repolarization was evaluated by comparison of the

C_h and D_h time periods of dynamic ECG recordings performed at baseline and at the time of maximum plasma dofetilide concentrations after a single oral dose

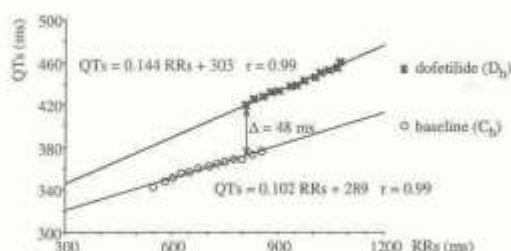


Figure 4. Reverse rate dependence of effects of dofetilide on QTs interval. Representative example of the QTs versus R-Rs relation for 1 volunteer during C_h and D_h . This relation appeared to be linear during both study periods. The QTs versus R-Rs slope was steeper during exposure to dofetilide. Prolongation of QTs duration therefore decreased when R-Rs cycle shortened. This dofetilide-induced prolongation (Δ) was 48 ms according to rate-independent analysis performed at a mean R-Rs cycle of 815 ms.

of dofetilide. Both recording periods reflected similar waking states. Dofetilide prolonged QT duration during D_h , and this effect was similar whether measurements were made from dynamic ECG techniques or from standard 12-lead ECG recordings. On the basis of resting 12-lead ECG recordings, there was a 45-ms rate-corrected QT prolongation (ie, 12%) compared with baseline value. This prolongation of ventricular repolarization was similar to that reported in the literature (9% to 12%).¹⁸ It was confirmed with the dynamic ECG techniques used in our study (mean mQT prolongation, 40 ms; ie, 11.7%)

New insight was provided by dynamic analysis of the QTs interval. The amount of QTs rate adaptation was modified by dofetilide. The extent of dofetilide-induced prolongation decreased as the cardiac cycle became shorter. The QTs/R-Rs slope increased from 0.130 at baseline (C_h) to 0.159 in the presence of dofetilide (D_h) (Figure 3, A). This type of change in QT rate adaptation reflects the so-called reverse rate dependence phenomenon.¹⁹ Similar behavior has been found with other class III antiarrhythmic agents both in vitro and in vivo.²⁰ Reverse rate dependence of QT prolongation has been shown with sotalol by means of monophasic action potentials²¹ or exercise testing.²² The reverse rate dependence of dofetilide-induced QTs prolongation observed in our study was consistent with previous in vitro²³⁻²⁵ and in vivo²⁶ findings. This behavior may be partially related to a decrease in dofetilide-induced I_{Kr} block at high extracellular levels of potassium because it occurs during tachycardia.^{27,28} Modification of the physiologic rate dependence of QT duration induced by class III antiar-

Table III. Prolongation of QTs interval (mean $\pm$ SD) measured by means of rate-independent analysis based on continuous ECG recordings

	R-Rs interval (ms)	Δ QTs interval (ms)
C_h versus D_h	600	$33 \pm 11^{*†}$
	800	$39 \pm 9^{*†}$
	1000	$45 \pm 9^{*†}$
C_l versus D_l	800	$10 \pm 16‡$
	1000	$12 \pm 13^{*†}$
	1200	$16 \pm 12^{*†}$

Comparisons were made between selected recordings periods (C_h , C_l , D_h , and D_l) as described in the Methods section.

*Mean change of QTs from baseline significantly different from zero.

† $P < .05$.

‡Not significant.

rhythmic agents may alter their antiarrhythmic and proarrhythmic effects. It has been postulated that the reverse rate dependence phenomenon may limit the antiarrhythmic properties of class III agents in cases of ventricular tachycardia.^{29,30} However, in vivo studies showed that the reverse rate dependence of QT prolongation was more pronounced with sotalol²² than with dofetilide.³¹

Homogeneous prolongation of ventricular repolarization is thought to be associated with a potentially beneficial antiarrhythmic effect. Gwilt et al.³² showed that dofetilide administered to anesthetized dogs resulted in a reduced heterogeneity of ventricular repolarization. Using isolated Purkinje fibers, Knijls et al.³³ found that dofetilide-induced prolongation of action potential duration persists even at short-coupled pacing intervals. Our results were consistent with these experimental data. We found persistent prolongation of QTs duration in the presence of dofetilide at short R-Rs cycles, for example, 33 ms prolongation at an R-Rs cycle length of 600 ms (Table II). Such a persistent class III effect at rapid heart rates was also found during exercise tests performed after repeated administration of dofetilide to healthy subjects.³¹ In contrast, Okada et al.²⁶ found no significant prolongation of QT duration at short cardiac cycles after dofetilide administration to patients with heart disease. The study by Okada et al.²⁶ was based on dynamic ECG recordings and analysis of data during both day and night recording periods, thus mixing beats obtained under different sympathovagal influences. Moreover, unlike in our study, QRST complexes were analyzed regardless of heart rate environment. These methodologic issues may explain the discrepancy between the 2 studies. We believe the approach used by Okada et al.²⁶ could be biased with respect to the assessment of the effects of dofetilide on ventricular repolarization.

Although there is some reverse rate dependence of QTs prolongation during dofetilide administration, the phenomenon is limited to marked prolongation of ventricular repolarization that persists when heart rate increases. This theoretically should be associated with the persisting antiarrhythmic effect of dofetilide in the context of tachycardia, a property believed to be of potential clinical benefit. However, amplification of QT prolongation during slow heart rates, the other side of the reverse rate dependence phenomenon, is considered potentially dangerous because of increased risk for torsades de pointes.

Ambulatory recording versus standard 12-lead ECG for the detection of minimal drug-induced QTs interval prolongation. Because of our study design, we were able to select a period of time distant from dofetilide administration (D_1 study-period) during which plasma concentration of the drug was very low. Analysis of QTs interval with our dynamic ECG recording technique helped us detect a 12-ms, or 3.2%, prolongation of mean mQT duration ($P < .05$) recorded at a mean R-Rs interval of 1022 ms during the study period. With this technique we also were able to measure QTs interval from QRST complexes selected during stable heart rates with R-Rs cycles ranging from 800 to 1200 ms (Table III). This allowed analysis of the reverse rate dependence of dofetilide-induced QTs prolongation, which was observed despite low plasma concentrations. The phenomenon also was found by means of dynamic ECG analysis and comparisons of the slopes of QTs versus R-Rs relations. Thus our technique of analyzing dynamic ECG recordings yielded much more information than routine 12-lead surface ECG recording, although the constraints on participants were minimal.

QT interval analysis from standard 12-lead ECG recordings made during the D_1 study-period yielded conflicting results depending on the formula used to correct QT interval for heart rate. In contrast with the results obtained from dynamic ECG recordings, no significant QTc_B prolongation was found 12 to 24 hours after dofetilide administration, according to the Bazett square root formula. However, with the Fridericia cubic root formula, small (8 ± 9.9 ms) but significant QTc_F prolongation was detected 24 hours after dofetilide administration. This result agreed with dynamic ECG measurements, again emphasizing the superiority of the cubic root formula over the square root formula, as previously reported by several independent investigators.^{13,22,34,35}

Study limitations. Analysis of the effects of dofetilide on ventricular repolarization was based on 2

dynamic ECG recordings obtained under slightly different conditions. The control recording was obtained before hospital admission while subjects were ambulatory and active. The recording with dofetilide was performed with subjects who were participating in a phase I study and in a resting state in the hospital. These different recording conditions may explain why the R-R cycle was shorter during the C_h than during the D_h study period. The differences might have contributed to alteration of the slope of the QTs versus R-Rs relation in a different manner during the 2 study periods. However, on one hand, comparisons of C_1 and D_1 study periods (ie, low dofetilide plasma concentrations) were based on data acquired during sleep when heart rate varied in the same range. They yielded results similar to those obtained from the comparisons of the C_h and D_h study periods. On the other hand, 2 hypotheses may account for the increase in rate dependence during D_h : either the effect of dofetilide itself or the reduction in sympathetic tone. According to the comparison of C_h and C_1 periods, QTs rate dependence increases during waking time in a context of a sympathetic predominance of the autonomic nervous system. In that case, the decreased sympathetic tone during D_h would be responsible for an opposite trend of reduction rather than an increase in rate dependence of the QTs interval. These concordant arguments convincingly point out a dofetilide-related reverse rate dependence of ventricular repolarization.

There is a known increased risk of torsades de pointes among women treated with *d*-sotalol.⁶ Only men participated in this protocol. Further studies are required to determine whether our results can be extrapolated to women.

In conclusion, the extent of QT prolongation produced by the new class III antiarrhythmic agent dofetilide is influenced by heart rate. Prolongation of ventricular repolarization decreases when heart rate increases. However, this reverse rate dependence phenomenon is only partial, and marked prolongation of ventricular repolarization persists at higher physiologic heart rates. Although conventional surface 12-lead ECG recordings allow careful analysis of drug-induced QT prolongation, the information provided is limited compared with that obtained from our dynamic ECG recording analysis. This technique can alleviate the problems raised by the use of QT correction formulas because uncorrected QTs analysis is performed on QRST complexes selected at predetermined and fixed heart rates. It can also be used to assess the rate dependence of drug-induced QT prolongation without the need for obtaining QT measurements at extreme heart

rates, such as during exercise testing or pacing. Finally, the results of our study confirmed that the Fridericia cubic root formula is superior to the Bazett square root formula in the correction of QT duration for heart rate.

References

1. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial Investigators. Mortality and morbidity in patients receiving encainide, flecainide or placebo: The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial. *N Engl J Med* 1991;324:781-8.
2. Julian DG, Camm AJ, Frangin G, Janse MJ, Munoz A, Schwartz PJ, et al. Randomised trial of effect of amiodarone on mortality in patients with left-ventricular dysfunction after recent myocardial infarction: EMIAT. *Lancet* 1997;349:667-74.
3. Tham TC, MacLennan BA, Burke MT, Harron DW. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the class III antiarrhythmic agent dofetilide (UK-68,798) in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21:507-12.
4. Gwilt M, Arrowsmith JE, Blackburn KJ, Burges RA, Cross PE, Dalrymple HW, et al. UK68,798: a novel, potent and highly selective class III antiarrhythmic agent which blocks potassium channels in cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;256:318-24.
5. Le Coz F, Funck-Brentano C, Morell T, Ghadanfar MM, Jaillon P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of the effects of oral and intravenous administrations of dofetilide on ventricular repolarization. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57:533-42.
6. Waldo AL, Camm AJ, de Ruyter H, Friedman PL, MacNeil DJ, Pitt B, et al. Effect of δ -sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. *Lancet* 1996;348:7-12.
7. The DIAMOND study group, Denmark. Dofetilide in patients with left ventricular dysfunction and either heart failure or acute myocardial infarction: rationale, design and patients characteristics of the DIAMOND studies. *Clin Cardiol* 1997;20:704-10.
8. Maison-Blanche P, Coumel P. Changes in repolarization dynamics and the assessment of the arrhythmia risk. *Pacing Clin Electrophysiol* 1997;20(suppl 2):2614-24.
9. Neyroud N, Maison-Blanche P, Denjoy I, Chevret S, Donger C, Dausse E, et al. Diagnostic performance of QT interval variables from 24-hour electrocardiography in the long QT syndrome. *Eur Heart J* 1998;19:158-65.
10. Locati EH, Maison-Blanche P, Dejode P, Cauchemez B, Coumel P. Spontaneous sequences of onset of torsade de pointes in patients with acquired prolonged repolarization: quantitative analysis of Holter recordings. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1564-75.
11. Walker DK, Ahme GW, Arrowsmith JE, Cross PE, Kaye B, Smith DA, et al. Measurement of the class III antidysrhythmic drug, UK-68,798, in plasma by radioimmunoassay. *J Pharm Biomed Anal* 1991;9(Part 2):141-9.
12. Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952;6:378-88.
13. Puddu PE, Jouve R, Mariotti S, Giampaoli S, Lanti M, Reale A, et al. Evaluation of 10 QT prediction formulas in 881 middle-aged men from the seven countries study: emphasis on the cubic root Fridericia's equation. *J Electrocardiol* 1988;21:219-29.
14. Maison-Blanche P, Ciatuli D, Fayn J, Coumel P. QT interval, heart rate and ventricular arrhythmias. In: Moss AJ, Stem S, editors. *Noninvasive electrocardiology: clinical aspects of Holter monitoring*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 383-404.
15. Fayn J, Rubel P. CAVIAR, a serial ECG processing system for the comparative analysis of VCGs and their interpretation with auto-reference to the patient. *J Electrocardiol* 1988;21(suppl):173-6.
16. Fayn J, Hamidi S, Maison-Blanche P, Bozza F, Rubel P, Coumel P. Quantitative assessment of changes in the repolarization phase in Holter recordings using CAVIAR. In: *Computers in cardiology*. IEEE Computer Society Press; 1992. p. 175-8.
17. Altman DG, Gardner MJ. Calculating confidence interval for regression and correlation. *Br Med J* 1988;286:1238-42.
18. Gemmill JD, Howie CA, Meredith PA, Kelman AW, Rasmussen HS, Hillis WS, et al. A dose-ranging study of UK-68,798, a novel class III anti-arrhythmic agent, in normal volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1991;32:429-32.
19. Carmeliet E. Use-dependent block and use-dependent unblock of the delayed rectifier K⁺ current by almokalant in rabbit ventricular myocytes. *Circ Res* 1993;73:857-68.
20. Funck-Brentano C. Rate dependence of class III actions in the heart. *Fundam Clin Pharmacol* 1993;7:51-9.
21. Schmitt C, Brachmann J, Karch M, Waldecker B, Navarrete L, Montero M, et al. Reverse use-dependent effects of sotalol demonstrated by recording monophasic action potentials of the right ventricle. *Am J Cardiol* 1991;68:1183-7.
22. Funck-Brentano C, Kibeleur Y, Le Coz F, Poirier JM, Mallet A, Jaillon P. Rate dependence of sotalol-induced prolongation of ventricular repolarization during exercise in humans. *Circulation* 1991;83:536-45.
23. Tande PM, Bjornstad H, Yang T, Refsum H. Rate dependent class III antiarrhythmic action, negative chronotropy, and positive inotropy of a novel I_K blocking drug, UK-68,798: potent in guinea pig but no effect in rat myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16:401-10.
24. Jurkiewicz NK, Sanguinetti MC. Rate dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent: specific block of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current by dofetilide. *Circ Res* 1993;72:75-83.
25. Rasmussen HS, Allen MJ, Blackburn KJ, Butrous GS, Dalrymple HW. Dofetilide, a novel class III antiarrhythmic agent. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20(suppl 2):96-105.
26. Okada Y, Ogawa S, Sudanaga T, Mitamura H. Assessment of reverse use-dependent blocking actions of class III

- antiarrhythmic drugs by 24-hour Holter electrocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:84-9.
27. Yang T, Roden DM. Extracellular potassium modulation of drug block of I_{K_r} : implications for torsade de pointes and reverse use-dependence. *Circulation* 1996;93:407-11.
 28. Baskin EP, Lynch JJ. Comparative effects of increased extracellular potassium and pacing frequency on the class III activities of methanesulfonanilide I_{K_r} blockers dofetilide, D-sotalol, E-4031, and MK-499. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:199-208.
 29. Hondeghem LM, Snyders DJ. Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go: reduced effectiveness and dangers of reverse-use dependence. *Circulation* 1990;81:686-90.
 30. Sadanaga T, Ogawa S, Okada Y, Tsutsumi N, Iwanaga S, Yoshikawa T, et al. Clinical evaluation of the use-dependent QRS prolongation and the reverse use-dependent QT prolongation of class I and class III antiarrhythmic agents and their value in predicting efficacy. *Am Heart J* 1993;126:114-21.
 31. Démolis JL, Funck-Brentano C, Ropers J, Ghadanfar M, Nichols DJ, Jaillon P. Influence of dofetilide on QT interval duration and dispersion at various heart rates during exercise in humans. *Circulation* 1996;94:1592-9.
 32. Gwilt M, King RC, Milne AA, Solca AM. Dofetilide, a new class III antiarrhythmic agent, reduces pacing induced heterogeneity of repolarisation in vivo. *Cardiovasc Res* 1992;26:1102-8.
 33. Knifans TK, Lathrop DA, Nanasi PP, Schwartz A, Varro A. Rate and concentration-dependent effects of UK-68,798, a potent new class III antiarrhythmic, on canine Purkinje fibre action potential duration and V_{max} . *Br J Pharmacol* 1991;103:1568-72.
 34. Funck-Brentano C, Jaillon P. Rate-corrected QT interval: techniques and limitations. *Am J Cardiol* 1993;72(suppl): 17-22.
 35. Day CP, James OF, Butler TJ, Campbell RW. QT prolongation and sudden cardiac death in patients with alcoholic liver disease. *Lancet* 1993;341:1423-8.

Article 8

Amiodarone reduces transmural heterogeneity of repolarization in the human heart.
Drouin E, Lande G, Charpentier F.
***J Am Coll Cardiol.* 1998;32:1063-7.**

L'amiodarone est un antiarythmique dont l'efficacité est reconnue, et dont le caractère proarythmique est faible bien qu'il induise, entre autres, un blocage de HERG (effet de classe III). Le but de cette étude est d'évaluer l'effet de l'amiodarone sur les différentes sous-couches cellulaires constituant le myocarde humain (endocarde, épicarde, midmyocarde) à partir d'enregistrements de potentiels d'action. Les cellules proviennent de cœurs humains explantés normaux, ou insuffisants cardiaques, ou insuffisants cardiaques et traités de manière chronique par de l'amiodarone. La différence de durée entre les potentiel d'action les plus longs (midmyocarde) et les plus courts (endocarde et épicarde), est plus faible en présence d'amiodarone que dans les deux autres groupes. L'amiodarone aboutit à une diminution de la dispersion transmurale de la repolarisation ventriculaire.

Commentaire.

La dispersion transmurale de la repolarisation ventriculaire peut favoriser les mouvements de réentrée entre les différentes sous-couches cellulaires myocardiques, et de ce fait favoriser la survenue de tachycardies. L'amiodarone est un antiarythmique de classe III dont le profil pharmacologique est complexe, puisqu'il comporte également un effet de classe I, II, et IV. La diminution de la dispersion transmurale induite par ce médicament, et retrouvée tant chez l'homme dans notre article, que chez l'animal (129), pourrait expliquer le faible effet proarythmique de ce produit.

Amiodarone Reduces Transmural Heterogeneity of Repolarization in the Human Heart

EMMANUEL DROUIN, PhD,* GILLES LANDE, MD,† FLAVIEN CHARPENTIER, PhD‡

Nantes, France

Objectives. The present work was designed to test the effects of amiodarone therapy on action potential characteristics of the three cell types observed in human left ventricular preparations.

Background. The electrophysiologic basis for amiodarone's exceptional antiarrhythmic efficacy and low proarrhythmic profile remains unclear.

Methods. We used standard microelectrode techniques to investigate the effects of chronic amiodarone therapy on transmembrane activity of the three predominant cellular subtypes (epicardial, midmyocardial [M] and endocardial cells) spanning the human left ventricle in hearts explanted from normal, heart failure and amiodarone-treated heart failure patients.

Results. Tissues isolated from the ventricles of heart failure patients receiving chronic amiodarone therapy displayed M cell action potential duration (404 ± 12 ms) significantly briefer ($p <$

0.05) than that recorded in tissues isolated from normal hearts (439 ± 22 ms) or from heart failure patients not treated with amiodarone (449 ± 18 ms). Endocardial cells from amiodarone-treated heart failure patients displayed longer ($p < 0.05$) action potential duration (363 ± 10 ms) than endocardial cells isolated from normal hearts (330 ± 6 ms). As a consequence, the heterogeneity of ventricular repolarization in tissues from patients treated with amiodarone was considerably smaller than in the two other groups, especially at long pacing cycle lengths.

Conclusions. These findings may explain, at least in part, the reduction of ventricular repolarization dispersion and the lower incidence of torsade de pointes observed with chronic amiodarone therapy as compared with other class III agents.

(*J Am Coll Cardiol* 1998;32:1063-7)

©1998 by the American College of Cardiology

Antiarrhythmic drugs can induce unexpected and sometimes fatal reactions by either aggravating existing arrhythmias or by producing new symptomatic arrhythmias. Torsade de pointes (TdP) is the most common arrhythmia induced by agents with class III actions (for recent review, see reference 1). In contrast to most class III drugs, amiodarone has been found to be safer in this regard and has even been used successfully in patients who had developed TdP with other agents (2,3). The electrophysiologic mechanism(s) responsible for the salutary effects of amiodarone and its low arrhythmogenicity remain incompletely understood (1).

The mechanisms that underlie sustained episodes of TdP are not well understood. The role of early afterdepolarizations (EADs)-induced triggered activity is far from clear. The development or accentuation of dispersion of repolarization between contiguous myocardial areas leading to circus movement of reentry as a mechanism for TdP has also been suggested (4) and are potentiated by bradycardia (5,6). Some have suggested

that TdP may be due to triggered activity originating at two independent foci (7). A spiral wave of reentrant excitation migrating along the epicardial surface is another possible mechanism (8).

Recent studies have shown that EAD activity can be induced in a select population of cells located in the midmyocardial (M) region of the canine ventricle. M cells, but not epicardial and endocardial cells, display a marked action potential prolongation and/or EADs in response to antiarrhythmic drugs such as quinidine or dl-sotalolol (9). The preferential prolongation of the M cell action potential results in a marked dispersion of ventricular recovery, creating a zone of functional refractoriness in the midmyocardial layers of the ventricular wall, an ideal substrate for reentry (for review, see reference 10). We have also identified these three cell subtypes in the human heart (11).

It has been suggested that the negligible tendency of amiodarone to induce TdP may derive from the fact that it not only prolongs ventricular repolarization, like other class III agents, but also reduces dispersion of repolarization (12). Another hypothesis could be that, unlike other class III drugs, chronic amiodarone reduces, rather than augments, transmural dispersion of repolarization at slow rates. The present study was designed to test this hypothesis using tissues from hearts explanted from patients with and without chronic amiodarone therapy.

From the *Department of Neonatology; the †Department of Cardiology; and the ‡Laboratoire de Physiopathologie et Pharmacologie Cellulaires et Moléculaires INSERM CJP96-01, Centre Hospitalo-Universitaire de Nantes, Nantes, France.

Manuscript received March 5, 1997; revised manuscript received April 15, 1998; accepted June 12, 1998.

Address for correspondence: Dr. Emmanuel Drouin, Department of Neonatology, Hôpital Mère & Enfant, Centre Hospitalo-Universitaire de Nantes, 10 quai Moncousu, 44093 Nantes Cedex 01, France.

Abbreviations and Acronyms

AM	=	group of patients treated with amiodarone
APD	=	action potential duration
EAD	=	early afterdepolarization
ECG	=	electrocardiogram
HF	=	group of patients with heart failure
NH	=	group of patients with normal heart
PCL	=	pacing cycle length
TdP	=	torsade de pointes
V_{max}	=	maximal rate of rise of phase 0 of the action potential

Methods

Patient characteristics are summarized in Table 1. Electrophysiologic studies were performed on tissues isolated from explanted hearts of 1) patients with normal hearts (group NH), 2) patients with heart failure not treated with amiodarone (group HF) and 3) patients with heart failure treated with amiodarone (group AM). Even chronically administered, the duration of the amiodarone therapy was rather short (mean 12 weeks, range 3 to 32 weeks) without loading dose. The mean daily dosage was 182 ± 16 mg/day (range 170 to 200). Cardioplegia was not performed. The normal hearts were obtained from three patients with cystic fibrosis undergoing heart-lung transplantation and from one donor whose heart could not be matched.

After excision, the hearts were immediately immersed in oxygenated cold Tyrode's solution containing (in mM): NaCl, 131; NaH_2PO_4 , 1.8; MgCl_2 , 0.5; CaCl_2 , 2.7; KCl, 4; glucose, 5.5; mannitol, 1.1; HEPES (N-[2-hydroxyethyl] piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]), 5; pH adjusted to 7.35 with Tris ([hydroxymethyl] amiodarone). The hearts were transported to the laboratory in less than 5 min. The experimental preparations consisted of transmural slices of the left ventricular free wall (for detail, see reference 11). They were placed in a tissue bath and superfused with oxygenated (95% O_2 /5% CO_2) Tyrode's solution ($37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, pH 7.35) containing (in mmol/liter): NaCl, 131; KCl, 4; NaH_2PO_4 , 1.8; NaHCO_3 , 18; CaCl_2 , 2.7; MgCl_2 , 0.5; D-glucose, 5.5; mannitol, 1.1. The flow rate in the tissue chamber was 12 ml/min resulting in three changes of chamber volume per minute.

Tissues were impaled with 3 M KCl-filled glass capillary microelectrodes. The electrodes were connected via an Ag/AgCl interface to an amplifier having a high input impedance and input capacity neutralization (Biologic VF-102 frame). Output was displayed on a digital storage oscilloscope (Gould 1604, USA) coupled by a 488 IEEE-interface to a plotter (Gould Colorwriter 6300), a chart recorder (Gould 8188) and a modified digital audioprocessor (Sony PCM-501ES, Japan) coupled to a videotape recorder (JVC HR-D755S). The tissue chamber was connected to ground through a salt bridge (3 M KCl) and an Ag/AgCl junction.

Electrophysiologic studies were performed after 2 h of recovery, during which time tissues were paced at a cycle length of 1 s via Teflon-coated bipolar silver wire electrodes. Stimulus pulse width was 1.5 ms and amplitude was twice diastolic threshold. During the experiments, the action potentials (AP) were recorded at pacing cycle lengths (PCL) of 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 10 s (always in this sequence). Action potential characteristics were measured at steady state for each PCL. We measured the maximal diastolic potential, the amplitude of phase 0, the maximal rate of rise of phase 0 (V_{max}) and the AP duration at 90% of full repolarization (APD_{90}). Only data from impalements that were maintained throughout the course of the experiment were analyzed.

JT interval instead of QT interval was used to assess ventricular repolarization duration on standard electrocardiogram (ECG). This limits the bias linked to the varying QRS duration. The JT interval duration was determined from the end of the QRS complex to the end of the T wave. The end of the T wave was defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal down slope of the T wave (13). Considering the large range of RR intervals in our study (Table 1), we decided to correct the JT interval using the Fridericia formula ($\text{JTc} = \text{JT}/(\text{RR})^{1/3}$). The latter formula has been shown to limit the deficiencies of the Bazett formula ($\text{JTc} = \text{JT}/(\text{RR})^{1/2}$) when correcting QT interval duration for a wide range of heart rate (14,15). We used the mean of five consecutive JT intervals on lead V_2 from a standard ECG.

Data were expressed as mean $\pm$ SE. Statistical analysis was performed using nonparametric Wilcoxon or U-Mann-Whitney tests, for paired or unpaired data, respectively. The

Table 1. Patient Characteristics

	N (sex)	Age (yr)	Disease	RR (ms)	JT (ms)	JTc (ms)
Group AM	5 (1 F, 4 M)	34-60	1 DC 3 CI 1 IC	554 ± 63 (n = 5)	228 ± 24	278 ± 22
Group HF	2 (2 M)	55-58	2 DC	726 ± 50 (n = 2)	249 ± 2	277 ± 8
Group NH	4 (2 F, 2 M)	14-46	3 CF 1 normal donor	809 ± 277 (n = 3)	295 ± 25	321 ± 19

CF = cystic fibrosis; CI = cardiac infarct; DC = dilated cardiomyopathy; F = female; group AM = patients with heart failure treated with amiodarone; group HF = patients with heart failure not treated with amiodarone; group NH = patients with normal heart; IC = ischemic cardiomyopathy; M = male; N = number of patients for the study; n = number of ECG available.

Table 2. Characteristics of Action Potentials Recorded at a Pacing Cycle Length of 1 s in Epicardial, M Region and Endocardial Cells

		Epicardium	M region	Endocardium
MDP (mV)	Group AM	-90 ± 1	-88 ± 1	-87 ± 1
	Group HF	-85 ± 1	-85 ± 1	-87 ± 3
	Group NH	-86 ± 1	-86 ± 4	-87 ± 1
Ph 0 amp (mV)	Group AM	107 ± 4	110 ± 2 [#]	104 ± 2
	Group HF	98 ± 2	108 ± 4 [§]	105 ± 4
	Group NH	104 ± 2	105 ± 3	105 ± 2
V _{max} (V/sec)	Group AM	139 ± 27	162 ± 11 [*]	126 ± 12
	Group HF	171 ± 11	320 ± 38 [*]	180 ± 45
	Group NH	228 ± 11	326 ± 16 [*]	234 ± 28
APD ₉₀ (msec)	Group AM	356 ± 3	404 ± 12 ^{**}	363 ± 10
	Group HF	358 ± 4	449 ± 18 [*]	382 ± 18
	Group NH	351 ± 14	439 ± 22 [*]	330 ± 16 ^{**}

*p < 0.05 vs. epicardium and endocardium; #p < 0.05 vs. endocardium; §p < 0.05 vs. epicardium; **p < 0.05 vs. groups HF and AM; *p < 0.05 vs. groups HF and NH. APD₉₀ = action potential duration at 90% of full repolarization; group AM = patients with heart failure treated with amiodarone; group HF = patients with heart failure not treated with amiodarone; group NH = patients with normal heart; MDP = maximum diastolic potential; Ph 0 amp = phase 0 amplitude; V_{max} = maximum upstroke velocity of phase 0 of the action potential.

effects of PCL on APD₉₀ were determined by two-way analysis of variance. A value of p < 0.05 was considered significant.

Results

Action potential configuration. Table 2 summarizes the AP characteristics of the three cell types observed in human left ventricular preparations paced at a cycle length of 1 s. These data are illustrated in Figure 1. There was no significant difference in resting potential and amplitude of phase 0 between the cellular subtypes and from one group to another. V_{max} was significantly higher in M cells than in epicardial and endocardial cells for all groups. However, V_{max} was decreased in all cellular subtypes of ventricular preparations from the AM group relative to the NH and HF groups. In all cases, APD₉₀ was significantly higher in M cells than in other cell types. However, APD₉₀ of M cells was significantly reduced in

group AM compared to groups HF (p < 0.05) and NH (p < 0.05), whereas APD₉₀ of epicardial cells was unchanged and APD₉₀ of endocardial cells was greater in the HF (p < 0.05) and AM (p < 0.05) groups than in the NH group.

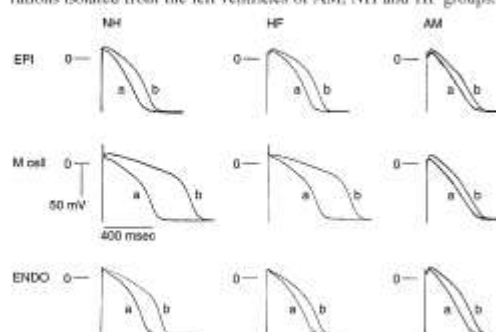
Rate-dependence of action potential duration. Figure 2 shows APD₉₀-rate relations of the three cellular subtypes in the three groups studied. Treatment with amiodarone had little effect on epicardial and endocardial cells. However, after treatment with amiodarone, APD₉₀ of M cells was significantly reduced (p < 0.05), especially at long PCL, and the slope of their APD₉₀-rate relation was no longer steeper than that of other cellular subtypes; the typical response of M cells to bradycardia, that is, the large increase of their APD, was lost (see also Fig. 1).

Discussion

Amiodarone is a unique antiarrhythmic compound with poorly understood electrophysiologic effects (16). It acts primarily by prolonging ventricular repolarization (16,17), and for this reason has been defined as a class III antiarrhythmic agent, but its electrophysiologic effects fit all four classes (16). Amiodarone differs from other class III agents in reducing QT dispersion (12). Besides its remarkable antiarrhythmic and antifibrillatory efficacy, this compound has a low proclivity to induce proarrhythmia despite its significant class I properties. The precise mechanism for this low incidence of amiodarone-associated proarrhythmia remains speculative, but differential effects on APD of varying lengths in ventricular myocardium could be involved in this unexplained paradox.

Amiodarone and transmural heterogeneity. Up to now the effects of amiodarone treatment on M cells in the human heart were not known. This study suggests that chronic treatment with amiodarone reduces the transmural dispersion of ventricular repolarization in human heart. This comes from a differ-

Figure 1. Action potentials recorded under steady-state conditions at PCLs of 1 s (a) and 10 s (b) from epicardial (EPI), deep subepicardial (M cell) and endocardial (ENDO) regions of transmural preparations isolated from the left ventricles of AM, NH and HF groups.



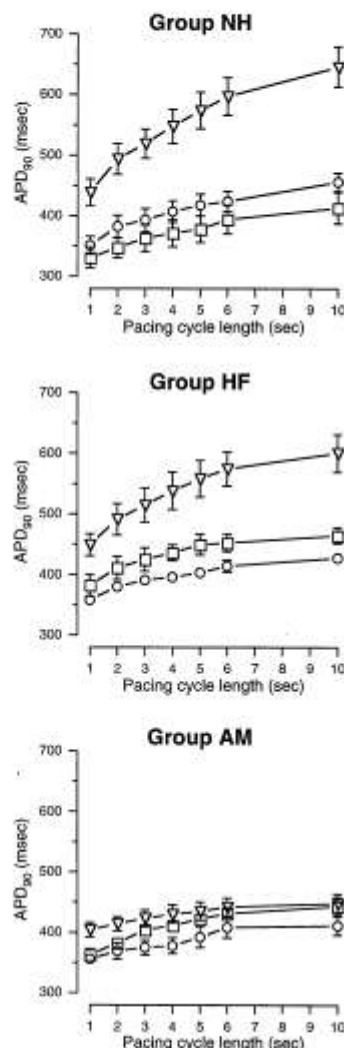


Figure 2. Effects of PCL on APD₅₀ in NH (16 preparations), HF (6 preparations) and AM (11 preparations) groups. Epicardial, endocardial and M cells are depicted by circles, squares and triangles, respectively.

ential effect of amiodarone on repolarization of the different cellular subtypes. In the AM group, the heterogeneity of ventricular repolarization was considerably smaller than in the two other groups, especially at long PCLs. Comparable results were found by Sicouri et al. (18) in dogs chronically treated with amiodarone. These authors showed that APD in M cells was reduced by amiodarone, especially at long PCLs, while APD in endocardium was prolonged. These results, that is, an

important decrease in transmural dispersion of repolarization, are typically those obtained in our study. They also showed that the epicardial AP was the least modified by amiodarone, which is what we also observed.

It is of interest that previous studies showing that chronic amiodarone prolongs the AP of ventricular myocardium were performed on endocardium isolated from normal animals. A differential effect of amiodarone has also been observed by Yabek et al. (19), who showed that superfusion with amiodarone reduced APD of Purkinje fibers from nontreated dogs, but prolonged APD of the surrounding myocardium.

M cells have electrophysiologic properties similar to those of Purkinje cells: their APs are longer than that of other cellular subtypes and they are markedly prolonged by bradycardia. After treatment with amiodarone, the APD of M cells no longer increases dramatically with PCL. It was shown that M cells, because of their typical response to bradycardia, are more sensitive than other myocardial cells to drugs that prolong repolarization and induce EADs and triggered activity (9). This double effect of amiodarone, that is, to decrease transmural heterogeneity of ventricular repolarization and to suppress M cells sensitivity to bradycardia, may explain its clinical properties. Indeed, the homogenization of ventricular repolarization (Fig. 2) could explain, at least in part, why amiodarone differs from other class III agents such as sotalol or sotalolol.

The absence of steeper APD-rate relationship of M cells could lead to a corresponding reduction in the possibility of pharmacologically induced EADs and reentrant mechanisms and may account for the lower incidence of TdP, compared to that after dl-sotalol or other class III which tend to increase APD in M cells to a greater extent than in epicardial and endocardial cells (10). As already noted, it is well known that EADs that give rise to TdP appear to arise in Purkinje network and M cells with transmission to ventricular muscle. Furthermore, it was reported that amiodarone may prove to be a suitable therapeutic option for TdP in patients with drug-induced TdP (2,3).

Another finding of this study is that heart failure does not seem to prolong repolarization of epicardial and M cells. Only endocardial APs were significantly prolonged compared to normal hearts. This prolongation of endocardial APs has already been observed in other studies (20).

Amiodarone and JTc interval. Amiodarone is well known to prolong QT interval (21). However, various responses in JTc prolongation depend on both the duration of the treatment and the dose. Pollack et al. (22) found that 70% of the JTc interval lengthening occurred between 9 and 12 months after treatment initiation. Besides, previous reports of patients receiving a mean dose of 380 mg/day showed only an 8% increase in JTc interval (23,24), whereas patients receiving 600 to 1,200 mg/day have shown a 23% increase (25). In our study, amiodarone did not induce a prolongation of the JTc interval, in agreement with our *in vitro* results. We believe that this effect was due to both a rather short duration of treatment and a small dose of amiodarone. These results are comparable

to those obtained by Sicouri et al. (18) in dogs. Thus, we can speculate that amiodarone treatment induces in a first time a decrease of the transmural heterogeneity and in a second time a prolongation of ventricular repolarization.

Limitations of the study. Aside from the obvious limitations inherent in studying tissues isolated from their native milieu, this study has the additional limitation of not being able to compare the effects of chronic amiodarone in normal hearts. The data, from which the actions of amiodarone are deduced, derive from a heterogeneous mixture of diseased hearts. Another limitation comes from the small number of patients with heart failure. This comes from the fact that amiodarone, or other drugs having major effects on repolarization, is frequently prescribed to patients with severe heart failure. These limitations notwithstanding, the results are sufficiently compelling to warrant further investigation into the problem.

Conclusion. In summary, these data indicate for the first time that an important aspect of the antiarrhythmic action of amiodarone in humans may be its differential electrophysiologic effects on the three cellular subtypes, leading to more homogeneous repolarization across the ventricular wall. This may explain at least in part the reduced incidence of TdP and ventricular fibrillation with amiodarone compared to other class III antiarrhythmic drugs. Finally, we should keep in mind that the electrophysiologic properties of amiodarone are probably more complex and multifactorial.

The authors contributed to this study the following way: Emmanuel Drouin, the in vitro experiments on the human hearts; Gilles Lande, the analysis of the ECGs and discussion; and Flavien Charpentier, the supervision of the work and preparation of the manuscript.

References

- Holmlöf SH, Singh BN. Proarrhythmia with class III antiarrhythmic drugs: definition, electrophysiologic mechanisms, incidence, predisposing factors and clinical implications. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1995;6:920-36.
- Nguyen PT, Scheinman MM, Seger J. Polymorphic ventricular tachycardia: clinical characterization, therapy and the QT interval. *Circulation* 1986;74:340-8.
- Lazzara R. Amiodarone and torsade de pointes. *Ann Intern Med* 1989;111:549-51.
- Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, et al. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial endocardial and M cells. *Circ Res* 1991;69:1427-49.
- el-Sherif N, Caref EB, Yin H, Restivo M. The electrophysiological mechanism of ventricular arrhythmias in the long QT syndrome. Tridimensional mapping of activation and recovery patterns. *Circ Res* 1996;79:474-92.
- Antzelevitch C. The M cell. Invited Editorial Comment. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1997;2:73-6.
- Wit AL, Rosen MR. Afterdepolarizations and triggered activity. In: Foxad HA, Haber E, Jennings RJ, et al., editors. *The Heart and Cardiovascular System*. New York: Raven Press, 1986:1449-91.
- Pertsov AM, Davidenko JM, Salomonsz R, Baxter WT, Jalife J. Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle. *Circ Res* 1993;72:631-50.
- Sicouri S, Antzelevitch C. Drug-induced afterdepolarizations and triggered activity occur in a discrete subpopulation of ventricular muscle cell (M cells) in the canine heart: quinidine and digitalis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4:48-58.
- Antzelevitch C, Sicouri S. Clinical relevance of cardiac arrhythmias generated by afterdepolarizations: role of M cells in the generation of U waves, triggered activity and torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:259-77.
- Drouin E, Charpentier F, Gauthier C, Laurent K, Le Marec H. Electrophysiological characteristics of cells spanning the left ventricular wall of human heart: evidence for the presence of M cells. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:185-92.
- Cui G, Sen L, Sager P, Uppal P, Singh BN. Effects of amiodarone, sotalolol, and sotalol on QT dispersion. *Am J Cardiol* 1994;74:896-900.
- Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952;6:378-88.
- Puddu PE, Jouve R, Mariotti S, et al. Evaluation of 10 QT prediction formulas in 881 middle-aged men from the seven countries study: emphasis on the cubic root Friedland's equation. *J Electrocardiol* 1988;21:219-29.
- Le Cox F, Funck-Brentano C, Morell T, Ghadafar MM, Jaillon P. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of the effects of oral and intravenous administrations of dofetilide on ventricular repolarization. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57:533-42.
- Nattel S, Talajic M, Ferrini B, Roy D. Amiodarone: pharmacology, clinical actions, and relationships between them. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1992;3:266-80.
- Singh BN, Nademanee K. Control of cardiac arrhythmias by selective lengthening of cardiac repolarization: theoretic considerations and clinical observations. *Am Heart J* 1985;109:421-30.
- Sicouri S, Moro S, Litovsky S, Elizari MV, Antzelevitch C. Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1997;8:1269-79.
- Yabek SM, Kato R, Singh BN. Acute effects of amiodarone on the electrophysiologic properties of isolated neonatal and adult cardiac fibers. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:1169-75.
- Peeters GA, Sanginetti MC, Eki Y, Konarzewski H, et al. Method for isolation of human ventricular myocytes from single endocardial and epicardial biopsies. *Am J Physiol* 1995;268:H1757-64.
- Singh BN. Antiarrhythmic actions of amiodarone: a profile of a paradoxical agent. *Am J Cardiol* 1996;78:41-53.
- Pollack PT, Sharma AD, Carruthers SG. Correlation of amiodarone dosage, heart rate, QT interval and corneal microdeposits with serum amiodarone and desethylamiodarone concentrations. *Am J Cardiol* 1989;64:1138-43.
- Debbas NM, du-Cailar C, Bexton RS, Demille JG, Camm AJ, Puech P. The QT interval: a predictor of the plasma and myocardial concentrations of amiodarone. *Br Heart J* 1984;51:316-20.
- Greenberg ML, Lerman BB, Shippe JR, Kaiser DL, DiMarco JP. Relation between amiodarone and desethylamiodarone plasma concentrations and electrophysiologic effects, efficacy and toxicity. *J Am Coll Cardiol* 1987;9:1148-55.
- Nademanee K, Hendrickson JA, Cannon DS, Goldreyer BN, Singh BN. Control of refractory life-threatening ventricular tachyarrhythmias by amiodarone. *Am Heart J* 1981;101:759-68.

III. LE DEPISTAGE *IN VIVO* DES MEDICAMENTS ARYTHMOGENES

1. Article 9

Transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part II: Pharmacological profile.

Lande G, Demolombe S, Bammert A, Moorman A, Charpentier F, Escande D.
***Cardiovasc Res.* 2001;50:328-34.**

L'objectif de cette étude est d'évaluer un modèle de souris transgénique dans le dépistage *in vivo* des médicaments bloqueurs de I_{Kr} .

Ce modèle, décrit dans un premier article (31), surexprime l'isoforme dominant-négatif de KvLQT1. Son phénotype comporte un allongement de la durée de l'intervalle QT, mais aussi une dysfonction sinusale et des troubles de conduction auriculo-ventriculaires à l'étage nodal. Le potentiel d'action est allongé, et il existe un remodelage de l'expression des courants ioniques aboutissant à une diminution de l'intensité des courants potassiques.

Différentes molécules ont été injectées par voie intra-péritonéale après anesthésie générale à l'éthomidate et blocage du système nerveux autonome (atropine et propranolol). L'effet de ces molécules a été évalué sur la repolarisation ventriculaire, dans un groupe contrôle et chez les souris transgéniques par mesure de la durée de la phase rapide de l'onde T sur l'électrocardiogramme (QTr). La durée de l'intervalle QTr a été corrigée en fonction de la fréquence cardiaque selon une formule adaptée aux valeurs de cycle retrouvées chez la souris (QTrc). Le dofétilide, un bloqueur spécifique de I_{Kr} n'allonge pas la repolarisation ventriculaire des souris, mais allonge le cycle cardiaque chez les souris transgéniques de manière dose-dépendante. Le même résultat est obtenu avec d'autres bloqueurs de I_{Kr} comme l'E 4031, l'halopéridol, le sultopride, l'astémizole, le cisapride ou le térikalant. Par contre, le tédisamil, un bloqueur de I_{to} , allonge le QTrc de manière dose-dépendante chez les souris standard mais pas chez les souris transgéniques, alors qu'une bradycardie est observée dans les deux groupes. La lidocaïne, bloqueur de I_{Na} , entraîne un raccourcissement dose-dépendant de la durée de l'intervalle QTrc chez les souris transgéniques. La nicardipine, bloqueur de I_{CaL} , entraîne un raccourcissement dose-dépendant de la durée de l'intervalle QTrc associé à une dysfonction sinusale, à la fois chez les souris standard et les souris transgéniques. En conclusion, le profil pharmacologique des souris transgéniques invalidées fonctionnellement pour le gène KvLQT1, permet d'identifier *in vivo* les molécules bloquant I_{Kr} par rapport aux molécules bloquant I_{to} , I_{Na} , ou I_{CaL} .

Commentaire.

Compte tenu des différences électrophysiologiques existant chez les petits rongeurs par rapport aux mammifères de plus grande taille (comme le chien ou l'homme), il n'est pas surprenant d'observer des profils pharmacologiques différents chez la souris après injection d'un bloqueur de I_{Kr} , I_{to} , I_{Na} ou I_{CaL} . Ainsi, I_{Kr} joue un rôle mineur dans la repolarisation ventriculaire chez la souris alors qu'il a un rôle majeur chez l'homme ou le chien. Les bloqueurs de I_{Kr} n'allongent donc pas l'intervalle QT de la souris, transgénique ou non.

*Le dépistage *in vivo* des molécules bloquant HERG, donc I_{Kr} , représente un élément important dans le domaine de la pharmacologie de sécurité. L'excellent rendement économique de la souris (petite taille, reproduction rapide), en comparaison du chien par exemple, en fait une espèce de choix pour l'expérimentation animale si est confrontée à des contraintes de rapidité de résultat et de volume d'expériences. Le modèle de souris*

transgénique invalidée fonctionnel pour KvLQT1 pourrait trouver une place de choix dans le dépistage précoce in vivo des molécules en développement bloquant I_{Kr} .



Transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform

Part II: Pharmacological profile

Gilles Lande^a, Sophie Demolombe^a, Antoine Bammert^a, Antoon Moorman^b, Flavien Charpentier^a, Denis Escande^{a,*}

^aINSERM U533, Laboratoire de Physiopathologie et de Pharmacologie Cellulaires et Moléculaires G&R Laennec, Faculté de Médecine, 1 rue Gaston Veil, 44035 Nantes Cedex 01, France

^bExperimental and Molecular Cardiology Group, and Facility for Genetically Modified Mice, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Received 17 October 2000; accepted 19 January 2001

Abstract

Objective: The acquired long QT syndrome results most often from the action of I_{K_r} blocking-drugs on cardiac repolarization. We have evaluated a transgenic (TG) mouse (FVB) overexpressing a dominant-negative KvLQT1 isoform, as an in vivo screening model for I_{K_r} blocking drugs. **Results:** In TG mice, six-lead ECGs demonstrated sinus bradycardia, atrioventricular block, and QTc prolongation. Various drugs were injected intraperitoneally after blockade of the autonomic nervous system and serial ECGs were recorded. The end of the initial rapid phase of the T wave corrected for heart rate using a formula for mouse heart (QTc), was used as a surrogate for the QT interval. Dofetilide, a specific I_{K_r} blocker, did not prolong the QTc interval either in TG or in wild-type (WT) mice but dose-dependently lengthened the sinus period in TG mice but not in WT mice. Other I_{K_r} blockers including E 4031, haloperidol, sultopride, astemizole, cisapride and terkalant behaved similarly to dofetilide. Tedisamil, a blocker of the transient outward current, dose-dependently prolonged the QTc in WT mice but not in TG mice and also reduced the sinus rhythm in both WT and TG mice. Lidocaine dose-dependently shortened the QTc interval in TG mice and also lengthened the P wave duration. Nicardipine dose-dependently shortened QTc and also produced sinus arrest in both WT and TG mice. **Conclusions:** We conclude that KvLQT1-invalidated TG mice discriminates in vivo drugs that blocks I_{K_r} from drugs that block the transient outward current, the sodium current or the calcium current. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Antiarrhythmic agents; Congenital defects; ECG; K-channel; Long QT syndrome; Repolarization

1. Introduction

The congenital long QT (LQT) syndrome is characterized by a prolonged QT interval on the surface ECG, and is most often related to mutations in *KCNQ1*, a gene encoding for KvLQT1 K⁺ channel proteins [1]. In concert with its regulator minK, KvLQT1 channel underlies the slow component of the cardiac delayed rectifier current I_{K_s} [2,3]. It has been suggested that the acquired (drug-induced) long QT syndrome matches with silent forms of

LQT gene mutations revealed by drugs. Indeed, the LQT syndrome has a low penetrance with up to 70% of LQT silent gene carriers having normal QTc interval in some families [4,5]. Silent gene carriers remain at high risk for sudden death, particularly after intake of one of the numerous drugs that delayed cardiac repolarization [6]. Most of these drugs alter cardiac repolarization by blocking the fast component of the cardiac delayed rectifier current I_{K_r} . Their identification at a preclinical stage remains a complex and challenging issue. In vitro testing can be conducted using action potential recordings and patch-clamp experiments [6]. In vivo testing exploring the

*Corresponding author. Tel.: +33-2-4041-2949; fax: +33-2-4041-2950.

E-mail address: denis.escande@nantes.inserm.fr (D. Escande).

Time for primary review 27 days.

effects of the parent compound but also of its metabolites can be established using multilead ECG recordings. However, currently available *in vivo* models are unsatisfactory (for a recent review see [6]).

We have established a transgenic (TG) mouse model in which KvLQT1 has been functionally invalidated by overexpression of its dominant negative isoform [7]. This KvLQT1 mouse model shares some common features with the long QT syndrome in patients including long QT and sinus node dysfunction [8,9]. We hypothesised that transgenic mice would be sensitised to the action of I_{K_r} pharmacological blockers and therefore that the TG model may demonstrate some value as an *in vivo* model to identify drugs that delay repolarization in human. Using standard ECG recordings, we found that drugs known to alter cardiac repolarization in human do not prolong the QTc interval in TG mice but instead profoundly affect sinus node automaticity in TG mice. Using various ECG parameters, we show that our transgenic LQT model discriminates drugs that block I_{K_r} from drugs that block the transient outward current, the sodium current or the calcium current.

2. Methods

2.1. Study design

Pharmacological characterisation of KvLQT1 deficient TG mice was conducted in 124 WT and 132 TG mice by means of surface ECG recordings. We have established different KvLQT1-deficient lineages [7]. Among these, a lineage with a phenotype of intermediary severity (H08 lineage) but with well-defined P and T waves, was selected for the present study. The investigation conforms with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* published by the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). All animals were 4–6 weeks-old (18–22 g) male and female TG mice, and age- and weight-matched littermate WT controls. Mice were anaesthetised with etomidate (15 mg/kg) given intraperitoneally (i.p.). They were placed under a heating lamp to prevent loss of body heat, which was continuously monitored with an electronic thermometer. The autonomic nervous system was blocked 5 min after anaesthesia using atropine sulphate (0.5 mg/kg i.p.) and propranolol (1 mg/kg i.p.) [10]. A single dose of the drug under investigation was i.p. injected 10 min after anaesthesia. All drugs were given individually. The maximum effects of drugs as assessed by continuous ECG monitoring were observed at around 10 min post i.p. injection, and remained stable for several minutes. Serial surface electrocardiograms were collected 15 min after i.p. injection. The effects of a drug dosage were compared with those of its vehicle alone. Six mice were used per pharmacological intervention for each set of data analysed.

2.2. Surface electrocardiogram recording

To record surface ECGs, the mouse's four paws and four Ag electrodes were plunged into eight Eppendorf tubes, filled with KCl (2 mol/l) solution, and connected with KCl (2 mol/l) Agar bridges. The signal was amplified and filtered (bandwidth, 0.5–125 Hz), and the cardiac ECG was continuously monitored (Monitor 123, Roche, Bio-Electronics, Digital Electronics). Surface six-lead ECGs (I, II, III, aVR, aVL, aVF) were displayed with a chart recorder (Easy Graph, TA 240, Gould Electronics) at a paper speed of 100 mm/s. All reported measurements were averaged from five consecutive PQRS complexes in lead I. [7]. In both WT and TG animals, the T wave had a biphasic appearance with an initial rapid component (Tr positive in lead DI) and a late slower component (Ts negative in lead DI). The rapid component Tr was markedly prolonged in the H08 lineage used for the present study. The P wave often superposed with the terminal phase of the previous slower component of the T wave because of dramatic QT and PR lengthening (Fig. 1). For more accuracy, we considered the end of the T wave as a surrogate for the end of the Tr wave. The QTc interval was measured from the beginning of the QRS complex wave to the end of the Tr wave (Fig. 1). The QTc interval was corrected for heart rate using the formula, $QTc = QT_r / (RR/100)^{1/2}$ with QTc and RR expressed in ms, which yields a theoretical QTc interval for a 100-ms cycle length [11].

2.3. Drugs

We used commercially available solutions for etomidate (Janssen-Cilag), atropine sulphate (Renaudin), propranolol chlorhydrate (Zeneca Pharma), sultopride chlorhydrate (Delagrang), lidocaine chlorhydrate (Aguettant), nicar-

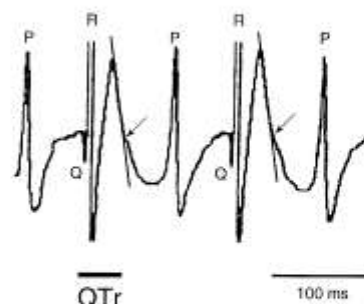


Fig. 1. Measurement of ventricular repolarization on surface ECG in transgenic mice (lead I). For clarity, QRS peaks have been erased. The QTc interval was measured from the beginning of the QRS complex to the end of the Tr wave (arrow). The end of Tr coincides with the point at which the T wave deviates from the tangent to the steepest slope of the Tr wave (plain line).

dipine chlorhydrate (Novartis), and haloperidol (Janssen-Cilag). Dofetilide, E4031, terikalant, tedisamil, astemizole and cisapride were obtained as free bases. Atropine sulphate and propranolol were 1/3 diluted in 0.9% NaCl. Other solutions and hydrophilic free bases were diluted in HEPES Tyrode's solution at pH 5 and then buffered at pH 7.4 using NaOH. Prior dilution in acid water was performed for dofetilide. The final dilution was adjusted so that the injected volume per dose and per animal was always 300 μ l. Hydrophobic drugs (astemizole and cisapride) were diluted in dimethylsulfoxide (Sigma), so that the injected volume per dose and per animal was always 25 μ l.

2.4. Statistical analysis

All ECG data are presented as a mean $\pm$ standard deviation. Mean data were compared using analysis of variance. If a statistically significant level was reached ($P < 0.05$), a multiple comparison procedure (Fisher's PLSD test) was performed to determine which pair(s) of means were statistically different.

3. Results

3.1. Effects of I_{K_r} blockers

We first evaluated the effects of dofetilide, a well-established specific blocker of the I_{K_r} potassium current [12,13]. The dose-dependent effects of dofetilide were investigated in WT and TG mice. As shown in Fig. 2, dofetilide produced no significant effects on the QTc duration either in WT or TG mice. The P wave duration was not significantly altered by dofetilide either in WT or TG mice. In contrast, dofetilide dose-dependently lengthened the PP interval in both WT ($P = 0.0001$ with analysis of variance) and TG mice ($P = 0.0001$). The dofetilide-induced PP interval lengthening was more pronounced in TG than in WT mice: in TG mice the PP interval increased from 136 ± 21 ms (vehicle) to 266 ± 23 ms (+96%; dofetilide 2 mg/kg), whereas in WT mice, it increased from 112 ± 15 ms (vehicle) to 154 ± 16 ms (+37%) only. In addition, dofetilide consistently shortened the PR interval in TG mice ($P = 0.03$) but not in WT mice. In TG mice, the PR interval shortening was dose-dependent, and paralleled the lengthening of the PP interval.

Various drugs known for their ability to block the I_{K_r} current and also to prolong the QT interval in human were further evaluated in the TG mouse model (Fig. 3). In WT and TG mice, the effects of E4031 [14] (20 mg/kg) and of terikalant [15] (10 mg/kg) were similar to those produced by dofetilide. In particular, E4031 and terikalant did not prolong the QTc duration either in WT or TG mice but induced a PP interval prolongation that was more pronounced in TG mice (+191% with E4031 and +96% with terikalant) than in WT mice (+59% and +19%, respec-

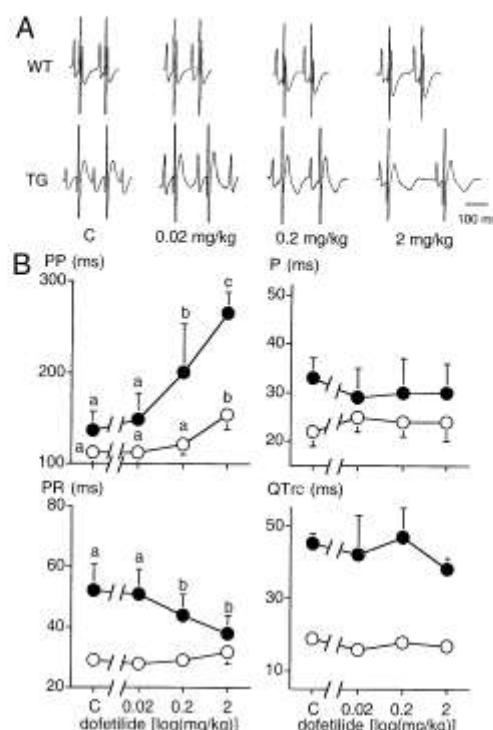


Fig. 2. Effects of dofetilide on surface ECG in wild-type (WT) and transgenic (TG) mice. (A) Representative ECG recordings (lead I) obtained in a WT (top) and a TG mouse (bottom) under control conditions (C) and after i.p. injection of 0.02, 0.2 and 2 mg/kg dofetilide. For clarity, QRS peaks have been erased. (B) Effects of increasing doses of dofetilide on PP interval (top left), P wave duration (top right), PR interval (bottom left) and QTc interval (bottom right). Open symbols: WT mice ($n=6$); filled symbols: TG mice ($n=6$). Each data point represent the mean of six different mice injected with a single dose of dofetilide. Mean data were compared using analysis of variance. If a statistically significant level was reached, a multiple comparison procedure (Fisher's PLSD test) was performed to determine which pair(s) of means were statistically different. The result of this test is indicated using letters a, b and c. b denotes a value statistically different from a and different from c.

tively; $P = 0.0001$). We also investigated the effects of sultopride [16] (200 mg/kg), haloperidol [17] (7 mg/kg), astemizole [18] (10 mg/kg), and cisapride [19] (20 mg/kg). Again, the effects induced by these drugs on WT and TG mice were comparable to those induced by more specific I_{K_r} blockers. The PP interval prolongation was also much greater in TG mice (+105%, +78%, +183% and +148%, with sultopride haloperidol, astemizole and cisapride, respectively) than in WT mice (+22%, +6%, +15% and +36%; $P < 0.003$). However, at the tested dose, sultopride, haloperidol, astemizole, and cisapride did

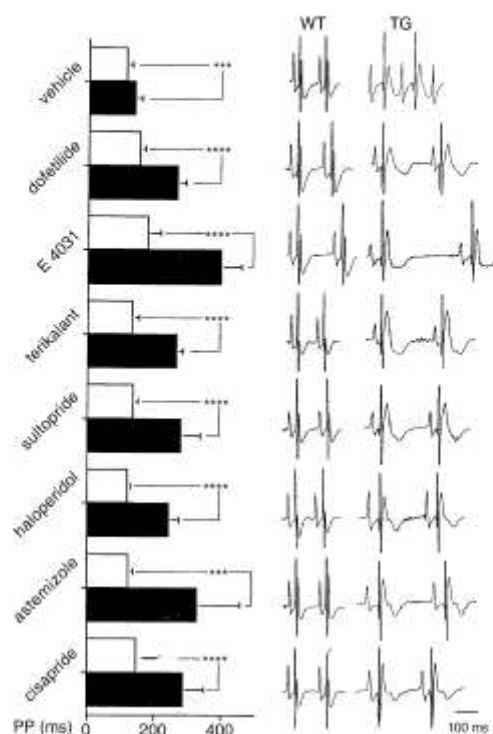


Fig. 3. Effects of various I_{Kr} blockers on surface ECG in wild-type (WT) and transgenic (TG) mice. The left panel represents the effects of the vehicle and of I_{Kr} blockers (y axis) on the PP interval duration (x axis). Open bars: WT mice ($n=6$); filled bars: transgenic mice ($n=6$). ***, $P < 0.001$ and ****, $P < 0.0001$ versus WT with analysis of variance. The right panel shows corresponding ECG traces in lead I. For clarity, QRS peaks have been erased. Each data point represent the mean of six different mice injected with a single dose of drugs.

not decrease significantly the PR interval in TG or WT mice (not illustrated). No I_{Kr} blocking drug modified the P wave duration or the QTc interval in WT or TG mice.

3.2. Effects of tedisamil

Tedisamil [20] is a potent inhibitor of the transient outward K^+ current, I_{to} . As illustrated in Fig. 4, tedisamil lengthened the duration of the rapid phase of the T wave both in WT and TG mice. In WT mice, the shape of the T wave under tedisamil mimicked that recorded in TG mice under control conditions (Fig. 4A). In contrast to I_{Kr} blockers, tedisamil dose-dependently prolonged the QTc interval in WT mice (from 19 ± 2 ms with the vehicle to 39 ± 4 ms with 50 mg/kg tedisamil; $P=0.0001$), an effect not observed in TG mice (Fig. 4B). In addition, tedisamil dose-dependently prolonged the PP interval in both WT

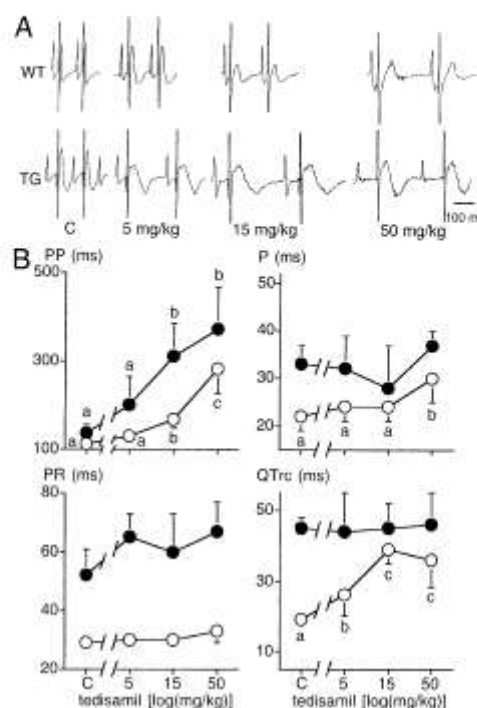


Fig. 4. Effects of tedisamil on surface ECG in wild-type (WT) and transgenic (TG) mice. Same symbols and abbreviations as in Fig. 1.

($P=0.0001$) and TG ($P=0.0001$) mice. In contrast with the effects of I_{Kr} blockers, the PP lengthening produced by tedisamil was in the same order of magnitude in WT and TG mice: the PP interval increased from 112 ± 15 ms (vehicle) to 283 ± 57 ms (+153%; 50 mg/kg tedisamil) in WT mice, and from 136 ± 21 ms (vehicle) to 374 ± 97 ms (+175%) in TG mice. The P wave duration was slightly prolonged at the highest tedisamil dose in WT mice ($P=0.001$) but not in TG mice. In TG mice, the tedisamil-induced lengthening in the sinus period did not associate with a PR interval shortening.

3.3. Effects of Na^+ channel block

As shown in Fig. 5, lidocaine dose-dependently shortened the QTc interval in TG mice (from 45 ± 3 ms with the vehicle to 30 ± 3 ms with lidocaine 80 mg/kg; $P=0.003$), whereas the drug produced no significant effects on the QTc interval in WT mice. Lidocaine also prolonged the PP interval with a similar efficacy in WT ($P=0.0001$) and TG ($P=0.0001$) mice: the PP interval increased from 112 ± 15 ms (vehicle) to 190 ± 39 ms (+70%; 80 mg/kg lidocaine) in WT mice, and from 136 ± 21 ms (vehicle) to

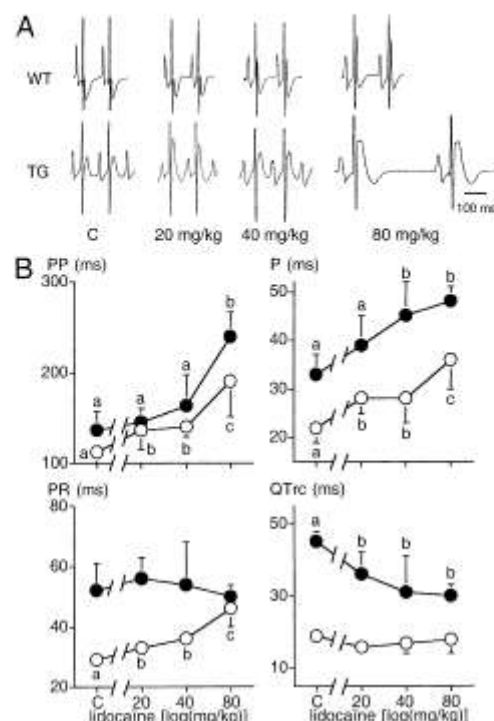


Fig. 5. Effects of lidocaine on surface ECG in wild-type (WT) and transgenic (TG) mice. Same symbols and abbreviations as in Fig. 1.

240±27 ms (+76%) in TG mice. It should be noted, however, that the effects of lidocaine on the PP interval essentially occurred at the highest drug dosage (Fig. 5). The most striking effect of lidocaine consisted in a dose-dependent P wave lengthening which was observed both in WT and TG mice. The PR interval was also dose-dependently prolonged by lidocaine in WT mice ($P=0.0001$) whereas it was not significantly altered by the drug in TG mice.

3.4. Effects of Ca^{2+} channel block

Data obtained with nicardipine [21] are depicted in Fig. 6. The most remarkable effect of nicardipine consisted of a sinus arrest often preceded by isorhythmic dissociation (Fig. 6A). In TG mice, sinus arrest occurred in most animals for every tested dose. In WT mice, sinus arrest occurred at the highest dosage (10 mg/kg) only. Sinus arrest under the effects of the drug was observed between 17 and 22 min after injection, so that the PP interval could be measured 15 min postinjection. Nicardipine dose-dependently prolonged the PP interval in both WT ($P=0.0001$) and TG ($P=0.0001$) mice. As with I_{Kr} blockers,

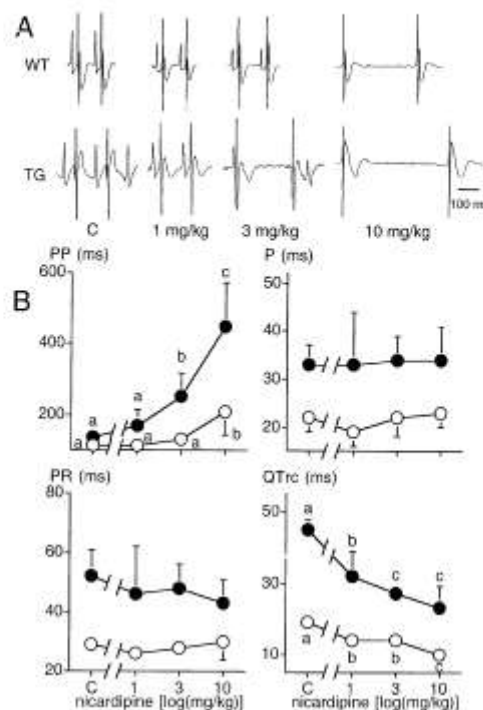


Fig. 6. Effects of nicardipine on surface ECG in wild-type (WT) and transgenic (TG) mice. Same symbols and abbreviations as in Fig. 1.

the nicardipine-induced PP lengthening was more pronounced in TG than in WT mice: the PP interval increased from 136±21 ms (vehicle) to 448±124 ms (+229%; 10 mg/kg nicardipine) in TG mice, whereas it increased from 112±15 ms (vehicle) to 210±67 ms (+88%) only in WT mice. Finally, we observed a dose-dependent QTc shortening in both WT (from 19±2 ms with the vehicle to 10±1 ms with 10 mg/kg nicardipine; $P=0.0001$) and TG mice (from 45±3 ms to 23±6 ms; $P=0.0001$). By contrast, the P wave duration and the PR interval were not significantly altered by the drug.

4. Discussion

We have evaluated a $KvLQT1$ -deficient transgenic mouse, as a model suitable to identifying I_{Kr} blocking drugs. Our results show that combined *in vivo* pharmacological investigation of wild-type and transgenic mice discriminates drugs that blocks I_{Kr} from drugs that block the transient outward current, I_{to} , the sodium current, I_{Na} , or the calcium current, $I_{Ca,L}$. Drugs that block I_{Kr} , I_{to} , I_{Na} or $I_{Ca,L}$ all decreased the sinus rate (Table 1). However, I_{Kr} blockers and nicardipine produce bradycardia preferen-

Table 1
Summary of the effects of I_{Kr} , I_{Na} , and $I_{Ca,L}$ blockers on surface ECG parameters in wild type (WT) and transgenic (TG) mice

		PP	P	PR	QTc
I_{Kr}	WT	✓	=	=	=
	TG	✓✓✓	=	✓	=
I_{Na}	WT	✓✓✓	✓	=	✓✓✓
	TG	✓✓✓	=	=	=
I_{Na}	WT	✓	✓✓	✓	=
	TG	✓	✓✓	=	✓✓✓
$I_{Ca,L}$	WT	✓	=	=	✓✓✓
	TG	✓✓✓	=	=	✓✓✓

tially in TG mice, in contrast to I_{to} and I_{Na} blockers. Most importantly, I_{Kr} blockers do not prolong the QT duration either in WT or TG mice. In contrast, I_{Na} or $I_{Ca,L}$ blockers reduce the QT duration whereas the I_{to} blocker prolongs the QT duration in WT mice. Finally, the I_{Na} blocker lidocaine markedly increases the P wave duration.

In contrast to the human heart, I_{Kr} does not contribute substantially to repolarization in adult mice [22]. In line with this, adult transgenic mice over-expressing a dominant-negative HERG mutated gene exhibit normal QT duration [23]. Furthermore, dofetilide does not prolong the QTc interval in normal adult mice (Ref. [24] and present data). The contribution of I_{Kr} to the sinus node automaticity remains also modest in normal adult mice since dofetilide produces bradycardia at high doses (>0.5 mg/kg) only (Ref. [24] and present data). In our transgenic mice, we believe that functional suppression of I_{Kr} and/or remodeling of K^+ channels [7] exacerbate the relative role of I_{Kr} in pacemaking and result in a markedly increased sensitivity of the sinus node to the bradycardic effects produced by I_{Kr} blockers.

In contrast to I_{Kr} , the transient outward current, I_{to} , is a dominant repolarising current in the adult mouse heart [25]. Functional suppression of Kv4.2 decreases the I_{to} current amplitude, and prolongs both action potential and QT interval durations in adult mice [26]. In normal mice, 4-aminopyridine, a blocker of transient outward current prolongs the QTc interval [24]. In our own experiments, tedisamil dose-dependently prolonged the QTc in WT mice but not in TG mice suggesting that the current blocked by tedisamil was already down-regulated in TG mice. In line with this, in TG mice we reported down-expression of Kv 4.2 channels accompanied by a decreased I_{to} current density [7]. I_{to} has been shown to contribute also to sinoatrial automaticity in other species including the rabbit [27] and the rat [28]. In human, clinical studies reported a bradycardic action of tedisamil [29–31].

A decreased I_{Na} window current is usually evoked to explain the action potential shortening as produced by lidocaine [32]. In our study, dose-dependent shortening of QTc occurred in TG mice only, suggesting that I_{Na} current has a greater relative contribution to ventricular repolarization in TG than in WT mice. It is usually believed that I_{Na}

plays little or no role in pacemaker cells. In the rabbit sinus node however, Kreitner [33] reported that pacemaker activity depends on two cell types having different pacemaker mechanisms, one of them being partly due to the I_{Na} current. In the present study, lidocaine prolonged the PP interval in WT and TG mice although this effect remained modest. A dose-dependent enlargement of the P wave duration was the main feature of lidocaine both in WT and TG mice. Reduction in the upstroke velocity of the action potential characterises I_{Na} blockers and is likely to account for the conduction slowing in atrial cells. In WT mice, prolongation of the PR interval could be related to prolongation in the intra-auricular conduction time as suggested by the parallelism between P wave and PR prolongation.

In the isolated rabbit heart, blocking the L-type Ca^{2+} current result in a significant shortening of the papillary muscle action potential and QTc interval [34]. We found a dose-dependent QTc shortening in both WT and TG mice. In rabbit sinus node cells, $I_{Ca,L}$ blockers reduce the rate of diastolic depolarisation and eventually abolish spontaneous activity [35]. A negative chronotropic effect of dihydropyridine has also been reported in various species whether on isolated sinus node or atrial tissues, or perfused hearts. In contrast, nicardipine shortens the sinus cycle length in humans [36] as a result of the adrenergic stimulation related to the drop in blood pressure. In our study performed under blockade of the autonomic nervous system, nicardipine caused a dose-dependent lengthening of the PP interval in TG mice, and to a lesser extent in WT mice. We propose that the $I_{Ca,L}$ current contributes largely to the sinus node automaticity in mouse. Again, in TG mice, functional suppression of I_{Kr} and/or remodeling of K^+ channels may exacerbate the relative role of $I_{Ca,L}$ in pace-making and result in an increased sensitivity of the sinus node to the bradycardic effects produced by nicardipine.

The pharmacological profiles of I_{Kr} , I_{Na} , $I_{Ca,L}$ and I_{to} blockers in mice profoundly differs from those reported in larger animals and in human. This is not surprising since the cellular electrophysiological characteristics of myocytes from small size rodents including mice and rats also markedly differ from those reported for larger animals and human. For example, I_{Kr} plays only a minor role during repolarization in the mouse [22] whereas this current is crucial for repolarization in the dog [37] and in the human heart [38]. In that setting, the cardiac repolarization of either normal or transgenic mice is not sensitive to QT prolonging drugs, in stark contrast with the dog or the human heart.

Acknowledgements

We thank Sabine Erbibou, Franck Cosson and Pascal Gervier for expert technical assistance. We also thank Dr. Anne-Marie Le Ray for her help with molecule solubilisation.

tion. Supported by INSERM PROGRES and G.I.P. "Fonds de Recherche" Hoechst Marion Roussel grants.

References

- [1] Wang Q, Curran ME, Splawski I et al. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet* 1996;12:17–23.
- [2] Barhanin J, Lesage F, Guillemare E et al. K(V)LQT1 and Isk (minK) proteins associate to form the I(Ks) cardiac potassium current. *Nature* 1996;384:78–80.
- [3] Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A et al. Coassembly of K(V)LQT1 and minK (Isk) proteins to form cardiac I(Ks) potassium channel. *Nature* 1996;384:80–83.
- [4] Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ. Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact. *Circulation* 1999;99:529–533.
- [5] Lande G, Kyndt F, Baro I et al. Dynamic analysis of QT interval in long QT1 syndrome patients with normal phenotype. *Eur Heart J* 2001;22:410–422.
- [6] Haverkamp W, Breithardt G, Cramm AJ et al. The potential for QT prolongation and proarrhythmia by non-antiarrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2000;21:1216–1231.
- [7] Demolombe S, Lande G, Charpentier F et al. Long QT and atrioventricular block in transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part I: Phenotypic characterization. *Cardiovasc Res* 2001;50:314–327.
- [8] Kugler JD. Sinus nodal dysfunction in young patients with long QT syndrome. *Am Heart J* 1991;121:1132–1136.
- [9] Swan H, Viitasalo M, Piippo K et al. Sinus node function and ventricular repolarization during exercise stress test in long QT syndrome patients with KvLQT1 and HERG potassium channel defects. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:823–829.
- [10] Jumrussirikul P, Dienerman J, Dawson TM et al. Interaction between neuronal nitric oxide synthase and inhibitory G protein activity in heart rate regulation in conscious mice. *J Clin Invest* 1998;102:1279–1285.
- [11] Mitchell GF, Jeron A, Koren G. Measurement of heart rate and Q-T interval in the conscious mouse. *Am J Physiol* 1998;274:H1747–H1751.
- [12] Jurkiewicz NK, Sanguinetti MC. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonamide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current by dofetilide. *Circ Res* 1993;72:75–83.
- [13] Rasmussen HS, Allen MJ, Blackburn KJ, Butrous GS, Dalrymple HW. Dofetilide, a novel class III antiarrhythmic agent. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20(Suppl 2):S96–105.
- [14] Ficker E, Jurkiewicz W, Kiehn J et al. Molecular determinants of dofetilide block of HERG K⁺ channels. *Circ Res* 1998;82:386–395.
- [15] Jurkiewicz NK, Wang J, Ferrini B et al. Mechanism of action potential prolongation by R.P. 58866 and its active enantiomer, terikalan. Block of the rapidly activating delayed rectifier K⁺ current, I_{Kr}. *Circulation* 1996;94:2938–2946.
- [16] Adamantidis MM, Kerran P, Dupuis BA. In vitro electrophysiological detection of intrinsic arrhythmogenicity. *Fund Clin Pharmacol* 1994;8:391–407.
- [17] Suesstrich H, Schonherr R, Heinemann SH et al. The inhibitory effect of the antipsychotic drug haloperidol on HERG potassium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol* 1997;120:968–974.
- [18] Suesstrich H, Waldegger S, Lung F et al. Blockade of HERG channels expressed in *Xenopus* oocytes by the histamine receptor antagonists terfenadine and astemizole. *FEBS Lett* 1996;385:77–80.
- [19] Walker BD, Singleton CB, Bursill JA et al. Inhibition of the human ether-a-go-go-related gene (HERG) potassium channel by cisapride: affinity for open and inactivated states. *Br J Pharmacol* 1999;128:444–450.
- [20] Dukes ID, Clemmensen L, Morad M. Tedisamil blocks the transient and delayed rectifier K⁺ currents in mammalian cardiac and glial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;254:560–569.
- [21] Sanguinetti MC, Kass RS. Voltage-dependent block of calcium channel current in the calf cardiac Purkinje fiber by dihydropyridine calcium channel antagonists. *Circ Res* 1984;55:336–348.
- [22] Wang L, Feng ZP, Kondo CS et al. Developmental changes in the delayed rectifier K⁺ channels in mouse heart. *Circ Res* 1996;79:79–85.
- [23] Babji P, Askew GR, Nieuwenhuisen B et al. Inhibition of cardiac delayed rectifier K⁺ current by overexpression of the long-QT syndrome HERG. G628S mutation in transgenic mice. *Circ Res* 1998;83:668–678.
- [24] Wang L, Swirp S, Duff H. Age-dependent response of the electrocardiogram to K(+) channel blockers in mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;278:C73–C80.
- [25] Wang L, Duff HJ. Developmental changes in transient outward current in mouse ventricle. *Circ Res* 1997;81:120–127.
- [26] Barry DM, Xu H, Schuessler RB et al. Functional knockout of the transient outward current, long-QT syndrome, and cardiac remodeling in mice expressing a dominant-negative Kv4 alpha subunit. *Circ Res* 1998;83:560–567.
- [27] Boyett MR, Honjo H, Yamamoto M et al. Regional differences in effects of 4-aminopyridine within the sinoatrial node. *Am J Physiol* 1998;275:H1158–H1168.
- [28] Tsuchihashi K, Curtis MJ. Influence of tedisamil on the initiation and maintenance of ventricular fibrillation: chemical defibrillation by I_{Kr} blockade? *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18:445–456.
- [29] Fox KM, Henderson JR, Kaski JC et al. Anti-anginal and anti-ischaemic efficacy of tedisamil, a potassium channel blocker. *Heart* 2000;83:167–171.
- [30] Hermann HP, Ohler A, Just H et al. Cardiac and hemodynamic effects of the sinus node inhibitor tedisamil dihydrochloride in patients with congestive heart failure due to dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:969–974.
- [31] Thormann J, Mitrovic V, Riedel H et al. Tedisamil (KC 8857) is a new specific bradycardic drug: does it also influence myocardial contractility? Analysis by the conductance (volume) technique in coronary artery disease. *Am Heart J* 1993;125:1233–1246.
- [32] Mitolo-Chieppa D, Carraro MR, Dubois JM et al. Comparative evaluation of the effects of lidocaine (lignocaine) hydrochloride and salicylate on nervous and Purkinje fibres. *J Pharm Pharmacol* 1985;37:68–70.
- [33] Kreimer D. Electrophysiological study of the two main pacemaker mechanisms in the rabbit sinus node. *Cardiovasc Res* 1985;19:304–318.
- [34] Nielsen-Kudsk F, Askholt J. A comparative study of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of nicardipine and nitrendipine in the isolated rabbit heart. *Pharmacol Toxicol* 1987;60:192–198.
- [35] Verheijck EE, van Ginneken AC, Wilders R et al. Contribution of L-type Ca²⁺ current to electrical activity in sinoatrial nodal myocytes of rabbits. *Am J Physiol* 1999;276:H1064–H1077.
- [36] David D, Guize L, Leheuzey JY et al. Electrophysiological effects of intravenous nicardipine on sinus node function and conduction in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;15:130–137.
- [37] Varró A, Balati B, Istó N et al. The role of the delayed rectifier component I_{Kr} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. *J Physiol (Lond)* 2000;523(Part 1):67–81.
- [38] Istó N, Virag L, Opincariu M et al. Delayed rectifier potassium current in undiseased human ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 1998;40:508–515.

2. Article 10

Identifying HERG blockers using an *in vivo* guinea-pig model.

Lande G, Baro I, Drouin E, Escande D.

Submitted.

Il est maintenant acquis que l'effet des nouvelles molécules sur la repolarisation ventriculaire doit être évalué à la fois par des méthodes *in vitro* et *in vivo*. Les principaux modèles utilisés sont des animaux de grande taille, et les expériences sont longues et nécessitent une grande quantité de produit. Nous avons étudié un modèle de cobaye anesthésié, et avons évalué sa capacité à hiérarchiser l'intensité de blocage de HERG en comparaison à une étude en patch-clamp. Les expériences prennent peu de temps et nécessitent peu de produit. Nous avons préalablement mis au point une formule de correction du QT spécifique du cobaye, dont la relation QT-RR sur une allure monoexponentielle. Le dofétilide allonge l'intervalle QTc de 19% au dosage de 30µg/kg. Nous avons ensuite comparé la capacité de quatre 5-HT₄ agonistes (cisapride, prucalopride, renzapride, et mosapride) à allonger l'intervalle QTc. Toutes ces molécules, à l'exception du mosapride, entraînent un allongement dose-dépendant de l'intervalle QTc. L'importance de l'allongement de l'intervalle QTc évolue parallèlement à la capacité de blocage de HERG en patch. Par ailleurs, l'halopéridol, le sertindole, l'érythromycine, et l'astémizole, prolongent aussi l'intervalle QTc. Notre modèle de cobaye pourrait être utilisé pour dépister précocement l'effet des nouvelles molécules sur la repolarisation ventriculaire.

**Identifying HERG Blockers
Using an *in vivo* Guinea-pig Model**

Gilles Lande, Isabelle Baró, Emmanuel Drouin and Denis Escande

l'institut du thorax (Inserm U533) and Laennec-TeK, Nantes, France

Running title: HERG blockers in a guinea-pig model

Correspondence to Gilles Lande, MD.

l'institut du thorax, Inserm U533,
Faculté de Médecine, 1 rue G. Veil, 44035 Nantes cedex,
France;
E-mail: gilles.lande@nantes.inserm.fr
Tel. 33 240 41 29 59 Fax. 33 240 41 29 50

Text pages: 18

Tables: 1

Figures: 4

References: 40

Words: *abstract:* 250
 introduction: 376
 discussion: 1234

Nonstandard abbreviation
NCE: New Chemical Entity

Section assignment
Cardiovascular

Abstract

It is now commonly accepted policy that new chemical entities should be evaluated for potential effects on cardiac repolarization both in *in vitro* and *in vivo* models before first administration in man. Available *in vivo* models in large animals are time-consuming and require a large amount of drug. Here we evaluated an anesthetized guinea-pig model for its ability to identify and rank HERG channel blocking drugs. This model requires a small amount of drugs and is fast to run. We have developed a specific formula that fits QT variations as a function of RR interval in the guinea-pig. The QT-RR relation best fitted with a monoexponential formula. Using this specific formula, we found that dofetilide, a well-characterized HERG blocker, prolongs the QTc interval by 19% at the 30µg/kg dosage. We compared the potency of four 5-HT₄ agonists (cisapride, prucalopride, renzapride and mosapride) to prolong the QTc interval in guinea-pigs. All tested compounds, except mosapride, induced a dose-dependent prolongation of the QTc interval. At 3mg/kg, cisapride prolonged the QTc by 30% whereas prucalopride and renzapride prolonged the QTc by 10% and 7%, only. The rank order of these drugs to prolong QTc matched with their ability to block the HERG current in patch-clamp experiments. Haloperidol, sertindole, erythromycin, and astemizole also prolonged the QTc interval in our model. We conclude that a simple guinea-pig model reliably recognizes and ranks several HERG blocking drugs. This model could be applied to screen HERG blocking drugs early in the development of a new chemical entity.

Introduction

In the late 90s, two widely prescribed antiallergic drugs, namely terfenadine and astemizole, were withdrawn from clinical use because they were accused to induce a lengthening of ventricular repolarization (QT interval) and to produce "torsade de pointe" (Woosley, 1996). Since then, more than 100 drugs have been suspected to lead to the "acquired long QT syndrome" (Haverkamp et al., 2000). Most of these agents were non-cardiovascular drugs, e.g. antiallergics, antibiotics and antipsychotics, and often prescribed in benign disease. For virtually every drug, a blocking effect on the delayed rectifier current (I_{Kr}) related to HERG channel expression (Sanguinetti et al., 1995) has been incriminated and accused to prolong cardiac repolarization. Because of this potentially lethal side effect, it is now recommended that every new chemical entity (NCE) should be evaluated both in *in vitro* and *in vivo* electrophysiological studies before first administration to man (Anonymous., 1997). However, potential discrepancies between *in vitro* and *in vivo* strongly suggest a preclinical *in vivo* screening test should be performed as early as possible in the development of a NCE (De Clerck et al., 2002). Currently available *in vivo* models are inadequate for early evaluation. They are usually performed in awake and chronically instrumented animals (dogs), are time-consuming and most importantly require a large amount of the drug under investigation.

The goal of the present study was to assess the relevance of a guinea-pig model to screen HERG blocking drugs at an early of preclinical development. Considering the bradycardic effect produced by HERG blockers, we first developed a specific formula to correct QT interval as a function of heart rate in the guinea-pig. In a previous investigation, we have evaluated the rank order of different 5-HT₄ agonists to block HERG current (Potet et al., 2001). We now compare the potency of these 5-HT₄ agonists to prolong the corrected QT interval in the guinea-pig model and found that their effect on QTc interval matched with their potency to block the HERG current. In addition, we have assessed the potential of several other HERG blocking drugs to prolonged QT duration. Because the guinea-pig model is simple and require small amount of NCE, we propose that it can fill the gap between *in vitro* studies and more sophisticated *in vivo* evaluation in bigger animals.

Methods

Surgery

Female guinea-pigs (Hartley strain) weighting 600-800g were used for this study. The investigation conforms to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). Prior to ECG recording, animals were equipped with a central venous catheter, at least 7 days after their reception in the laboratory. The surgery procedure was as follows. Anesthesia was performed using ketamine and xylazine injected intraperitoneally (100 mg/kg and 4 mg/kg, respectively). The neck of the guinea-pig was shaved and cleaned with iodized solution. An additional ketamine and xylazine dose was injected intramuscularly (50 mg/kg and 2 mg/kg, respectively) and a preventive antibio-therapy was injected subcutaneously (gentamicine; 5 mg/kg). The right external jugular vein was dissected after antero-lateral incision, and an heparinized (5% glucose solution with sodium heparin 20 UI/ml) catheter (silicone tubing 0.025"x0.047"x0.011") was quickly inserted and fixed. The catheter was exteriorized via a subcutaneous tunnel in the dorsal side of the neck, and its tip was plugged using a polyethylene tubing (0.023"x0.038"x0.0075") sealed by heat.

Study and experimental protocols

The study protocol started 48 hours after surgery involved 6 different animals and 12 experiments for each tested drug. Each animal underwent in sequence a vehicle experiment and a drug experiment, separated at least by a 48-hour interval of time. All solutions were i.v. injected. The guinea-pigs were anesthetized with 0.5 mg/kg etomidate i.v. followed by a perfusion of 15 mg/kg/h etomidate, using an electronically-controlled syringe. They were placed under a heating lamp to prevent loss of body heat. The body's temperature was continuously monitored with an electronic thermometer. The autonomic nervous system (ANS) was blocked using i.v. atropine sulfate (0.5 mg/kg) and i.v. propranolol (2.5 mg/kg). Injections of either the vehicle or increasing concentrations of the drug started 15 minutes after blockade of the ANS. Three increasing doses were injected at 15 min intervals, i.e., at T0, T15, and T30. Doses were determined previously to the experiments using a pilot study. The maximum effects of drugs as assessed by continuous ECG monitoring were observed at around 10 min post i.v. injection, and remained stable for several

minutes. During the experiments, serial surface ECGs were collected 15 min after i.v. injection. The effects of a drug dosage were compared with those of its vehicle.

A slightly different protocol was applied to study the QT-RR relationship in anesthetized guinea-pigs. Injections of a the specific heart-rate lowering agent, ivabradine (Bois et al., 1996; Thollon et al., 1997; Vilaine et al., 2003) was performed 15 min after ANS blockade. Cumulative injections (0.1 mg/kg) were administered during 30 min with an interval of 5 min each. ECGs were recorded before each injection to collect a large sample of RR intervals. Individual data are represented as QT intervals plotted against the preceding RR interval for each beat. Group data were obtained from all individual QT interval values by 10 ms RR interval steps. Assessment of the QT-RR relationship consisted of a plot of group data, denoted as the rate-dependence of QT interval.

Surface electrocardiogram recordings

To record surface ECGs, the four guinea-pig's paws and four Ag electrodes were plunged into 4 containers. The four containers were filled with KCl (2 mol/L) solution, and connected with KCl (2 mol/L) Agar bridges to four other containers containing Ag electrodes. Signal was amplified and filtered (bandwidth, 0.5 to 125 Hz), and cardiac ECG was continuously monitored (Monitor 123, Roche, Bio-Electronics, Digital Electronics). Surface 6-lead ECGs (I, II, III, aVR, aVL, aVF) were displayed with a chart recorder (Easy Graph, TA 240, Gould Electronics) at a paper speed of 100 mm/s. The QT interval duration was determined from the onset of the QRST complex to the end of the T wave. The end of the T wave was defined as the intersection of the isoelectric line with the tangent to the maximal down slope of the T wave. All reported measurements were averaged from 5 consecutive PQRST complexes in lead I.

Drugs

We used commercially available solutions for etomidate (2 mg/mL, Janssen-Cilag), xylazine chlorhydrate (20 mg/mL, Bayer), ketamine chlorhydrate (50 mg/mL, Parke-Davis), atropine sulphate (0.5 mg/mL, Renaudin), propranolol chlorhydrate 1 mg/mL (Zeneca Pharma), gentamicine sulphate (10 mg/mL, Panpharma), sodium heparin (100 UI/mL, Dakota Pharm), haloperidol (5 mg/ml, Janssen-Cilag), Betadine for dermic applications (Sarget). Dodetilide, mosapride, renzapride, cisapride,

sertindole, astemizole were obtained as free bases. Ivabradine hydrochloride was kindly provided by Laboratoires Servier (France). Erythromycin lactobionate (Biorga) and other hydrophilic free bases were diluted in 5% glucose solution. Prior dilution in acid water was performed for dofetilide. Prucalopride, cisapride and astemizole were diluted in tartaric acid 2/3 (Sigma) and absolute ethanol 1/3 (Sigma) to reach a 10% value after dilution in 5% glucose solution. The final dilution was adjusted so that the injected volume per dosage and per animal for the aforementioned compounds was always 1 ml. Solutions were buffered at pH 7.4 using NaOH. Sertindole was diluted in 250 μ l vehicle containing 65% polyethyleneglycol 300 (Sigma), 10% absolute ethanol, and 25% ethoxydiglycol (Gattefosse).

Statistical analysis

In vivo data were presented as mean $\pm$ standard deviation whereas *in vitro* data were presented as mean $\pm$ standard error. Mean data were compared using analysis of variance. If a statistically significance level was reached ($p < 0.05$), a multiple comparison procedure (Fisher's PLSD test) was performed to determine which pair(s) of means were statistically different.

Group QT-RR plots were fitted by the least-square multiple regression analysis using Sigma plot software. Data were fitted following the square root (F1), the cubic root (F2), and the monoexponential (F3) equations, described by Bazett (Bazett, 1920), Fridericia (Fridericia, 1920), and Sarma (Sarma et al., 1984), respectively. To obtain a corrected QT interval for a physiological guinea-pig RR cycle length (250 ms), fits were performed using the RR_{250} value, which is RR cycle length divided by 250:

$$QT = a \sqrt{RR_{250}} \quad (F1)$$

$$QT = a \sqrt[3]{RR_{250}} \quad (F2)$$

$$QT = a - b \exp(-c RR_{250}) \quad (F3)$$

where a, b and c are regression parameters. The relative accuracy of fit to data was assessed from the mean square residual (MSR) values using the following equation:

$$MSR = RSS / (N - P)$$

where RSS is the residual sum of squares, N the number of observations, and P the number of regression parameters used in the formula, i.e., 1 for Bazett's and Fridericia's formulae, and 3 for Sarma's formula, respectively. The equation with the lowest MSR was considered as the best equation. The residual sums of squares

were also transformed to the Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1976), to account for the differences in the number of parameters among the two formulae:

$$AIC = N \ln(RSS) + 2P$$

where $\ln$ is the natural logarithm. Equation with the minimum AIC is considered as the optimal representation of a given plot of data.

Results

Effect of dofetilide

We first evaluated the effects of dofetilide (from 3 to 30 $\mu\text{g/kg}$), a well-characterized specific blocker of the I_{Kr} potassium current (Jurkiewicz and Sanguinetti, 1993). As shown in Figure 1, dofetilide dose-dependently lengthened both QT and RR intervals ($p < 0.05$). There were no significant effects of the drug on P, PR and QRS intervals (data not shown). The highest dosage (30 $\mu\text{g/kg}$) increased RR interval from 225 ± 19 ms to 295 ± 11 ms (+70 ms; +31%), and QT interval from 139 ± 8 ms to 193 ± 15 ms (+54 ms; +38%). Considering the physiologic positive relationship between QT and RR intervals, we were unable to determine which amount of QT prolongation was related to either the direct effect of the drug on QT interval or to dofetilide-induced RR prolongation. We therefore decided to assess the QT-RR relationship in our anesthetized guinea-pig model and to establish a specific formula to correct QT interval as a function of RR cycle length.

QT-RR relationship and deductive specific QTc formula

We used ivabradine, a selective and specific inhibitor of cardiac pacemaker If current (Bois et al., 1996; Thollon et al., 1997; Vilaine et al., 2003) to induce RR cycle length prolongation without any direct effect on the QT interval. Seven different anesthetized guinea-pigs were studied to assess the QT-RR relationship. Successive injections of 0.1 mg/kg ivabradine provided a large sample of RR intervals, spanning both rest physiologic cycle lengths (from 200 ms to 300 ms), and prolonged cycle lengths (300 ms to 500 ms). The minimum and maximal RR cycle length for each experiment was 199 ± 22 ms (from 172 ms to 242 ms), and 425 ± 60 ms (from 330 ms to 505 ms), respectively. As shown in Figure 2B, individual and group QT-RR relationship was curvilinear. Residuals plotted against RR intervals were randomly distributed around the zero line with the monoexponential fit, but not with the square root model, or with the cubic root model (Figure 2C). RSS, MSR, and AIC values that evaluate the relative fit accuracy to QT-RR group data are summarized in Table I. The rank order of both MSR and AIC values were monoexponential model < square root model < cubic root model, respectively. Overall, our results pointed out that QT-RR data best fitted a monoexponential relationship. We therefore deducted a specific formula from the monoexponential equation to correct the QT interval for a 250 ms

RR interval value. The fit values for the b and c regression parameters were 260 and 1.32, respectively: $QT_c = QT - 260 [\text{Exp}(-1.32) - \text{Exp}(-1.32 \text{ RR}_{250})]$ with QT and RR_{250} expressed in ms. Using the guinea-pig specific formula, we found that dofetilide prolonged the QTc interval by 19% at the 30 $\mu\text{g/kg}$ dosage.

Comparison between in vivo and in vitro effects of 5-HT₄ agonists

Cisapride is a potent blocker of HERG channels (Potet et al., 2001) and prolongs *in vivo* ventricular repolarization (Carlsson et al., 1997). Other 5-HT₄ agonists still under investigation, have been proposed as an alternative to cisapride because of a weaker effect on ventricular repolarization (Potet et al., 2001). We compared the effects on cardiac repolarization of cisapride, prucalopride, renzapride, and mosapride in our anesthetized guinea-pig model using identical dosages (from 0.3 to 3 mg/kg). As shown in Figure 3B, cisapride induced a strong dose-dependent prolongation of the QT interval (from 152 ± 11 ms with the vehicle to 236 ± 26 ms with 3 mg/kg, i.e. +55%; $p < 0.001$), whereas mosapride had no significant effect. Both prucalopride and renzapride had an intermediate effect as compared with cisapride and mosapride. Prucalopride and renzapride induced a 12% QT interval prolongation at the highest dosage (3 mg/kg; $p < 0.02$) compared with the vehicle. Only cisapride dose-dependently prolonged the RR interval ($p < 0.001$), from 255 ± 24 ms with the vehicle to 417 ± 55 ms with 3 mg/kg (+64%). Using the specific guinea-pig correction formula, we revealed a marked dose-dependent effect of cisapride on QTc interval (from 151 ± 6 ms with the vehicle to 196 ± 18 ms with 3 mg/kg dosage, i.e., +30%; $p < 0.001$) whereas mosapride did not prolong the QTc interval (Figure 3C). Prucalopride and renzapride induced a significant, albeit mild, dose-dependent prolongation on the QTc interval (from 151 ± 6 with the vehicle to 166 ± 11 ms and 161 ± 5 ms, i.e. +10% and +7%, respectively; $p < 0.02$). The effects of prucalopride on QTc interval did not differ from those of renzapride. No significant modification was observed on P nor QRS durations, nor PR interval (data not shown). In our previous study (Potet et al., 2001), the same drugs were evaluated using the patch-clamp technique in HERG transfected COS-7 cells. Cisapride induced a strong concentration-dependent reduction of relative HERG tail current with an $\text{IC}_{50} = 2.4 \cdot 10^{-7}$ M. In contrast, mosapride was devoided of significant effects on HERG current. Prucalopride and renzapride induced a concentration-dependent reduction of relative HERG tail current with a lower affinity ($\text{IC}_{50} = 5.7 \cdot 10^{-6}$ M and $2.4 \cdot 10^{-6}$ M, respectively)

compared to cisapride. Overall, our results demonstrated that the rank order of the 4 tested 5-HT₄ agonists to prolong QTc interval perfectly matched with their potency to block HERG, i.e., cisapride > prucalopride=renzapride >> mosapride=vehicle.

Sensitivity of the model

Other drugs, known for their ability to block HERG and also to prolong the QT interval in human were further evaluated in our guinea-pig model, including two antipsychotics, haloperidol (Suessbrich et al., 1997) and sertindole (Rampe et al., 1998), one antiallergic, astemizole (Suessbrich et al., 1996) and an antibiotic, erythromycin (Daleau et al., 1995). The effects induced by these drugs were compared with those induced by the specific HERG blocker, dofetilide. We observed a dose-dependent prolongation of both RR and QT intervals, and also a dose-dependent prolongation of the QTc interval (Figures 4 and 5) with every tested drug. The highest dosage of sertindole, haloperidol, astemizole, and erythromycin induced a 25%, 16%, 15%, and 13% prolongation of the QTc interval ($p<0.03$), respectively, which are similar with the 19% QTc prolongation induced by dofetilide, also at the highest dosage. As with 5-HT₄ agonists, we did not observe any significant modification of the other measured ECG parameters (P and QRS durations, PR interval).

Discussion

We have evaluated a simple guinea-pig model for its ability to identify and rank HERG blocking drugs. Considering the bradycardic effect of most HERG blocking drugs, we first developed a specific formula to correct QT interval for heart rate. The model adequately identified positive (e.g., dofetilide or cisapride) and negative (e.g., mosapride) references. The potency of 5-HT₄ drugs to prolong QT_c in guinea-pigs correlated well with their ability to reduce the HERG current in patch-clamp experiments. Finally, various HERG blocking drugs, including psychotropes, an antihistaminic and an antibiotic, were tested to assess the sensitivity of our model.

The QT-RR relationship in anesthetized guinea-pigs

The contribution of HERG current to the sinus node automaticity (and thus to heart rate) has been documented in various species (Lei and Brown, 1996; Furukawa et al., 1999). E4031, a specific HERG blocking drug, attenuates the membrane diastolic potential and slows the rate of repolarization in rabbit sinoatrial cells (Ono and Ito, 1995). Our results showed that sinus node automaticity in the guinea-pig is also sensitive to the effects of HERG blocking drugs. Dofetilide, cisapride, and sertindole prolonged the RR interval, which made the analysis of drug-induced QT prolongation imprecise in the absence of an appropriate formula to correct QT interval for heart rate. Ivabradine, a selective and specific inhibitor of cardiac pacemaker If (Bois et al., 1996; Thollon et al., 1997; Vilaine et al., 2003) was used to assess the QT-RR relationship. This current is an important contributor to the sinus node automaticity but is not involved in the repolarization process of cardiac ventricular cells. We found that the monoexponential equation, described by Sarma et al. (Sarma et al., 1984), better fitted the QT-RR plot than either the square root and cubic root equations, described by Bazett (Bazett, 1920) and Fridericia (Fridericia, 1920). These data are in accordance with the results of Todt et al. (Todt et al., 1994), who studied the QT-RR relationship in anesthetized guinea-pigs in which sinus rhythm was abolished by electrical ablation of the sinus node area. In this study, a monoexponential equation was found to properly fit the QT-RR relationship between 200 ms and 600 ms cycle length values. In contrast, Hayes et al. (Hayes et al., 1994) found that none of the linear, square root, and polynomial functions had marked advantage over each other to correct the QT interval,

whenever the best fit was assessed by the simple (but imprecise) regression coefficient. In this latter study, QT-RR plots were obtained using various techniques, including cold saline injections to obtain long cycle lengths. Such technique could bias the data, considering that hypothermia directly prolongs the QT interval, and therefore could alter, and even linearize, a curvilinear relationship (Mattu et al., 2002).

Correlation between QT and HERG measurements

In the guinea-pig, we obtained a nice correlation between QT prolongation and HERG inhibition. We demonstrated that the rank order of the four tested 5-HT₄ agonists to prolong QTc interval matched their affinity for HERG. With these drugs, either *in vivo* or *in vitro* study would have correctly classify their potential for QT prolongation (Davis, 1998). Although, HERG inhibition is a common feature of drug-induced QT prolongation and torsade de pointes in human, anomalous drugs have been described. Verapamil, a widely used cardiac calcium channel antagonist, has not been involved in acquired long QT syndrome in human (Fauchier et al., 1999). These clinical data contrast with the ability of verapamil to block HERG in transfected cells (Chouabe et al., 1998), but coincide in *in vivo* experimental models with the absence of deleterious effects on cardiac repolarization (Zhang et al., 1999). In contrast, halofantrine, an antimalarial drug, has been reported to prolong the QT interval and induce ventricular arrhythmias in human (Toivonen et al., 1994). *In vivo* measurements in anesthetized guinea-pigs, demonstrates that halofantrine dose-dependently prolongs the QTc interval (Batey et al., 1997). However, *in vitro* experiments based on effective refractory period measurements were unable discriminate between the effects of halofantrine and those of its vehicle.

Sensitivity of the guinea-pig model

Even though not all of the more than 100 different compounds (Haverkamp et al., 2000) involved in the acquired LQT syndrome could be tested, we found dofetilide and 7 other non-cardiovascular drugs to induce a significant dose-dependent QTc prolongation in our model.

Carlsson et al. (Carlsson et al., 1997) observed a 19% lengthening of the MAP₇₅ duration after a 0.48 mg/kg cisapride bolus, whereas mosapride did not significantly alter the MAP₇₅ interval. The use of pentobarbital for guinea-pig anesthesia, artificial ventilation, and measurement of MAP duration instead of QT

interval, could explain the smaller drug-induced effect of cisapride in the Carlsson's study in comparison with ours (+30% QTc at 3 mg/kg cisapride dosage). Kii et al. (Kii et al., 2001) also found a 19% QTc prolongation after a 3 mg/kg cisapride bolus in an *in vivo* guinea pig model. Again their methods differed from our in the use of urethane and α -chloralose for anesthesia, artificial ventilation, and the Bazett formula to correct the QT interval. In conscious dogs, cisapride yielded heterogeneous results. Crema et al. (Crema et al., 1999) found a 22% QTc prolongation with 1.46 mg/kg cisapride, whereas Fossa et al. (Fossa et al., 2002) found a small but significant QTc prolongation (+ 3.3% QTc) at 2.1 mg/kg.

Haloperidol was also analyzed in a few published *in vivo* studies. Mörtl et al. (Mörtl et al., 2003) found a 24% QTc prolongation in artificially ventilated, pentobarbital anesthetized guinea-pigs receiving an 0.02 to 0.03 mg/kg/min haloperidol i.v. infusion during 80 minutes. In anesthetized dogs, a bolus of 3 mg/kg i.v. haloperidol induced a 12.5% QTc prolongation (Sugiyama et al., 2001). Using a smaller dosage (0.3 mg/kg), we found a 16% QTc prolongation. An i.v. bolus of 1-2 mg/kg sertindole induced a 6-11% prolongation of the QTc interval in anesthetized dogs (Thomsen et al., 2003). We obtained a larger QTc prolongation (25%) at a 3 mg/kg sertindole dosage.

Based on our data and those from the literature, we believe that our guinea-pig model is sensitive to assess HERG blocking effects on ventricular repolarization. The small weight of guinea-pigs (from 600 g to 800 g in adults), as compared with the 3-fold heavier rabbits or 10 fold heavier dogs, allows to perform experiments with a small amount of a NCE.

Strategy for testing NCE for their potential to induce QT prolongation in man

"One reason for the lack of confidence in the predictive value of the preclinical test is that each drug associated with torsade de pointes in man appears to tell a different story in terms of its electrophysiological profile" (Redfern et al., 2003) . Not all NCEs that block HERG current should be withdrawn from development. A positive risk/benefit ratio may support the clinical use of a new compound. When HERG inhibition is identified in patch-clamp experiments, we believe that the NCE should be evaluated with a first-line *in vivo* guinea pig model to complete the early safety information.

Limitations of the study

We developed our model to meet the requirements of a "first line" *in vivo* model for fast screening of HERG blocking drugs. Therefore, we did not perform any haemodynamic, pharmacokinetic, or invasive electrophysiological analysis, which are better integrated in "second line" models, such as anesthetized dogs (Rubart et al., 1993; Merot et al., 1999). As a general rule, no model on his own could provide complete security with regard to drug effects in human subjects.

Acknowledgements

The authors thank Sabine Erbibou for expert technical assistance, and Marja Steenman for assistance in the writing of the manuscript.

References

- Akaike H (1976) An information criterion (AIC). *Math Sci* **14**:5-9.
- Anonymous. (1997) Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP), The European Agency for the Evaluation of the Medicinal Products. Points to consider: The assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products, in.
- Batey AJ, Lightbown ID, Lambert JP, Edwards G and Coker SJ (1997) Comparison of the acute cardiotoxicity of the antimalarial drug halofantrine in vitro and in vivo in anaesthetized guinea-pigs. *Br J Pharmacol* **122**:563-569.
- Bazett HC (1920) An analysis of the time relations of the electrocardiograms. *Am Heart J* **7**:353-370.
- Bois P, Bescond J, Renaudon B and Lenfant J (1996) Mode of action of bradycardic agent, S 16257, on ionic currents of rabbit sinoatrial node cells. *Br J Pharmacol* **118**:1051-1057.
- Carlsson L, Amos GJ, Andersson B, Drews L, Duker G and Wadstedt G (1997) Electrophysiological characterization of the prokinetic agents cisapride and mosapride in vivo and in vitro: implications for proarrhythmic potential? *J Pharmacol Exp Ther* **282**:220-227.
- Chouabe C, Drici MD, Romey G, Barhanin J and Lazdunski M (1998) HERG and KvLQT1/IsK, the cardiac K⁺ channels involved in long QT syndromes, are targets for calcium channel blockers. *Mol Pharmacol* **54**:695-703.
- Crema F, Modini C, Croci T, Langlois M and de Ponti F (1999) Intestinal prokinesia by two esters of 4-amino-5-chloro-2-methoxybenzoic acid: involvement of 5-hydroxytryptamine-4 receptors and dissociation from cardiac effects in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* **288**:1045-1052.
- Daleau P, Lessard E, Groleau MF and Turgeon J (1995) Erythromycin blocks the rapid component of the delayed rectifier potassium current and lengthens repolarization of guinea pig ventricular myocytes. *Circulation* **91**:3010-3016.
- Davis AS (1998) The pre-clinical assessment of QT interval prolongation: a comparison of in vitro and in vivo methods. *Hum Exp Toxicol* **17**:677-680.
- De Clerck F, Van de Water A, D'Aubioul J, Lu HR, van Rossem K, Hermans A and Van Ammel K (2002) In vivo measurement of QT prolongation, dispersion and

- arrhythmogenesis: application to the preclinical cardiovascular safety pharmacology of a new chemical entity. *Fundam Clin Pharmacol* **16**:125-140.
- Fauchier L, Babuty D, Poret P, Autret ML, Cosnay P and Fauchier JP (1999) Effect of verapamil on QT interval dynamicity. *Am J Cardiol* **83**:807-808, A810-801.
- Fossa AA, DePasquale MJ, Raunig DL, Avery MJ and Leishman DJ (2002) The Relationship of Clinical QT Prolongation to Outcome in the Conscious Dog Using a Beat-to-Beat QT-RR Interval Assessment. *J Pharmacol Exp Ther* **302**:828-833.
- Fridericia LS (1920) Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei Normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand* **53**:469-486.
- Furukawa Y, Miyashita Y, Nakajima K, Hirose M, Kurogouchi F and Chiba S (1999) Effects of verapamil, zatebradine, and E-4031 on the pacemaker location and rate in response to sympathetic stimulation in dog hearts. *J Pharmacol Exp Ther* **289**:1334-1342.
- Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ, Janse MJ, Rosen MR, Antzelevitch C, Escande D, Franz M, Malik M, Moss A and Shah R (2000) The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* **47**:219-233.
- Hayes E, Pugsley MK, Penz WP, Adaikan G and Walker MJ (1994) Relationship between QaT and RR intervals in rats, guinea pigs, rabbits, and primates. *J Pharmacol Toxicol Methods* **32**:201-207.
- Jurkiewicz NK and Sanguinetti MC (1993) Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current by dofetilide. *Circ Res* **72**:75-83.
- Kii Y, Nakatsuji K, Nose I, Yabuuchi M, Mizuki Y and Ito T (2001) Effects of 5-HT₄ receptor agonists, cisapride and mosapride citrate on electrocardiogram in anaesthetized rats and guinea-pigs and conscious cats. *Pharmacol Toxicol* **89**:96-103.
- Lei M and Brown HF (1996) Two components of the delayed rectifier potassium current, I_K, in rabbit sino-atrial node cells. *Exp Physiol* **81**:725-741.
- Mattu A, Brady WJ and Perron AD (2002) Electrocardiographic manifestations of hypothermia. *Am J Emerg Med* **20**:314-326.

- Merot J, Charpentier F, Poirier JM, Coutris G and Weissenburger J (1999) Effects of chronic treatment by amiodarone on transmural heterogeneity of canine ventricular repolarization in vivo: interactions with acute sotalol. *Cardiovasc Res* **44**:303-314.
- Mortl D, Agneter E, Krivanek P, Koppatz K and Todt H (2003) Dual rate-dependent cardiac electrophysiologic effects of haloperidol: slowing of intraventricular conduction and lengthening of repolarization. *J Cardiovasc Pharmacol* **41**:870-879.
- Ono K and Ito H (1995) Role of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current in sinoatrial node pacemaker activity. *Am J Physiol* **269**:H453-462.
- Potet F, Bouyssou T, Escande D and Baro I (2001) Gastrointestinal prokinetic drugs have different affinity for the human cardiac human ether-a-gogo K(+) channel. *J Pharmacol Exp Ther* **299**:1007-1012.
- Rampe D, Murawsky MK, Grau J and Lewis EW (1998) The antipsychotic agent sertindole is a high affinity antagonist of the human cardiac potassium channel HERG. *J Pharmacol Exp Ther* **286**:788-793.
- Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, Siegl PK, Strang I, Sullivan AT, Wallis R, Camm AJ and Hammond TG (2003) Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc Res* **58**:32-45.
- Rubart M, Pressler ML, Pride HP and Zipes DP (1993) Electrophysiological mechanisms in a canine model of erythromycin- associated long QT syndrome. *Circulation* **88**:1832-1844.
- Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME and Keating MT (1995) A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell* **81**:299-307.
- Sarma JS, Sarma RJ, Bilitch M, Katz D and Song SL (1984) An exponential formula for heart rate dependence of QT interval during exercise and cardiac pacing in humans: reevaluation of Bazett's formula. *Am J Cardiol* **54**:103-108.
- Suessbrich H, Schonherr R, Heinemann SH, Attali B, Lang F and Busch AE (1997) The inhibitory effect of the antipsychotic drug haloperidol on HERG potassium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol* **120**:968-974.

- Suessbrich H, Waldegger S, Lang F and Busch AE (1996) Blockade of HERG channels expressed in *Xenopus* oocytes by the histamine receptor antagonists terfenadine and astemizole. *FEBS Lett* **385**:77-80.
- Sugiyama A, Satoh Y and Hashimoto K (2001) In vivo canine model comparison of cardiohemodynamic and electrophysiological effects of a new antipsychotic drug aripiprazole (OPC-14597) to haloperidol. *Toxicol Appl Pharmacol* **173**:120-128.
- Thollon C, Bidouard JP, Cambarrat C, Lesage L, Reure H, Delescluse I, Vian J, Peglioni JL and Vilaine JP (1997) Stereospecific in vitro and in vivo effects of the new sinus node inhibitor (+)-S 16257. *Eur J Pharmacol* **339**:43-51.
- Thomsen MB, Volders PG, Stengl M, Spatjens RL, Beekman JD, Bischoff U, Kall MA, Frederiksen K, Matz J and Vos MA (2003) Electrophysiological safety of sertindole in dogs with normal and remodeled hearts. *J Pharmacol Exp Ther* **307**:776-784.
- Todt H, Zojer N and Schutz W (1994) Differential effect of dofetilide on ventricular repolarization during steady state and during restitution in vivo. *J Cardiovasc Pharmacol* **24**:1010-1013.
- Toivonen L, Viitasalo M, Siikamaki H, Raatikka M and Pohjola-Sintonen S (1994) Provocation of ventricular tachycardia by antimalarial drug halofantrine in congenital long QT syndrome. *Clin Cardiol* **17**:403-404.
- Vilaine JP, Thollon C and Villeneuve N (2003) Procoralan, a new selective I (f) current inhibitor. *Eur Heart J* **5** (Suppl. G):G26-35.
- Woosley RL (1996) Cardiac actions of antihistamines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **36**:233-252.
- Zhang S, Zhou Z, Gong Q, Makielski JC and January CT (1999) Mechanism of block and identification of the verapamil binding domain to HERG potassium channels. *Circ Res* **84**:989-998.

Legends for figures

Figure 1

Effects of dofetilide on surface ECG. (A) ECG recordings (lead I) obtained after i.v. injection of either vehicle or 30 $\mu\text{g/kg}$ dofetilide in a representative individual. For clarity, QRS peaks have been erased. (B) Effects of dofetilide on RR interval and QT interval in a group of six different animals. Each data point represents the mean effect ($\pm$ standard deviation) of cumulative i.v. injections of increasing doses of the drug (3-10-30 $\mu\text{g/kg}$, filled symbol, $n=6$) or its vehicle (open symbol, $n=6$). Mean data were compared using two-way analysis of variance. If a statistically significance level was reached, a multiple comparison procedure was performed to determine which pair(s) of means were statistically different. * is $p<0.05$.

Figure 2

QT-RR relationship in anesthetized guinea-pigs. (A) ECG recordings (lead I) obtained after cumulative i.v. injection of 0.1 mg/kg ivabradine in a representative individual. For clarity, QRS peaks have been erased. (B) Individual QT-RR data plots are represented by dots, whereas group QT-RR data plots are depicted by large open circles ($n=7$). The solid line represents the best fit applied to group data using square root, cubic root and monoexponential formulae. (C) The residuals of the square root, cubic root and monoexponential fits are plotted against RR interval.

Figure 3

Effects of 5-HT₄ agonists on surface ECG. (A) ECG recordings (lead I) obtained after i.v. injection of either vehicle or 3 mg/kg cisapride in a representative individual. (B) Effects of 5-HT₄ agonists on RR interval and QT interval in four groups of six different guinea-pigs. Each data point represents the mean effect ($\pm$ standard deviation) of cumulative i.v. injections of increasing concentrations of a drug (0.3-1-3 mg/kg) or its vehicle. Open squares, open lozenges, open triangles, and open circles represent cisapride, prucalopride, renzapride, and mosapride, respectively. Filled circles represent vehicle ($n=24$; values have been pooled on the figure for sake of clarity). (C) Effects of 5-HT₄ agonists on QTc interval and relative HERG tail current modified from our previously published data (Potet et al., 2001). Same symbols and

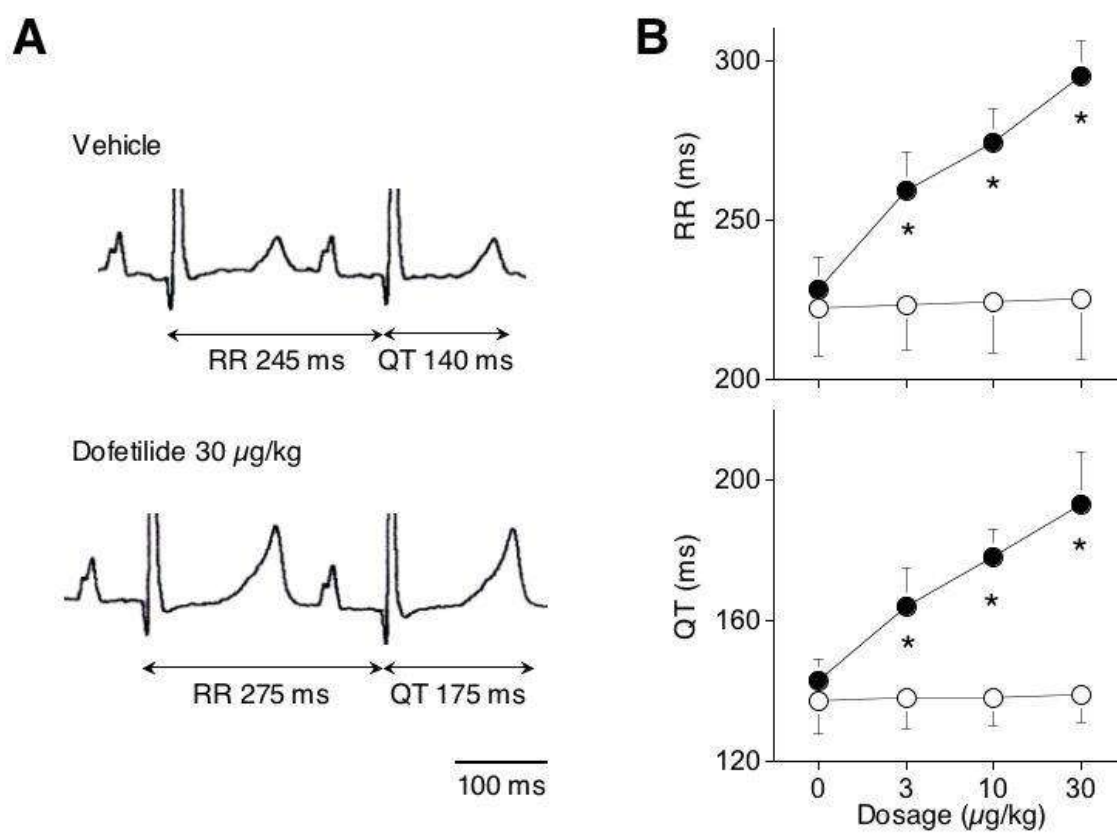
abbreviations as in (B). Data were compared using two-way analysis of variance. * is $p < 0.05$.

Figure 4

Effects of haloperidol and sertindole on surface ECG. (A) ECG recordings (lead I) obtained after i.v. injection of either vehicle (top) or 0.3 mg/kg haloperidol or 3 mg/kg sertindole in representative individuals. For clarity, QRS peaks have been erased. (B) Effects of haloperidol and sertindole on RR interval, QT interval and QTc interval in two groups of six different guinea-pigs. D0 corresponds to baseline values, whereas D1, D2 and D3 correspond to increasing dosages, 0.03, 0.1 and 0.3 mg/kg for haloperidol and 0.3 and 3 mg/kg for sertindole. Each data point represents the mean effect ($\pm$ standard deviation) of cumulative i.v. injections of increasing concentrations of a drug (filled symbols) or its vehicle (open symbols). Circles and triangles are the two groups of guinea-pigs, corresponding to haloperidol and sertindole, respectively. Data were compared using two-way analysis of variance. If a statistically significance level were reached, a multiple comparison procedure was performed to determine which pair(s) of means were statistically different. * and # are $p < 0.05$ for haloperidol and sertindole, respectively.

Figure 5

Effects of astemizole and erythromycin on surface ECG. Same symbols and abbreviations as in Figure 4. Increasing dosages are 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg and 10, 30 and 100 mg/kg, for haloperidol and sertindole, respectively. Circles and triangles are the two groups of guinea-pigs, corresponding to astemizole and erythromycin, respectively. * and # are $p < 0.05$ for astemizole and erythromycin, respectively.

**Figure 1**

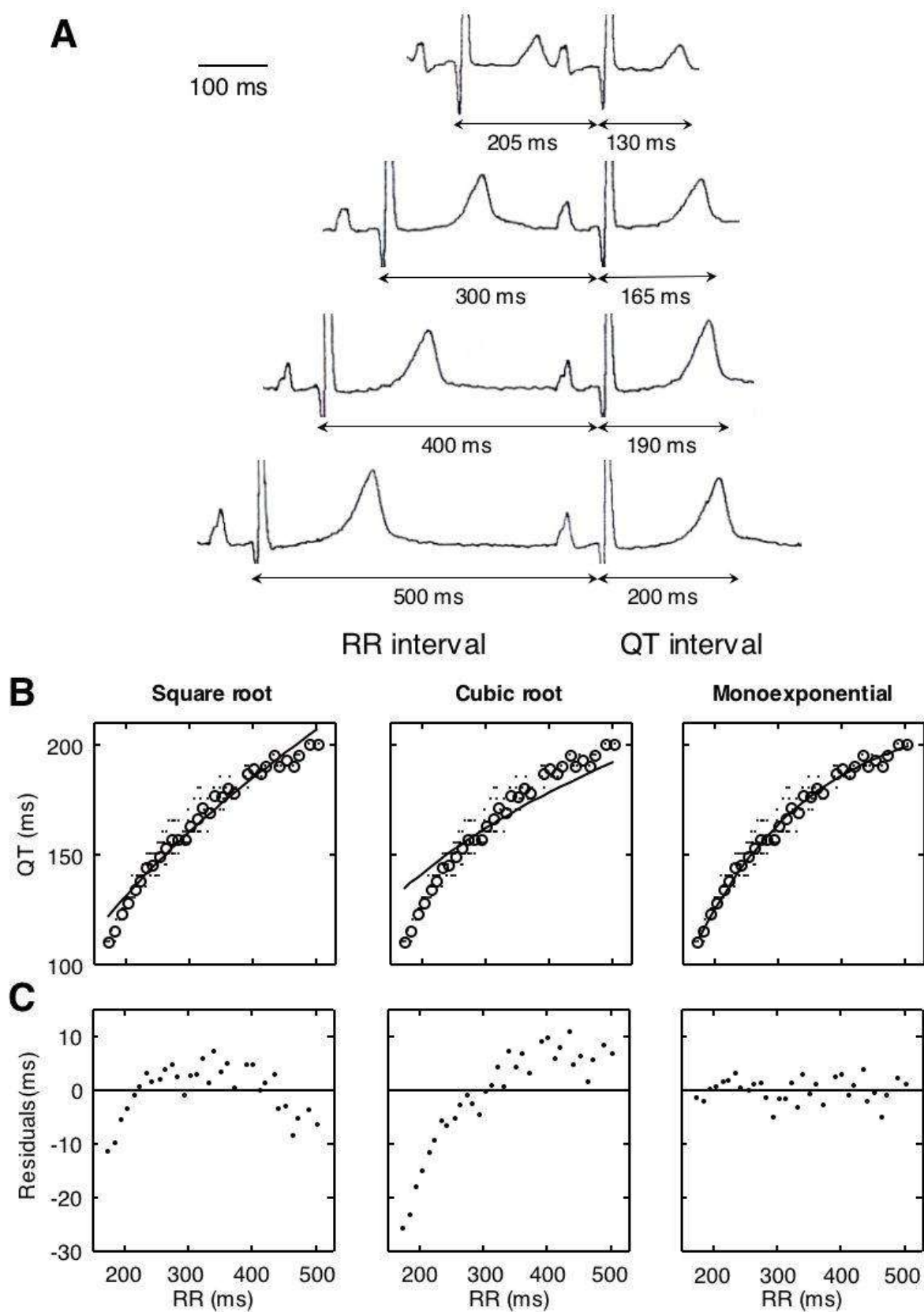


Figure 2

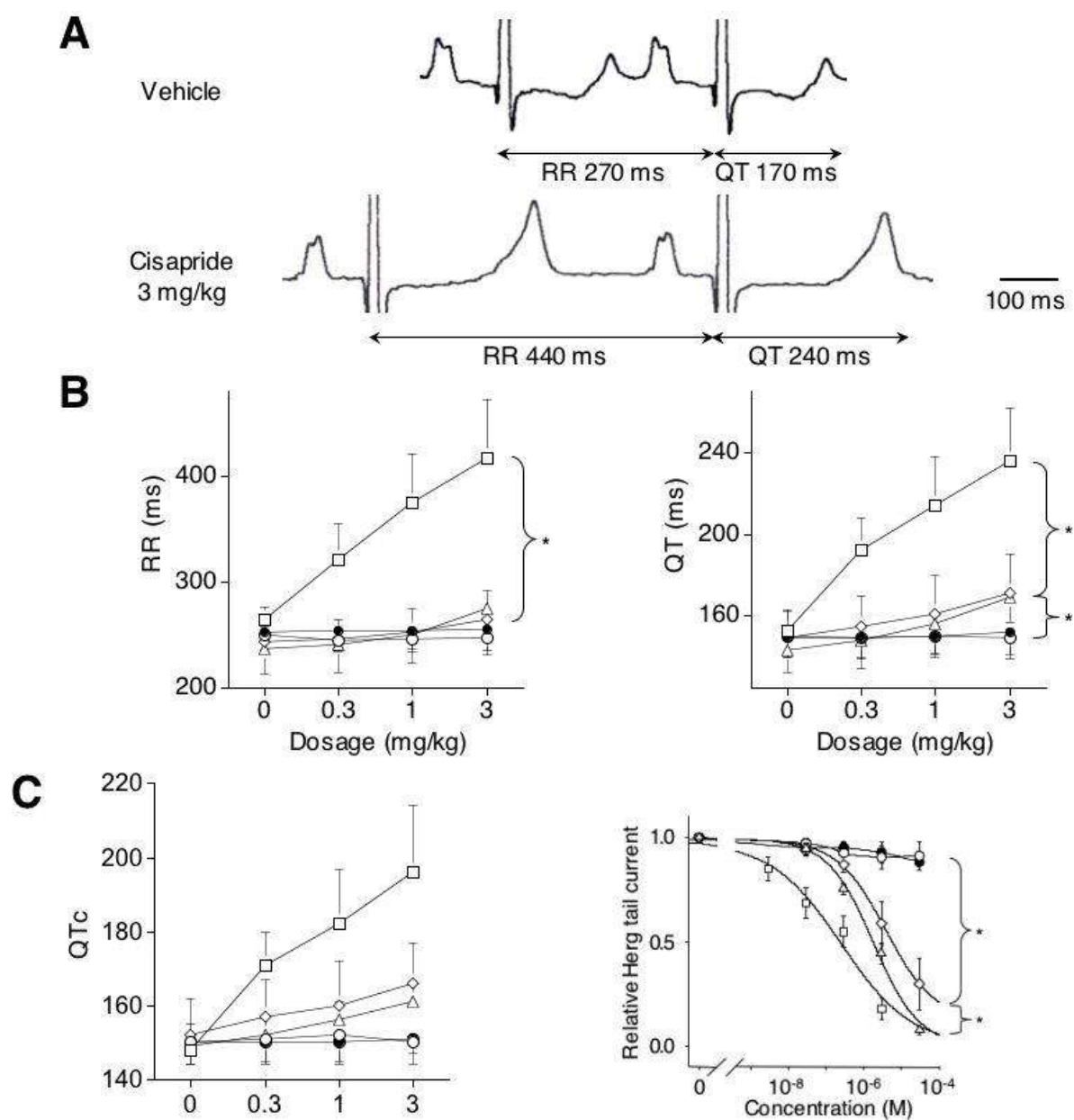


Figure 3

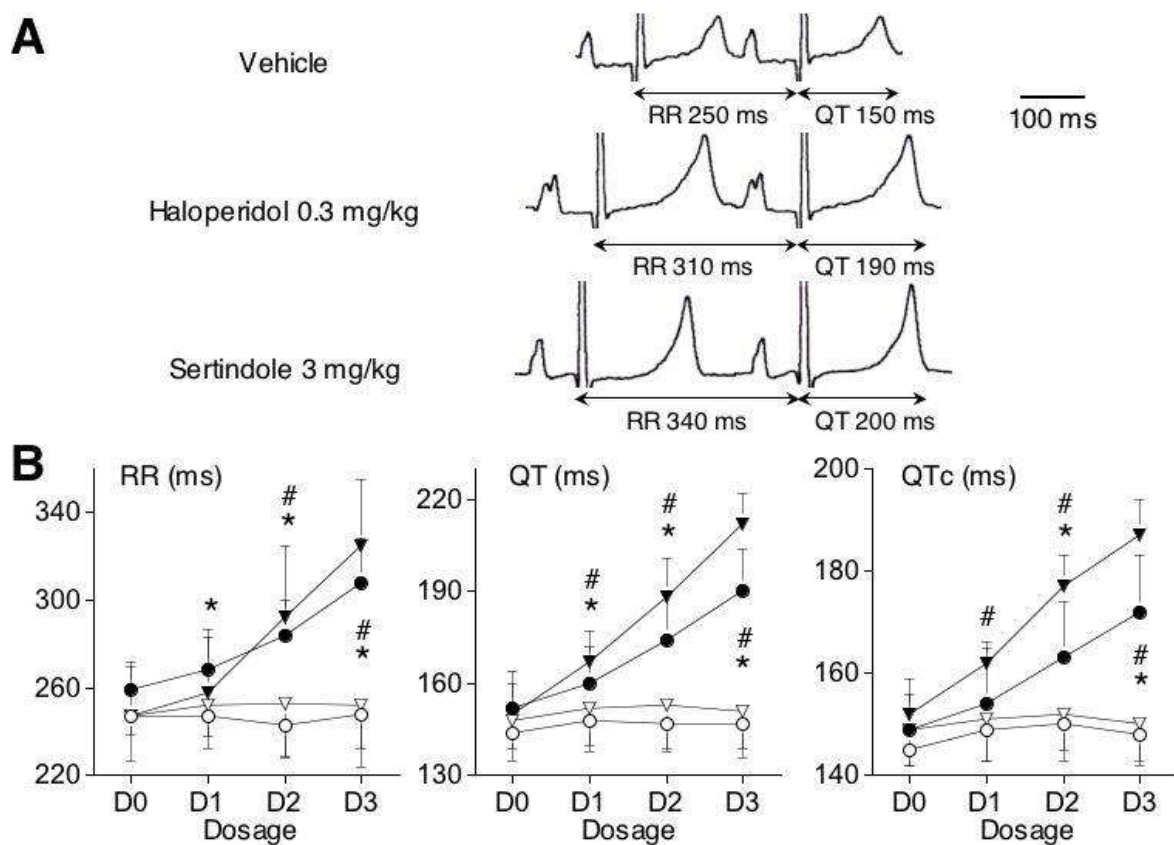


Figure 4

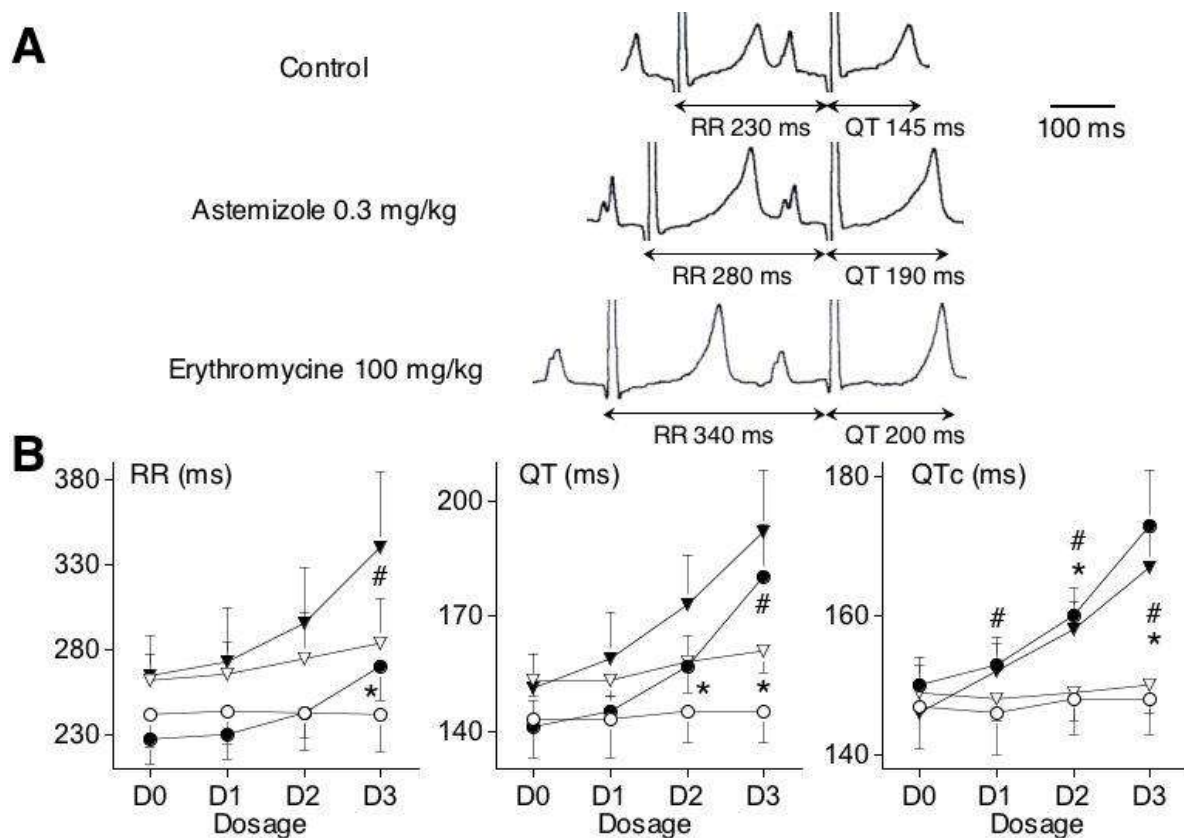


Figure 5

Table 1

Evaluation of square root, cubic root and monoexponential correction formulas
in group QT-RR data

	Square root	Cubic root	Monoexponential
RSS	22	90	5
MSR	0.729	2.991	0.167
AIC	103	148	57

Residual Sum of the Squares (RSS in ms^2), Mean Square Residuals (MSR in ms^2) and Akaike Information Criterion (AIC) are presented for group QT-RR data. Values were obtained in square root, cubic root, and monoexponential models, respectively.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Le syndrome du QT long acquis, tout particulièrement dans sa forme médicamenteuse, correspond à la rencontre d'un substrat et d'un effecteur. Le substrat peut être représenté par une forme mineure du syndrome du QT long congénital (33, 101), et l'effecteur est représenté dans la grande majorité des cas par un bloqueur de HERG (30).

L'étude du syndrome du QT long passe par l'étude clinique de la repolarisation ventriculaire, donc très souvent par l'analyse de l'intervalle QT de l'électrocardiogramme. Cette analyse se heurte depuis bientôt 100 ans à la difficulté de corriger la valeur de ce paramètre en fonction de son régulateur principal qui est le cycle cardiaque (683). La formule historique de Bazett (223) a donné lieu à de nombreuses critiques. L'ancienneté des débats témoigne de l'absence de solution universelle à cette question. La relation QT-RR, dépend, par exemple, de l'espèce, de la technique d'étude, de la pathologie sous-jacente. La spécificité de cette relation peut, à l'extrême, être individuelle au sein d'une même espèce (274). Faut-il donc tout corriger par la formule de Bazett, ou à l'inverse ne plus considérer que des formules individuelles ? Je crois que le bon sens est ici d'adapter l'outil à la situation. Si la formule de Bazett est souvent approximative, parfois fausse, son usage est logique dans la pratique de tous les jours sur des ECG standards, ce d'autant qu'il existe maintenant un très grand volume de données publiées avec cette formule, et qu'il est pratique, lorsque l'on communique, d'avoir un langage commun. L'utilisation d'une formule spécifique et personnalisée à un groupe d'individus très proches (par exemple des souris de la même espèce) semble largement suffisante, surtout si on prend soin de chercher à écarter les "out-liers". L'analyse de la relation QT-RR individuelle semble souhaitable dans le cadre d'un protocole de recherche effectué chez des patients d'âge et de pathologies différentes, si l'on veut corriger finement l'intervalle QT selon les variations de fréquence cardiaque.

Le travail de recherche que nous avons effectué dans le but de mettre en place un modèle de cobaye pour dépister précocement les bloqueurs de HERG, a été précédé par une étude de la relation QT-RR (684). Cette étude a été réalisée dans les conditions expérimentales prévues pour étudier les médicaments à tester dans un deuxième temps. Nous avons mis en évidence que la relation QT-RR était ici curvilinéaire, et en avons déduit une formule de correction spécifique à notre modèle, et l'avons ensuite appliquée. Dans un esprit similaire, l'étude de la dynamique de l'intervalle QT effectuée dans une famille de type LQT1 à partir d'enregistrements ECG Holter (33), a été précédée d'un travail de recherche plus fondamental sur la repolarisation ventriculaire. Nous avons ainsi démontré que la relation QT-RR, spontanément curvilinéaire, devenait linéaire dès lors que les battements sélectionnés étaient précédés d'un environnement de fréquence cardiaque stable, soit pendant la période de jour, soit pendant la période de nuit (191). Nous avons alors démontré que les adultes mâles de cette famille LQT1, porteurs sains du syndrome, gardaient une dynamique de l'intervalle QT pathologique sous la forme d'une inversion nyctémérale de la fréquence dépendance de l'intervalle QT.

Quel est le substrat sous-jacent à ce que l'on appelle "le syndrome du QT long acquis" ? L'essentiel de la réponse semble centrée autour d'un trait génétique favorisant. Les patients porteurs sains du syndrome du QT long congénital sont à risque de développer un QT long médicamenteux, et des troubles du rythme ventriculaire menaçants. La notion de trait génétique favorisant peut être étendue au-delà des mutations touchant les canaux ioniques actuellement connus comme participant à la forme congénitale du syndrome. En effet, plusieurs polymorphismes, touchant le cytochrome P450 impliqué dans le métabolisme de certains médicaments, ou les sous-unités régulatrices de certaines protéines canalaire impliquées dans la forme congénitale du syndrome, semblent favoriser la survenue d'un QT long médicamenteux. On peut imaginer que ces mutations ou ces polymorphismes puissent aussi concerner l'ensemble des participants allant du gène à la fonction du canal ionique, dont la traduction, la transcription, le trafic à la membrane ou encore les protéines d'accroche. La liste n'est pas close.

Quels sont les moyens disponibles pour identifier les individus à risque d'un allongement médicamenteux de l'intervalle QT ? Une première approche vise à étudier les conséquences fonctionnelles d'un trait génétique mineur. Nous avons démontré que l'analyse fine de banque de données Holter pouvait mettre en évidence des caractéristiques phénotypiques subtiles chez des patients porteurs sains du syndrome de type LQT1. Quand bien même automatisée, standardisée, et simplifiée, l'analyse dynamique de l'intervalle QT obtenue à partir de Holter ne peut dans l'immédiat se faire valoir comme un test de dépistage de masse des sujets à risque. La durée de l'enregistrement, de l'analyse, sans compter l'insuffisance des données scientifiques actuelles, rend cette option peu vraisemblable. Son usage dans le domaine de la recherche reste parfaitement pertinent. Que donnerait l'analyse de la dynamique de l'intervalle QT dans une cohorte de patients ayant présenté antérieurement un QT long acquis médicamenteux ? Une autre approche vise à rechercher l'existence d'un trait génétique mineur. L'amélioration et la diminution de coût des techniques de séquençage permettent d'entrevoir la possibilité d'un dépistage génétique plus large. Il faudrait cependant connaître au préalable un nombre "suffisant" de mutations et de polymorphismes impliqués dans la forme acquise du syndrome du QT long, de telle manière que la quantité des cibles représente un pourcentage "substantiel" de la population à risque. Si tel était le cas, peut-on penser que les progrès effectués dans la miniaturisation des puces à ADN puissent permettre un dépistage efficace et rapide ? Peut-on imaginer dans un avenir plus lointain un développement suffisant des nanotechnologies qui permettrait d'associer à certaines boîtes de médicaments potentiellement dangereux un diagnostic "minute" d'un polymorphisme à risque sur une goutte de sang ?

Dans le domaine de la prévention du syndrome du QT long acquis, l'alternative (ou le complément), au dépistage du substrat est représenté par le développement de la pharmacologie de sécurité. L'objectif est d'empêcher l'arrivée sur le marché de nouvelles molécules dangereuses. Les débats visant à mettre en avant telle ou telle technique *in vitro* ou *in vivo*, comme étant la plus performante pour dépister un bloqueurs de HERG, me semblent incongrus. L'effet d'une substance sur la repolarisation ventriculaire cardiaque est le résultat d'une multitude d'événements intégrant l'absorption médicamenteuse, son métabolisme, son transport, son affinité à la protéine cible, ses effets sur les autres courants ioniques, etc... même si il est entendu que la protéine HERG est le centre du débat. Tout ne se résumera donc jamais, de manière caricaturale, à une IC₅₀ de HERG en patch. A l'opposé, la complexité des mécanismes en jeu et la nécessité de leur intégration, justifient pleinement le recours à des modèles *in vivo*, très précocement dans le développement de la molécule. L'avenir de modèles murins ou de cobaye, tels que ceux que nous avons décrits, me semble prometteur compte tenu de leur sensibilité potentielle, de leur faible coût, et de la vitesse d'exécution des expériences.

La terfénadine a révélé le syndrome du QT long acquis. Vingt ans plus tard, au vu de l'amélioration des techniques et des connaissances, aurions nous pu éviter "l'histoire de la terfénadine" ? Probablement. A la condition que l'on se soit astreint d'emblée à une évaluation *in vitro* et *in vivo* de la molécule compte tenu de ses particularités métaboliques. Cela n'a pas été le cas plus récemment du mibéfradil... Aurait-on de nos jours écarté à tort de la mise sur le marché des molécules comme le vérapamil ou l'amiodarone ? Peut-être. On sent bien que la décision de poursuivre ou non le développement d'une nouvelle substance doit tenir avant tout de la réunion d'un faisceau d'arguments, positifs ou négatifs, intégrant les propriétés électrophysiologiques de la molécule aussi bien que son potentiel thérapeutique. Il semble évident que l'on n'écartera pas une molécule guérissant le cancer sous prétexte qu'elle allonge la repolarisation ventriculaire. A l'inverse, aucune compagnie pharmaceutique ne saurait prendre de risque pour un "nouveau" antiallergique, dès lors qu'il peut être suspect de bloquer HERG. Mais que ferait-on d'un nouvel antimalarique efficace sur certaines formes de résistance à la nivaquine et allongeant légèrement la repolarisation ventriculaire ? Le

pharmacologie de sécurité rejoint ici le dépistage des sujets à risque. On pourrait en effet imaginer que cette molécule ne puisse être délivrée que dans une population chez laquelle on pourrait préalablement préciser son profil génétique.

Le sentiment que je ressens en terminant d'écrire cette thèse est ambigu. Les connaissances acquises me permettent de mieux circonscrire cette entité dénommée "le syndrome du QT long acquis". Je mesure les progrès considérables qui ont été faits dans ce domaine depuis une vingtaine d'années. J'évalue aussi plus concrètement les inconnues immenses qui nous restent à découvrir.

Je comprends enfin une des expressions fétiches de notre regretté Denis Escande: "la formation PAR la recherche".

ANNEXE

A. Liste de Ray Woosley

Drugs That Prolong the QT Interval and/or Induce Torsades de Pointes

Raymond L. Woosley, MD, PhD

The following lists are based on information from the medical literature, the FDA-approved drug labeling and reports submitted to the FDA Adverse Events Reporting System database.

Drugs on the QT Drug Lists are reviewed on an ongoing basis to assure the evidence is still appropriate for their placement on their respective list. The most recent modification to the lists was done on March 1, 2006.

This list is maintained by Raymond L. Woosley, MD, PhD, CEO and President of The Critical Path Institute (C-Path) and Director of the Arizona Center for Education and Research on Therapeutics (AzCERT). To construct these lists, AzCERT only surveys drugs marketed in the United States (US). However, some drugs marketed in countries other than the US come to our attention and are included. Those drugs are designated with an asterisk. When the lists were first compiled, they were sent to the larger QTdrugs.org Scientific Advisory Board for comment and suggestions. Periodically, we again ask the board about specific drugs and for input about the content of the drug lists. Suggested additions, deletions and references are most welcome; the list has benefited immensely from the input of practicing physicians and other researchers in the field. This list will be updated as new information becomes available. The content of this Table is for public use, free of charge and for information only. It is not intended to be used in any other manner. The author disclaims any liability, loss, injury, or damage incurred as a consequence, directly or indirectly, or the use and application of any of the contents of this Table. The information presented on this site is intended as general health information and as an educational tool. It is not intended as medical advice. Only a physician, pharmacist, or other health care professional should advise a patient on medical issues and should do so using a medical history and other factors identified and documented as part of the health professional/patient relationship.

The entire content of this site is protected by International and United States of America copyright laws.

KEY

- Drug List 1:** Drugs that are generally accepted by authorities to have a risk of causing torsades de pointes.
- Drug List 2:** Drugs that in some reports may be associated with torsades de pointes but at this time lack substantial evidence for causing torsades de pointes.
- Drug List 3:** Drugs to be avoided for use in patients with diagnosed or suspected congenital long QT syndrome. (Drugs on Lists 1, 2 and 4 should also be avoided by patients with QT syndrome.)

Drug List 4: Drugs that, in some reports, have been weakly associated with torsades de pointes and/or QT prolongation but that are unlikely to be a risk for torsades de pointes when used in usual recommended dosages and in patients without other risk factors (e.g., concomitant QT prolonging drugs, bradycardia, electrolyte disturbances, congenital long QT syndrome, concomitant drugs that inhibit metabolism).

Females>Males: Substantial evidence indicates a greater risk (usually > two-fold) of TdP in women.

Drugs that prolong the QT interval and/or induce Torsades De Pointes

Generic Name (Brand Name)	Drug Class / Clinical Usage	Comments	List
Albuterol (Ventolin®)	Bronchodilator/Asthma		3
Albuterol (Proventil®)	Bronchodilator/Asthma		3
Alfuzosin (Uroxatral®)	Alpha1-blocker/Benign prostatic hyperplasia		2
Amantadine (Symmetrel®)	Dopaminergic/Anti-viral/Anti-infective/ Parkinson's Disease		2
Amiodarone (Pacerone®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males,TdP risk regarded as low	1
Amiodarone (Cordarone®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males,TdP risk regarded as low	1
Amitriptyline (Elavil®)	Tricyclic Antidepressant/depression		4
Amoxapine (Asendin®)	Tricyclic Antidepressant/depression		4
Amphetamine/dextroamphetamine (Adderall®)	CNS stimulant/ADHD		3
Arsenic trioxide (Trisenox®)	Anti-cancer/Leukemia		1
Atomoxetine (Strattera®)	norepinephrine reuptake inhibitor /ADHD		3
Azithromycin (Zithromax®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Bepidil (Vascor®)	Anti-anginal/heart pain	Females>Males	1
Chloral hydrate (Noctec®)	Sedative/sedation/ Insomnia		2
Chloroquine (Arelan®)	Anti-malarial/malaria infection		1
Chlorpromazine (Thorazine®)	Anti-psychotic/ Anti-emetic/ schizophrenia/ nausea		1
Ciprofloxacin (Cipro®)	Antibiotic/bacterial infection		4
Cisapride (Propulsid®)	GI stimulant/heartburn	Restricted availability; Females>Males.	1
Citalopram (Celexa®)	Anti-depressant/depression		4
Clarithromycin (Biaxin®)	Antibiotic/bacterial infection		1
Clomipramine (Anafranil®)	Tricyclic Antidepressant/depression		4
Clozapine (Clozaril®)	Anti-psychotic/schizophrenia		2
Cocaine (Cocaine)	Local anesthetic/		3
Desipramine (Pertofrane®)	Tricyclic Antidepressant/depression		4

Printable Drug List from www.azcert.org / torsades.org/ qtdrugs.org

Dexmethylphenidate (Focalin®)	CNS stimulant/ADHD		3
Dextroamphetamine (Dexadrine®)	CNS stimulant/ADHD		3
Disopyramide (Norpace®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males	1
Dobutamine (Dobutrex®)	Catecholamine/heart failure and shock		3
Dofetilide (Tikosyn®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm		1
Dolasetron (Anzemet®)	Anti-nausea/nausea, vomiting		2
Domperidone* (Motilium®)	Anti-nausea/nausea	not available in the United States	1
Dopamine (Intropine®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm		3
Doxepin (Sinequan®)	Tricyclic Antidepressant/depression		4
Droperidol (Inapsine®)	Sedative; Anti-nausea/anesthesia adjunct, nausea		1
Ephedrine (Broncholate®)	Bronchodilator, decongestant/Allergies, sinusitis, asthma		3
Ephedrine (Rynatuss®)	Bronchodilator, decongestant/Allergies, sinusitis, asthma		3
Epinephrine (Primatene®)	catecholamine, vasoconstrictor/anaphylaxis, allergic reactions		3
Epinephrine (Bronkaid®)	catecholamine, vasoconstrictor/anaphylaxis, allergic reactions		3
Erythromycin (Erythrocin®)	Antibiotic; GI stimulant/bacterial infection; increase GI motility	Females>Males	1
Erythromycin (E.E.S.®)	Antibiotic; GI stimulant/bacterial infection; increase GI motility	Females>Males	1
Felbamate (Felbatol®)	Anti-convulsant/seizure		2
Fenfluramine (Pondimin®)	Appetite suppressant/dieting, weight loss		3
Flecainide (Tambocor®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm		2
Fluconazole (Diflucan®)	Anti-fungal/fungal infection		4
Fluoxetine (Sarafem®)	Anti-depressant/depression		4
Fluoxetine (Prozac®)	Anti-depressant/depression		4
Foscarnet (Foscavir®)	Anti-viral/HIV infection		2
Fosphenytoin (Cerebyx®)	Anti-convulsant/seizure		2
Galantamine (Reminyl®)	Cholinesterase inhibitor/Dementia, Alzheimer's		4
Gatifloxacin (Tequin®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Gemifloxacin (Factive®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Granisetron (Kytril®)	Anti-nausea/nausea and vomiting		2
Halofantrine (Halfan®)	Anti-malarial/malaria infection	Females>Males	1
Haloperidol (Haldol®)	Anti-psychotic/schizophrenia, agitation		1
Ibutilide (Corvert®)	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males	1

<http://www.arizonacert.org/medical-pros/drug-lists/printable-drug-list.cfm> (3 sur 6) 15/04/2007 15:20:31

Printable Drug List from www.azcert.org / torsades.org / qtdrugs.org

Imipramine (Norfranil®)	Tricyclic Antidepressant/ depression		4
Indapamide (Lozol®)	Diuretic/stimulate urine & salt loss		2
Isoproterenol (Isupres®)	Catecholamine/allergic reaction		3
Isoproterenol (Medihaler- Iso®)	Catecholamine/allergic reaction		3
Isradipine (Dynacirc®)	Anti-hypertensive/high blood pressure		2
Itraconazole (Sporanox®)	Anti-fungal/fungal infection		4
Ketoconazole (Nizoral®)	Anti-fungal/fungal infection		4
Levalbuterol (Xopenex®)	Bronchodilator/asthma		3
Levofloxacin (Levaquin®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Levomethadyl (Orlaam®)	Opiate agonist/pain control, narcotic dependence		1
Lithium (Eskalith®)	Anti-mania/bipolar disorder		2
Lithium (Lithobid®)	Anti-mania/bipolar disorder		2
Mesoridazine (Serentil®)	Anti-psychotic/schizophrenia		1
Metaproterenol (Alupent®)	Bronchodilator/asthma		3
Metaproterenol (Metaprel®)	Bronchodilator/asthma		3
Methadone (Dolophine®)	Opiate agonist/pain control, narcotic dependence	Females>Males	1
Methadone (Methadose®)	Opiate agonist/pain control, narcotic dependence	Females>Males	1
Methylphenidate (Ritalin®)	CNS stimulant/ADHD		3
Methylphenidate (Concerta®)	CNS stimulant/ADHD		3
Mexiletine (Mexitil®)	Anti-arrhythmic/Abnormal heart rhythm		4
Midodrine (ProAmatine®)	Vasoconstrictor/low blood pressure, fainting		3
Moexipril/HCTZ (Uniretic®)	Anti-hypertensive/high blood pressure		2
Moxifloxacin (Avelox®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Nicardipine (Cardene®)	Anti-hypertensive/high blood pressure		2
Norepinephrine (Levophed®)	Vasconstrictor, Inotrope/shock, low blood pressure		3
Nortriptyline (Pamelor®)	Tricyclic Antidepressant/ depression		4
Octreotide (Sandostatin®)	Endocrine/acromegaly, carcinoid diarrhea		2
Ofloxacin (Floxin®)	Antibiotic/bacterial infection		2
Ondansetron (Zofran®)	Anti-emetic/nausea and vomiting		2
Paroxetine (Paxil®)	Anti-depressant/depression		4
Pentamidine (NebuPent®)	Anti-infective/pneumocystis pneumonia	Females>Males	1

Pentamidine (Pentam [®])	Anti-infective/pneumocystis pneumonia	Females>Males	1
Phentermine (Fastin [®])	Appetite suppressant/dieting, weight loss		3
Phentermine (Adipex [®])	Appetite suppressant/dieting, weight loss		3
Phenylephrine (Neosynephrine [®])	Vasoconstrictor, decongestant/low blood pressure, allergies, sinusitis, asthma		3
Phenylpropanolamine (Acutrim [®])	Decongestant/allergies, sinusitis, asthma		3
Phenylpropanolamine (Dexatrim [®])	Decongestant/allergies, sinusitis, asthma		3
Pimozide (Orap [®])	Anti-psychotic/Tourette's tics	Females>Males	1
Procainamide (Pronestyl [®])	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm		1
Procainamide (Procan [®])	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm		1
Protriptyline (Vivactil [®])	Tricyclic Antidepressant/depression		4
Pseudoephedrine (PediaCare [®])	Decongestant/allergies, sinusitis, asthma		3
Pseudoephedrine (Sudafed [®])	Decongestant/allergies, sinusitis, asthma		3
Quetiapine (Seroquel [®])	Anti-psychotic/schizophrenia		2
Quinidine (Quinaglute [®])	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males	1
Quinidine (Cardioquin [®])	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males	1
Ranolazine (Ranexa [®])	Anti-anginal/chronic angina		2
Risperidone (Risperdal [®])	Anti-psychotic/schizophrenia		2
Ritodrine (Yutopar [®])	Uterine relaxant/prevent premature labor		3
Roxithromycin* (Rulide [®])	Antibiotic/bacterial infection	*not available in the United States	2
Salmeterol (Serevent [®])	Sympathomimetic/asthma, COPD		3
Sertraline (Zoloft [®])	Anti-depressant/depression		4
Sibutramine (Meridia [®])	Appetite suppressant/dieting, weight loss		3
Solifenacin (VESicare [®])	muscarinic receptor antagonist/treatment of overactive bladder		4
Sotalol (Betapace [®])	Anti-arrhythmic/abnormal heart rhythm	Females>Males	1
Sparfloxacin (Zagam [®])	Antibiotic/bacterial infection		1
Tacrolimus (Prograf [®])	Immunosuppressant/Immune suppression		2
Tamoxifen (Nolvadex [®])	Anti-cancer/breast cancer		2
Tellithromycin (Ketek [®])	Antibiotic/bacterial infection		2
Terbutaline (Brethine [®])	Bronchodilator/asthma		3
Thioridazine (Mellaril [®])	Anti-psychotic/schizophrenia		1
Tizanidine (Zanaflex [®])	Muscle relaxant/		2

Printable Drug List from www.azcert.org / torsades.org / qtdrugs.org

Tolterodine (Detrol [®])	Bladder Antispasmodic/	3
Tolterodine (Detrol LA [®])	Bladder Antispasmodic/	3
Trimethoprim-Sulfa (Sulfa [®])	Antibiotic/bacterial infection	4
Trimethoprim-Sulfa (Bactrim [®])	Antibiotic/bacterial infection	4
Trimipramine (Surmontil [®])	Tricyclic Antidepressant/ depression	4
Vardenafil (Levitra [®])	phosphodiesterase inhibitor/ vasodilator	2
Venlafaxine (Effexor [®])	Anti-depressant/depression	2
Voriconazole (VFend [®])	Anti-fungal/anti-fungal	2
Ziprasidone (Geodon [®])	Anti-psychotic/schizophrenia	2

A note about Brand Names: Drugs are listed with up to 2 common brand names. There are many more brand names for some of the common drugs, such as pseudoephedrine and erythromycin. It is also important to look at the list of active drugs in medicines that contain a combination of drugs such as Zyrtec-D[®], which contains pseudoephedrine.

Revised:03/01/2006
Source:www.QTdrugs.org

 [Close Window](#)  [Print](#)

B. Liste de Robert Fenichel

Robert R. Fenichel

Receptor Binding

Sorted by class/drug/model/receptor

[Sort by drug/model/receptor](#)

[Sort by potency \(relative to \$I_{Kr}\$ \)](#)

[Sort by receptor/drug/model](#)

[Sort by receptor/potency](#)

[Sort by receptor/model](#)

[Return to QT top level](#)

Drug	Class	Model	Receptor	IC ₅₀ (μ M)	Relative Potency (I_{Kr}/X)	Ref	Comment
captopril	ACE inhibitor	AT-1	I_{Kr}	10	---	129	
sildenafil	PDE inhibitor	HERG/HEK	I_{Kr}	100	---	56	
sildenafil	PDE inhibitor	PDE5	PDE5	0.001	0.00001	118	
vesnarinone	PDE inhibitor	rabbit VM	I_{Kr}	5.7	---	115	
vesnarinone	PDE inhibitor	human heart	PDE3	6.2	1.1	87	
spironolactone	aldosterone antagonist	HERG/CHO	I_{Kr}	23	---	35	
alfuzosin	alpha1-blocker	HERG/CHO	I_{Kr}	83.3	---	92	
doxazosin	alpha1-blocker	HERG/CHO	I_{Kr}	2.5	---	92	
prazosin	alpha1-blocker	HERG/CHO	I_{Kr}	3.4	---	92	
tamsulosin	alpha1-blocker	HERG/CHO	I_{Kr}	104.8	---	92	
terazosin	alpha1-blocker	HERG/CHO	I_{Kr}	21.4	---	92	
bepidil	antianginal	guinea-pig VM	I_{CaL}	0.5		134	
bepidil	antianginal	guinea-pig AM	I_{CaL}	1.55		57	
bepidil	antianginal	sheep PF	I_{K1}	>1.8		28	
bepidil	antianginal	HERG/COS	I_{Kr}	0.55	---	42	

Receptor Binding

bepridil	antianginal	IKs/COS	I _{Ks}	10		42	
bepridil	antianginal	guinea-pig AM	I _{Na}	4.43		57	
bepridil	antianginal	guinea-pig VM	I _{Na}	30		134	
bepridil	antianginal	sheep PF	I _{to}	<30		28	
perhexiline	antianginal	HERG/CHO	I _{Kr}	7.8	---	124	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{CaL(late)}	50	4.2	6	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{CaL(peak)}	296	49	6	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{K1}	>100		140	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Kr}	11.5	---	140	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Kr}	12	---	6	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Ks}	13.4		140	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Ks}	>> 30	>> 5	6	17% at 30 uM
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Na}	21		140	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{Na(late)}	6	0.5	6	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{NaCa}	91	15	6	
ranolazine	antianginal	canine VM	I _{to}	>100	>9	140	17% at 100 uM
almokalant	antiarrhythmic	rabbit VM	I _{Kr}	0.005	---	38	
amiodarone	antiarrhythmic	rat VM	I _{CaL}	5.8		93	
amiodarone	antiarrhythmic	rabbit VM	I _{K1}	50		29	
amiodarone	antiarrhythmic	guinea-pig AM	I _{KAch}	2		24	
amiodarone	antiarrhythmic	guinea-pig VM	I _{KNa}	1		23	
amiodarone	antiarrhythmic	AT-1	I _{Kr}	0.7	---	129	
amiodarone	antiarrhythmic	AT-1	I _{Kr}	1	---	130	
amiodarone	antiarrhythmic	HERG/L	I _{Kr}	1	---	130	
amiodarone	antiarrhythmic	rabbit VM	I _{Kr}	2.8	---	64	
amiodarone	antiarrhythmic	rabbit VM	I _{Kr}	10	---	21	
amiodarone	antiarrhythmic	HERG/XO	I _{Kr}	10	---	73	

Receptor Binding

amiodarone	antiarrhythmic	rat VM	I_{to}	4.9		22	
amiodarone	antiarrhythmic	rabbit VM	I_{to}	>10		21	
aprinidine	antiarrhythmic	HERG/COS	I_{Kr}	0.23	---	59	
aprinidine	antiarrhythmic	COS	I_{Ks}	>10		59	
azimilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{CaL}	>10		54	
azimilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{K1}	>10		54	
azimilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{Kr}	0.4	---	54	
azimilide	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	1.4	---	34	
azimilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{Ks}	3		54	
clofilium	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	1.25	---	32	
disopyramide	antiarrhythmic	rabbit VM	I_{Kr}	1.8	---	120	
disopyramide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	58	---	98	
disopyramide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	60-100	---	130	
disopyramide	antiarrhythmic	HERG/L	I_{Kr}	92		129	
disopyramide	antiarrhythmic		I_{Na}	28		132	
disopyramide	antiarrhythmic	rabbit VM	I_{to}	14		120	
dofetilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{K1}	>1		61	
dofetilide	antiarrhythmic	rabbit VM	I_{Kr}	0.0039	---	39	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0095	---	94	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG/L	I_{Kr}	0.0095	---	94	
dofetilide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	0.011	---	129	
dofetilide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	0.012	---	131	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.012	---	105	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG-HEK	I_{Kr}	0.015	---	95	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG/L	I_{Kr}	0.015	---	129	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG	I_{Kr}	0.015	---	76	at 22°C
dofetilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{Kr}	0.032	---	61	
dofetilide	antiarrhythmic	HL-1	I_{Kr}	0.047	---	43	
dofetilide	antiarrhythmic	mouse heart	I_{Kr}	0.054	---	81	
dofetilide	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.125	---	80	
dofetilide	antiarrhythmic	GP VM	I_{Ks}	>100		61	

Receptor Binding

dofetilide	antiarrhythmic	HEK-293	$I_{Kv1.5}$	>10		94	
E-4031	antiarrhythmic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0077	---	137	
E-4031	antiarrhythmic	ferret heart	I_{Kr}	0.0103	---	83	
E-4031	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.38	---	2	+MiRP1
E-4031	antiarrhythmic	GP VM	I_{Kr}	0.397	---	103	
E-4031	antiarrhythmic	GP VM	I_{Kr}	<5	---	99	
E-4031	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.588	---	116	
E-4031	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	1.25	---	2	WT
E-4031	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	1.4	---	34	different lab
encainide	antiarrhythmic	feline VM	I_{Kr}	6	---	55	
flecainide	antiarrhythmic	feline VM	I_{Kr}	2.2	---	55	
ibutilide	antiarrhythmic	HERG/L	I_{Kr}	0.015	---	129	
ibutilide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	0.02	---	131	
LY97241	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.15	---	109	
mexiletine	antiarrhythmic	rat VM	I_{CaL}	5.8	---	93	
MK-499	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.123	---	106	
MK-499	antiarrhythmic	guinea-pig VM	I_{Kr}	0.4	---	54	
procainamide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	380	---	130	
N-acetylprocainamide	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	92	---	98	
quinidine	antiarrhythmic	feline VM	I_{Kr}	0.18	---	126	
quinidine	antiarrhythmic	HERG/L	I_{Kr}	0.3	---	130	
quinidine	antiarrhythmic	AT-1	I_{Kr}	1	---	130	
quinidine	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	8	---	80	
RP-58866	antiarrhythmic	guinea-pig VM	I_{Kr}	0.02	---	62	
RP-58866	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.2	---	62	
d-sotalol	antiarrhythmic	GP VM	I_{Kr}	100	---	103	
d-sotalol	antiarrhythmic	human AM	$I_{Kv1.5}$	>500	---	53	
d-sotalol	antiarrhythmic	human AM	I_{to}	>500		53	

Receptor Binding

terikalant	antiarrhythmic	guinea-pig VM	I_{Kr}	0.031	---	62	
terikalant	antiarrhythmic	HERG/XO	I_{Kr}	0.25	---	62	
WAY-123,398	antiarrhythmic	feline VM	I_{Kr}	0.019	---	107	
clarithromycin	antibiotic/ macrolide	HERG/CHO	I_{Kr}	20	---	2	+MiRP1
clarithromycin	antibiotic/ macrolide	HERG/CHO	I_{Kr}	59	---	2	WT
erythromycin	antibiotic/ macrolide		I_{Kr}	387	---	76	at 32-37°C
erythromycin	antibiotic/ macrolide	AT-1	I_{Kr}	54.6	---	127	
erythromycin	antibiotic/ macrolide	GP VM	I_{Kr}	>100	---	47	
erythromycin	antibiotic/ macrolide		I_{to}	606		76	at 32-37°C
erythromycin	antibiotic/ macrolide	S. pneumoniae	MIC	1.36	<0.014	68	
ciprofloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	>100	---	33	-40 mV
ciprofloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	966	---	66	
gatifloxacin	antibiotic/ quinolone	AT-1	I_{Kr}	26.5	---	4	
gatifloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	130	---	66	
grepafloxacin	antibiotic/ quinolone	AT-1	I_{Kr}	27.2	---	4	
grepafloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	27.5	---	33	-40 mV
grepafloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	50	---	66	
levofloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	915	---	66	
moxifloxacin	antibiotic/ quinolone	AT-1	I_{Kr}	0.75	---	4	
moxifloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I_{Kr}	1	---	97	-40 mV

Receptor Binding

moxifloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I _{Kr}	41.2	---	33	-40 mV
moxifloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I _{Kr}	129	---	66	
ofloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I _{Kr}	1420	---	66	
sparfloxacin	antibiotic/ quinolone	AT-1	I _{Kr}	0.23	---	4	
sparfloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I _{Kr}	13.5	---	33	-40 mV
sparfloxacin	antibiotic/ quinolone	HERG/CHO	I _{Kr}	18	---	66	
atropine	anticholinergic		I _{Kr}	0.558	---	76	
amitriptyline	antidepressant	HERG/CHO	I _{Kr}	>3	---	112	
amitriptyline	antidepressant	HERG/CHO	I _{Kr}	10	---	114	
amitriptyline	antidepressant	rat neuron	I _{Kr}	10	---	125	
imipramine	antidepressant	HERG/CHO	I _{Kr}	3.4	---	112	
valproic acid	antiepileptic	AT-1	I _{Kr}	20	---	127	
tamoxifen	antiestrogen	rabbit VM	I _{Kr}	1	---	84	
clotrimazole	antifungal	GP VM	I _{CaL}	<25		113	5=IC16, 25 = IC59
ketoconazole	antifungal	feline VM	I _{Kr}	2.5	---	41	
ketoconazole	antifungal	HERG/XO	I _{Kr}	49	---	51	
ketoconazole	antifungal	XO	I _{Kv1.5}	107		51	
ketoconazole	antifungal	feline VM	I _{to}	10		41	
astemizole	antihistamine	GP cerebellum	H ₁	0.052	58	27	
astemizole	antihistamine	GP LM	H ₁	0.079	88	74	
astemizole	antihistamine	GP LM	H ₁	0.3	333	63	
astemizole	antihistamine	guinea-pig VM	I _{K1}	>10		31	
astemizole	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	0.0009	---	138	
astemizole	antihistamine	guinea-pig VM	I _{Kr}	0.0015	---	101	
astemizole	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	0.022	---	46	at 37°C

Receptor Binding

astemizole	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	0.048	---	110	
astemizole	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	0.069	---	40	
astemizole	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	0.33	---	111	
astemizole	antihistamine		I _{Ks}	>10		101	10uM = IC0.3
astemizole	antihistamine	XO	I _{Ks}	>60		110	
astemizole	antihistamine	XO	I _{Kv1.1}	>60		110	
astemizole	antihistamine	XO	I _{RK1}	>60		110	
astemizole	antihistamine	guinea-pig VM	I _{to}	>10		31	
astemizole	antihistamine		I _{to}	>10		30	10uM = IC23
desmethylastemizole	antihistamine	GP LM	H ₁	0.2	10	63	
desmethylastemizole	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	0.001	---	138	
norastemizole	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	0.028	---	138	
cetirizine	antihistamine	GP cerebellum	H ₁	0.47	0.004	27	
cetirizine	antihistamine	rabbit VM	I _{K1}	>1000		37	
cetirizine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	>30	---	111	
cetirizine	antihistamine	rabbit VM	I _{Kr}	108	---	37	
cetirizine	antihistamine	rabbit VM	I _{Ks}	>1000		37	1mM = IC44
chlorpheniramine	antihistamine	GP LM	H ₁	0.002	0.001	74	
chlorpheniramine	antihistamine		I _{K1}	>10		101	10uM=IC0.6
chlorpheniramine	antihistamine		I _{Kr}	1.1	---	101	
chlorpheniramine	antihistamine	GP VM	I _{Kr}	1.6	---	102	
chlorpheniramine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	21	---	110	
chlorpheniramine	antihistamine		I _{Ks}	>10		101	10uM = IC9.7
cyproheptadine	antihistamine	GP cerebellum	H ₁	0.003		27	
diphenhydramine	antihistamine	GP LM	H ₁	0.042	0.038	74	
diphenhydramine	antihistamine	GP VM	I _{Kr}	0.03	---	72	
diphenhydramine	antihistamine	GP VM	I _{Kr}	1.1	---	102	

Receptor Binding

diphenhydramine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	27	---	110	
ebastine	antihistamine	GP LM	H ₁	0.27	1.9	74	
ebastine	antihistamine	rat VM	I _{K1}	>3		75	
ebastine	antihistamine	guinea-pig VM	I _{Kr}	0.14	---	75	
ebastine	antihistamine	guinea-pig VM	I _{Ks}	2		75	
ebastine	antihistamine		I _{Kv1.5}	>1		20	1uM = IC6.5
ebastine	antihistamine	rat VM	I _{to}	>3		75	
epinastine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	>100	---	40	
fexofenadine	antihistamine	GP LM	H ₁	0.26	0.024	74	
fexofenadine	antihistamine	feline VM	I _{Kr}	>5	---	126	
fexofenadine	antihistamine		I _{Kr}	>10		96	
fexofenadine	antihistamine	HERG	I _{Kr}	13.1	---	76	at 32-37°C
fexofenadine	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	21.57	---	46	at 37°C
fexofenadine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	>500	---	100	
fexofenadine	antihistamine		I _{Ks}	20.4		76	at 32-37°C
fexofenadine	antihistamine		I _{Kv1.5}	>50		128	
fexofenadine	antihistamine	feline VM	I _{Kv1.5}	214		96	
fexofenadine	antihistamine		I _{Kv1.5}	389		76	at 32-37°C
fexofenadine	antihistamine	XO	I _{Kv1.5}	>500		100	
fexofenadine	antihistamine		I _{to}	112		76	at 32-37°C
loratidine	antihistamine	GP cerebellum	H ₁	1	0.3	27	
loratidine	antihistamine	HERG/HEK	I _{K1}	>1		45	
loratidine	antihistamine	rat VM	I _{K1}	>10		50	
loratidine	antihistamine	HERG/HEK	I _{Kr}	0.173	---	45	
loratidine	antihistamine		I _{Kr}	>1	---	50	1uM = IC5
loratidine	antihistamine	HERG/XO	I _{Kr}	100	---	111	
loratidine	antihistamine		I _{Ks}	<10		50	10uM = IC58
loratidine	antihistamine	guinea-pig VM	I _{Ks}	<25		50	

Receptor Binding

loratidine	antihistamine	HEK 293	$I_{Kv1.5}$	0.8		77	
loratidine	antihistamine		$I_{Kv1.5}$	1.2		19	
loratidine	antihistamine	HERG/HEK	I_{sus}	>1		45	
loratidine	antihistamine	HERG/HEK	I_{to}	>1		45	
loratidine	antihistamine	rat VM	I_{to}	2.6		50	
loratidine	antihistamine		I_{to}	>10		50	10uM = IC12
DC-loratidine	antihistamine	HERG/HEK	I_{Kr}	1.82	---	46	at 37°C
mizolastine	antihistamine	HERG/HEK	I_{Kr}	0.441	---	46	at 37°C
pyrilamine	antihistamine	GP cerebellum	H_1	0.006	0.005	27	
pyrilamine	antihistamine		I_{K1}	>10		101	10uM = IC1.3
pyrilamine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{Kr}	1.1	---	102	
pyrilamine	antihistamine		I_{Kr}	1.1	---	101	
pyrilamine	antihistamine		I_{Ks}	>10		101	10uM = IC16
terfenadine	antihistamine	GP cerebellum	H_1	0.45	9	27	
terfenadine	antihistamine	GP LM	H_1	0.56	3.7	74	
terfenadine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{Ca}	<3		90	
terfenadine	antihistamine	rat VM	I_{CaL}	0.14		82	
terfenadine	antihistamine	HERG/HEK	I_{K1}	>1		45	
terfenadine	antihistamine		I_{K1}	>10		31	
terfenadine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{K1}	>10		31	
terfenadine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{Kr}	0.05	---	101	
terfenadine	antihistamine	HERG/HEK	I_{Kr}	0.056	---	95	
terfenadine	antihistamine	HERG	I_{Kr}	0.056	---	76	at 32-37°C
terfenadine	antihistamine	rabbit VM	I_{Kr}	0.096	---	37	
terfenadine	antihistamine	AT-1	I_{Kr}	0.097	---	127	
terfenadine	antihistamine	feline VM	I_{Kr}	0.15	---	126	

Receptor Binding

terfenadine	antihistamine	HERG/HEK	I_{Kr}	0.204	---	45	
terfenadine	antihistamine	HERG/XO	I_{Kr}	0.246	---	110	
terfenadine	antihistamine	HERG/XO	I_{Kr}	0.431	---	40	
terfenadine	antihistamine	HERG/XO	I_{Kr}	0.48	---	111	
terfenadine	antihistamine		I_{Ks}	4.4		76	at 32-37°C
terfenadine	antihistamine		I_{Ks}	<10		101	10uM = IC58
terfenadine	antihistamine	XO	I_{Ks}	29		110	
terfenadine	antihistamine	XO	$I_{Kv1.1}$	34		110	
terfenadine	antihistamine		$I_{Kv1.5}$	0.367		76	at 32-37°C
terfenadine	antihistamine	feline VM	$I_{Kv1.5}$	0.37		96	
terfenadine	antihistamine	XO	$I_{Kv1.5}$	1		128	
terfenadine	antihistamine		$I_{Kv1.5}$	1.1		18	
terfenadine	antihistamine	XO	$I_{Kv1.5}$	2.6		100	
terfenadine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{Na}	<3		90	
terfenadine	antihistamine	XO	I_{RK1}	23		110	
terfenadine	antihistamine	HERG/HEK	I_{sus}	>1		45	
terfenadine	antihistamine	guinea-pig VM	I_{to}	>1		31	
terfenadine	antihistamine	HERG/HEK	I_{to}	>1		45	
terfenadine	antihistamine		I_{to}	>1		30	1uM = IC11
terfenadine	antihistamine		I_{to}	2.7		76	at 32-37°C
trimethaphan	antihypertensive	AT-1	I_{Kr}	10	---	127	
chlorpromazine	antipsychotic	HERG/CHO	I_{Kr}	1.47	---	114	
clozapine	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>100		46	
clozapine	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.191	---	46	at 37°C
clozapine	antipsychotic	human AM	I_{Na}	29.0		46	
clozapine	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>100		46	
clozapine	antipsychotic	human AM	I_{to}	50-100		46	
haloperidol	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>100		46	
haloperidol	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0281	---	46	at 37°C

Receptor Binding

haloperidol	antipsychotic	HERG/XO	I_{Kr}	1	---	108	
haloperidol	antipsychotic	human AM	I_{Na}	14.4		46	
haloperidol	antipsychotic	human AM	I_{sus}	10-100		46	
haloperidol	antipsychotic	human AM	I_{to}	10-100		46	
olanzipine	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>>100		46	
olanzipine	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.181	---	46	at 37°C
olanzipine	antipsychotic	human AM	I_{Na}	>100		46	
olanzipine	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>100		46	
olanzipine	antipsychotic	human AM	I_{to}	>100		46	
pimozide	antipsychotic	rat brain	5HT ₂	0.031	1.7	44	
pimozide	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>100		46	
pimozide	antipsychotic	HERG	I_{Kr}	0.018	---	65	
pimozide	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0497	---	46	at 37°C
pimozide	antipsychotic	HERG	I_{Ks}	>10		65	
pimozide	antipsychotic	HERG	$I_{Kv1.5}$	>10		65	
pimozide	antipsychotic	human AM	I_{Na}	21.9		46	
pimozide	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>>100		46	
pimozide	antipsychotic	human AM	I_{to}	>>100		46	
risperidone	antipsychotic		5HT ₂	0.00016	0.0004	104	
risperidone	antipsychotic		D ₂	0.0033	0.008	104	
risperidone	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>100		46	
risperidone	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.163	---	46	at 37°C
risperidone	antipsychotic		I_{Kr}	0.394	---	76	at 32-37°C
risperidone	antipsychotic		I_{Ks}	9.7		76	at 32-37°C
risperidone	antipsychotic		$I_{Kv1.5}$	9.5		76	at 32-37°C
risperidone	antipsychotic	human AM	I_{Na}	50-100		46	
risperidone	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>100		46	
risperidone	antipsychotic		I_{to}	25.5		76	at 32-37°C
risperidone	antipsychotic	human AM	I_{to}	>100		46	
sertindole	antipsychotic		5HT ₂	0.00085	0.17	104	
sertindole	antipsychotic		D ₂	0.0074	1.5	104	

Receptor Binding

sertindole	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>10		46	
sertindole	antipsychotic	HERG	I_{Kr}	0.005	---	76	at 32-37°C
sertindole	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0126	---	46	at 37°C
sertindole	antipsychotic	HERG/L	I_{Kr}	0.014	---	94	
sertindole	antipsychotic		I_{Ks}	0.88		76	at 32-37°C
sertindole	antipsychotic	HEK	$I_{Kv1.5}$	2.12		94	
sertindole	antipsychotic		$I_{Kv1.5}$	4		76	at 32-37°C
sertindole	antipsychotic	human AM	I_{Na}	>10		46	
sertindole	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>10		46	
sertindole	antipsychotic		I_{to}	8.8		76	at 32-37°C
sertindole	antipsychotic	human AM	I_{to}	>10		46	
thioridazine	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>100		46	
thioridazine	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.0357	---	46	at 37°C
thioridazine	antipsychotic	HERG/CHO	I_{Kr}	1.07	---	114	
thioridazine	antipsychotic	HERG/tsA-201	I_{Kr}	1.25	---	49	
thioridazine	antipsychotic	guinea-pig VM	I_{Kr}	1.25	---	49	
thioridazine	antipsychotic	guinea-pig VM	I_{Ks}	14		49	
thioridazine	antipsychotic	human AM	I_{Na}	7.0		46	
thioridazine	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>100		46	
thioridazine	antipsychotic	human AM	I_{to}	27		46	
ziprasidone	antipsychotic	human AM	I_{K1}	>10		46	
ziprasidone	antipsychotic	HERG/HEK	I_{Kr}	0.152	---	46	at 37°C
ziprasidone	antipsychotic	human AM	I_{Na}	>10		46	
ziprasidone	antipsychotic	human AM	I_{sus}	>10		46	
ziprasidone	antipsychotic	human AM	I_{to}	>10		46	
terodiline	antispasmodic	AT-1	I_{Kr}	0.0037	---	127	
terodiline	antispasmodic	guinea-pig VM	I_{Kr}	0.7	---	60	
clobutinol	antitussive		I_{Kr}	2.9	---	26	

Receptor Binding

lopinavir	antiviral	HERG/HEK	I_{Kr}	8.6	---	5	
nelfinavir	antiviral	HERG/HEK	I_{Kr}	11.5	---	5	
ritonavir	antiviral	HERG/HEK	I_{Kr}	8.2	---	5	
saquinavir	antiviral	HERG/HEK	I_{Kr}	15.3	---	5	
propranolol	beta blocker	AT-1	I_{Kr}	15	---	127	
carvedilol	beta-blocker	HERG/XO	I_{Kr}	10.42	---	69	
diltiazem	calcium antagonist	HERG/COS	I_{Kr}	>10	---	42	
diltiazem	calcium antagonist	HERG/HEK	I_{Kr}	17.3	---	136	
diltiazem	calcium antagonist	IKs/COS	I_{Ks}	>10		42	
mibefradil	calcium antagonist	guinea pig	I_{CaL}	0.2		52	-50 mV
mibefradil	calcium antagonist	guinea pig	I_{CaL}	12		52	-80 mV
mibefradil	calcium antagonist		I_{CaL}	18.6		88	
mibefradil	calcium antagonist		I_{CaT}	2.7		88	
mibefradil	calcium antagonist	AT-1	I_{Kr}	0.4-0.8	---	130	
mibefradil	calcium antagonist	AT-1	I_{Kr}	0.75	---	98	
mibefradil	calcium antagonist	HERG/COS	I_{Kr}	1.43	---	42	
mibefradil	calcium antagonist	IKs/COS	I_{Ks}	11.8		42	
verapamil	calcium antagonist	guinea pig	I_{CaL}	0.7		52	
verapamil	calcium antagonist	HERG/HEK	I_{Kr}	0.143	---	136	
verapamil	calcium antagonist	HERG/L	I_{Kr}	0.34	---	129	
verapamil	calcium antagonist	AT-1	I_{Kr}	0.3-1	---	130	
verapamil	calcium antagonist	HERG/COS	I_{Kr}	0.83	---	42	

Receptor Binding

verapamil	calcium antagonist	AT-1	I _{Kr}	1.3	---	98	
verapamil	calcium antagonist	HERG/XO	I _{Kr}	3.8	---	122	
verapamil	calcium antagonist	IKs/COS	I _{Ks}	>10		42	
cromakalim	chromanol deriv	GP VM	I _{Kr}	>20	---	58	
cromakalim	chromanol deriv	IKs/COS	I _{Ks}	>10		85	
cromakalim	chromanol deriv	GP VM	I _{Ks}	>20		58	
amlodipine	dihydropyridine	AT-1	I _{Kr}	1	---	130	
amlodipine	dihydropyridine	AT-1	I _{Kr}	3		129	
nifedipine	dihydropyridine	HERG/HEK	I _{Kr}	>50	---	136	
nitrendipine	dihydropyridine	HERG/COS	I _{Kr}	>10	---	42	
nitrendipine	dihydropyridine	IKs/COS	I _{Ks}	>10		42	
nitrendipine	dihydropyridine	rat VM	I _{Na}	3		133	
indapamide	diuretic	GP VM	I _{Ks}	196		117	
hesperetin	flavonoid	HERG/XO	I _{Kr}	288.8	---	139	
morin	flavonoid	HERG/XO	I _{Kr}	111.4	---	139	
naringenin	flavonoid	HERK/HEK	I _{Kr}	36.5	---	139	13.8% @ 1 uM
naringenin	flavonoid	HERG/XO	I _{Kr}	102.3	---	139	
OPC-18790	inotrope	AT-1	I _{Kr}	0.96	---	129	
cocaine	local anesthetic	HERG/HEK	I _{Kr}	7.2	---	135	
buprenorphine	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	7.5	---	71	
codeine	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	> 300	---	71	
EDDP	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	>50	---	71	methadone metabolite
fentanyl	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	1.8	---	71	
LAAM	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	2.2	---	71	
meperidine	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	75	---	71	
methadone	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	9.8	---	71	
methadone	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	10	---	70	
morphine	opiate	HERG/HEK	I _{Kr}	> 1000	---	71	

Receptor Binding

cisapride	prokinetic	various	5HT ₄	0.023-0.031	0.5	89	
cisapride	prokinetic	HERG/HEK	I _{Kr}	0.0065	---	91	different lab
cisapride	prokinetic	rabbit VM	I _{Kr}	0.009	---	36	
cisapride	prokinetic	guinea-pig VM	I _{Kr}	0.015	---	48	
cisapride	prokinetic	HERG/CHO	I _{Kr}	0.016	---	123	at 20-22°C
cisapride	prokinetic	HERG/CHO	I _{Kr}	0.024	---	123	at 37°C
cisapride	prokinetic	HERG/HEK	I _{Kr}	0.044	---	95	
cisapride	prokinetic	HERG	I _{Kr}	0.044	---	76	at 32-37°C
cisapride	prokinetic		I _{Ks}	3.39		76	at 32-37°C
cisapride	prokinetic	guinea-pig VM	I _{Ks}	>10		48	
cisapride	prokinetic		I _{Kv1.5}	21.2		76	at 32-37°C
cisapride	prokinetic		I _{to}	9.33		76	at 32-37°C
ketanserin	serotonin antagonist	guinea-pig VM	I _{Kr}	>32	---	79	
ketanserin	serotonin antagonist	rabbit VM	I _{to}	2.25		78	
glibenclamide	sulfonylurea	neuroblastoma	I _{Kr}	74.8	---	99	
glibenclamide	sulfonylurea	GP VM	I _{Kr}	<100	---	99	

HTML generated 2/10/2006 11:04:52 AM by g:\source code\delphi 6\applications\webqt\newwebqt.exe

C. Rappels d'électrophysiologie

1. Propriétés électriques des membranes biologiques

Certains ions possèdent un nombre différent de protons et d'électrons, et se retrouvent chargés soit positivement (ions Na^+ , K^+ , Ca^{++} ... = cations), soit négativement (ion Cl^- = anion). L'électricité est créée par l'attraction de particules de charge opposée. L'accumulation de charges de manière inégale de part et d'autre d'un isolant génère une *différence de potentiel*. Ainsi, il existe une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane cellulaire des cardiomyocytes, car il existe plus d'anions à l'intérieur qu'à l'extérieur de la cellule. La traversée de la membrane par des ions crée un courant électrique.

Par définition, ce *courant* sera considéré comme positif s'il correspond à un mouvement de cations (Na^+) vers la cathode (secteur intracellulaire). Les courants ioniques correspondent à des mouvements de charge au travers de canaux ioniques hydrophiles enchâssés dans une double couche de phospholipides. Ces canaux ioniques sont eux-mêmes conceptualisés comme des résistances reliant les secteurs intra et extracellulaires.

Les *résistances* les plus simples sont celles dont le comportement est indépendant du temps et de la différence de potentiel. Elles suivent la *loi d'Ohm*:

$$I = U/R \text{ ou bien } I = GU$$

où I est le courant (unité: Ampère=A), U la différence de potentiel (unité: Volt=V), R la résistance (unité: Ohm = Ω), et G la conductance ($G = 1/R$, unité Siemens=S). La relation courant-potentiel est une fonction linéaire où la pente correspond à la conductance. Il est cependant fréquent que la résistance d'un conducteur varie en fonction de la polarité d'un courant qui le traverse. La propriété de certains conducteurs de laisser passer le courant principalement dans une direction est appelée rectification (**Figure 37**). Enfin l'amplitude du courant laissé passé par un conducteur en réponse à une différence de potentiel peut varier en fonction du temps. De nombreux courants ioniques cardiaques sont dépendants du voltage (rectifiants) et dépendants du temps.

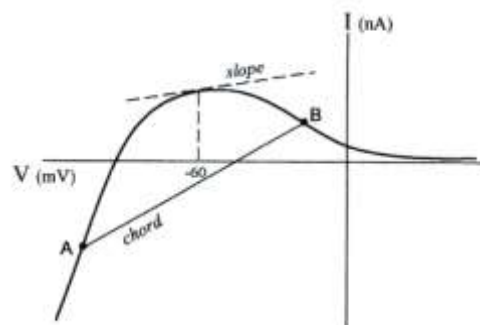


Figure 37. Courbe I/V représentant un courant rectifiant entrant (4).

Une *capacitance* est formée lorsque deux conducteurs sont séparés par une fine couche d'un matériau non-conducteur, permettant ainsi l'accumulation d'une différence de potentiel. Contrairement aux résistances, les capacitances répondent à une différence de potentiel par un courant transitoire, de charge lors de la mise sous tension, et de décharge lors de l'interruption de la tension. Ce courant peut être décrit par la loi suivante:

$$I_c = C \, dV/dt$$

où C est la capacitance et dV/dt la dérivée première de la différence de potentiel en fonction du temps. Donc, quand la différence de potentiel est stable, le courant de capacité est nul. La membrane cellulaire est une capacité, car la bicouche lipidique, très peu conductrice,

est entourée de deux milieux conducteurs, les secteurs intra et extracellulaires. L'amplitude du potentiel de membrane reflète le degré de différence de charge électrique de part et d'autre de la membrane. Les variations de cette différence de potentiel surviennent à la suite des mouvements d'ions à travers les canaux ioniques. Ces courants ioniques chargent et déchargent la capacitance membranaire en modifiant la répartition des charges électriques de part et d'autre de la membrane.

Compte tenu du fait que les canaux ioniques sont des protéines traversant la membrane, ils sont considérés comme des résistances en parallèle avec la capacitance membranaire. Le courant total (I_t) peut donc être décrit selon l'équation:

$$I_t = I_c + I_r = C \, dV/dt + U/R$$

Ainsi, lorsque l'on impose une différence de potentiel rectangulaire ("voltage-clamp") à travers une membrane, on observe un courant de capacité transitoire en début et en fin de "clamp", entre lesquels on peut enregistrer les courants véhiculés par les canaux ioniques.

2. Origine du potentiel de membrane

Le potentiel de membrane est électrochimique et son expression mathématique est basée sur l'équation de Nernst.

Le principe de base est de considérer la membrane cellulaire comme une membrane semi-perméable. La répartition d'un ion, par exemple le K^+ , s'effectue en fonction de la différence de concentration de cet ion et de la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane. L'équilibre sera obtenu lorsqu'il y aura égalité entre la force osmotique (dépendante des différences de concentration) et la force électrique (dépendante de la différence de potentiel). Cet équilibre est exprimé par l'équation de Nernst:

$$E_K = RT/F \ln [K_e]/[K_i]$$

où T est la température, R est la constante des gaz parfaits, F est la constante de Faraday, et $[K_e]/[K_i]$ sont les concentrations finales du K^+ dans les compartiments extracellulaire et intracellulaire. E_K est le potentiel d'équilibre pour le potassium (mesuré dans la cellule par rapport à l'extérieur), et correspond à la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane semi-perméable dans le cas d'une conductance potassique exclusive. En réalité, le potentiel de repos membranaire des cardiomyocytes est un peu moins négatif que le potentiel d'équilibre pour le potassium (≈ -90 mV). L'explication est donnée par le fait que le cardiomyocyte a une forte conductance au potassium mais aussi une faible conductance au sodium dont le potentiel d'équilibre est positif. Ainsi, le potentiel d'équilibre d'une cellule est le résultat d'un équilibre entre les différents potentiels d'équilibre des ions pour lesquels la membrane est perméable, et la conductivité dont la membrane dispose pour chacun de ces ions.

La *conductivité* des différents canaux ioniques varie pendant l'excitation cardiaque. Le potentiel d'action cardiaque est généré par des variations de conductance des différents canaux ioniques. Les courants ioniques sont fonction de la force électromotrice ("driving force"), de telle manière qu'ils s'annulent lorsque le potentiel de membrane rejoint le potentiel d'équilibre de l'ion:

$$I_x = (V_m - E_x) G_x$$

où $(V_m - E_x)$ et G_x représente la force électromotrice et la conductance pour l'ion x . Il est cependant important de noter que pour les canaux dépendant du temps et du voltage dépendant, la valeur de la conductance change constamment.

Les cellules cardiaques sont dites *excitables* car elles sont capables de générer un potentiel d'action à la suite d'une stimulation externe. Le "seuil de dépolarisation" est la valeur de potentiel liminaire que doit atteindre la membrane pour déclencher un potentiel d'action.

Le seuil de stimulation, exprimé en Volt ou en Ampère, est la valeur de potentiel ou de courant minimum du stimulus externe, qui va induire un potentiel d'action. L'excitabilité d'une cellule ou d'un tissu est d'autant plus forte que le seuil de stimulation est bas. Pour l'essentiel, l'excitabilité est déterminée par la disponibilité des courants entrants à dépolariser la cellule.

La *vitesse de dépolarisation* est estimée par la dérivée première des variations de potentiel en fonction du temps. La valeur maximale de ce paramètre, la $V_{\max}$ ou $dV/dt_{\max}$ (≈ 200 à 300 V/s, pour les cellules myocardiques), donne à la fois une bonne approximation de l'amplitude du courant entrant sodique et de la vitesse de propagation du potentiel d'action

La *période réfractaire* est une donnée caractéristique des cellules excitables. La période réfractaire correspond à la durée pendant laquelle une cellule excitable ne peut plus être réactivée, à partir du déclenchement d'un premier potentiel d'action. La récupération de l'excitabilité survient progressivement après un potentiel d'action. Le déclenchement d'un potentiel d'action démarre un intervalle de temps pendant lequel la cellule est inexcitable quelle que soit l'intensité du stimulus: il s'agit de la période réfractaire absolue, qui recouvre les phases 1 et 2 de la repolarisation. La cellule redevient ensuite excitable, mais au dépend d'une majoration de l'intensité du stimulus externe: il s'agit de la période réfractaire relative, qui couvre la phase 3 de la repolarisation et s'interrompt plusieurs millisecondes après la fin de la repolarisation (**figure 38**). La survenue d'une période réfractaire absolue est liée principalement à l'inactivation du courant sodique entrant pendant la repolarisation. Les courants potassiques sortants sont en partie responsables de la période réfractaire relative. En effet pendant la repolarisation, et au début de la diastole, le courant potassique retardé est activé, et s'oppose donc au courant sodique entrant. Ainsi, la durée de la période réfractaire relative est déterminée par l'équilibre entre la réactivation du courant dépolarisant et la désactivation du courant repolarisant.

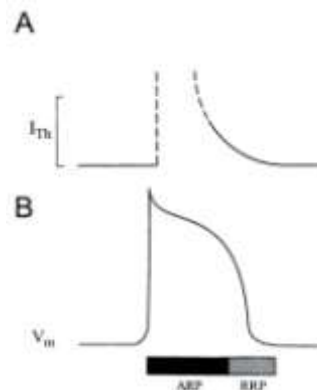


Figure 38. Période réfractaire. I_{th} est le courant seuil (threshold) permettant de déclencher un potentiel d'action. Entre le début du potentiel d'action et la fin de la phase de plateau, aucun autre potentiel d'action ne peut survenir (période réfractaire absolue). Pendant la phase 3 du potentiel d'action, un nouveau potentiel d'action peut être déclenché au prix d'une stimulation de plus grande intensité (4).

Dans les fibres de Purkinje, et parfois dans les cardiomyocytes, il existe une brève période de temps à la fin de la repolarisation pendant laquelle les cellules sont plus excitables que pendant la période de repos. Cette période d'excitabilité, qui succède à la période réfractaire relative, est dite *supernormale*. Elle est liée au moins en partie au fait que le courant sodique est en partie réactivé à la fin de la repolarisation alors que le seuil d'activation est proche de la norme. La période d'excitabilité supernormale va de pair avec une période de conduction supernormale, pendant laquelle un influx cardiaque conduit mieux qu'il ne le devrait, ou conduit alors qu'il devrait être bloqué (685).

La technique de "*voltage-clamp*" permet le contrôle du potentiel membranaire pendant une certaine durée et à une certaine valeur de potentiel. Cette technique permet donc d'étudier en détail les propriétés biophysiques des canaux unitaires. Le principe de base consiste à empaler une cellule avec 2 microélectrodes. La première électrode a pour charge de mesurer la différence de potentiel entre le potentiel membranaire et celui qu'on souhaite lui imposer. La deuxième électrode sert à "injecter" le courant nécessaire pour maintenir le potentiel au niveau souhaité. Le courant injecté correspond d'abord à un courant transitoire de capacitance, puis correspondra aux pertes de courant liées au canal ionique étudié.

Les premiers travaux en électrophysiologie ont utilisé des préparations de tissu cardiaque. Des progrès récents, concernant en particulier la technique de "single-electrode voltage-clamp" (ou technique de "patch-clamp"; "patch" signifie pièce, parcelle) et la technique d'isolement de cellules cardiaques, ont permis de réaliser des études électrophysiologiques sur une seule cellule, voire sur un seul canal ionique. Cette technique, dite du "*patch-clamp*" a valu le prix Nobel en 1991 à ses inventeurs, les Allemands Erwin Neher et Bert Sakmann (686). Plusieurs configurations de patch-clamp sont réalisables et comportent chacune des applications différentes dans l'étude des canaux ioniques.

Dans la configuration de patch cellule entière, l'activation du courant se rapporte à une augmentation de l'amplitude de courant lors de l'installation du clamp. L'inactivation correspond à la diminution de la conductance suivant l'activation, qui survient parfois en même temps que l'activation. La réactivation correspond au retour du canal ionique à un état où il peut à nouveau être activé. Enfin certains courants ne s'inactivent jamais pendant le clamp, et subissent donc une désactivation lors du retour du potentiel à sa valeur de départ ("holding potential").

3. Propagation de l'influx

Dépolarisation et repolarisation myocardiques sont des phénomènes intimement liés, et qui interagissent. L'étude de l'un suppose la compréhension de l'autre, et inversement. Quelles sont les principales lois qui régissent la transmission de l'influx cardiaque dans le cœur?

Toutes les cellules du tissu cardiaque sont connectées entre elles par des canaux à basse résistance, appelés "gap junctions". Ainsi, l'arrivée de courant dans une cellule non seulement change la polarité de la cellule en question, mais aussi tend à diffuser dans toutes les directions de telle manière à dépolariser les cellules voisines. Plus les cellules sont éloignées de la source du courant, et plus l'intensité initiale du courant est faible, plus les modifications de potentiel deviennent ténues. Cette conduction peut correspondre au cas où on appliquerait un courant infraliminaire (c'est-à-dire insuffisant pour générer un potentiel d'action cellulaire) à une fibre de Purkinje. Ce mode de conduction correspond à une *transmission électrotonique*, telle que l'on pourrait l'observer le long d'un câble passif.

La *théorie du câble* a été développée en 1855 par Lord Kelvin pour décrire les modifications de courant et de potentiel survenant le long d'un câble télégraphique transatlantique. Dans le cas le plus simple, cette théorie décrit les variations de potentiel le long d'une fibre continue, passive et d'une longueur infinie. La diminution du potentiel est une fonction exponentielle de la distance. Le diamètre de la fibre a aussi une grande importance sur les propriétés du câble. Dans le cas de juxtaposition de cellules, les résistances membranaires et intracellulaires augmentent lorsque le diamètre de la fibre se réduit. En d'autres termes, la longueur de "câble" influencée par un courant donné à partir d'un certain point est plus importante si le câble est plus épais. C'est, basé sur cette théorie, que Weidmann a abouti à la conclusion que la communication entre les cellules cardiaques était électrique et se comportait fonctionnellement comme un syncytium, bien avant la découverte des "gap junctions" (687).

Bien entendu, il existe de nombreuses limitations à cette théorie. Tout d'abord, la transmission entre les cellules du tissu cardiaque n'est pas parfaitement uniforme et continue: les vaisseaux, la fibrose éventuelle, la résistance des "gap junctions" qui est supérieure à celle de la membrane elle-même. Ensuite, si la nature unidimensionnelle de la transmission peut s'appliquer aux fibres de Purkinje, elle est difficilement applicable au tissu myocardique dans sa globalité. En effet, cette caractéristique suppose qu'il n'existe pas de perte de courant au sein du câble dans un axe transversal. Enfin, la propagation est supposée s'effectuer au travers de résistances Ohmiques placées en parallèle, ce qui ne s'applique pas vraiment à la propagation du potentiel d'action.

Lorsqu'un courant est suffisamment ample pour amener une cellule à son seuil de dépolarisation, celle-ci va se comporter comme la "*source*", et les cellules encore à leur potentiel de repos comme "*the sink*" (sink = évier, lavabo...donc réceptacle). L'ensemble des cellules vont être l'objet d'une conduction électrotonique, mais la cellule immédiatement juxtaposée va être soumise à un courant suffisant pour l'amener à son seuil de dépolarisation, et va devenir alors la nouvelle "source" du courant. La propagation de l'influx cardiaque se fait ainsi par le déplacement de la source du courant de cellule en cellule.

Le potentiel de repos d'une cellule cardiaque est principalement sous la dépendance d'une conductance potassique de base (I_{K1}). Lorsque la *charge de courant* est suffisante pour amener une cellule à son seuil de dépolarisation, cette dernière va être l'objet d'un courant entrant. À l'inverse, lorsque le seuil de dépolarisation n'est pas atteint sur les cellules contiguës, la membrane, dont le potentiel s'est éloigné de sa valeur de repos, va être l'objet d'un courant sortant repolarisant porté par la conductance potassique. Comme l'a décrit Rushton en 1937, c'est la résultante entre la "source" du courant, dépolarisante, et le courant sortant repolarisant, qui va déterminer la propagation d'un potentiel d'action, en fonction du niveau seuil de dépolarisation.

La propagation le long d'un câble est donc dépendante du rapport entre le courant disponible pour exciter les cellules et le courant dont ont besoin les cellules pour être excitées. Le *facteur de sécurité* est proportionnel à ce rapport. Les facteurs influençant la "source" comprennent la vitesse de dépolarisation (V_{max}), l'amplitude du courant, la durée du potentiel d'action. Les facteurs influençant "the sink" comprennent la résistance membranaire et intercellulaire, le seuil de dépolarisation, et la différence de potentiel entre le potentiel de repos et le niveau de potentiel dépolarisé. Le ralentissement de la conduction ou la survenue d'un bloc dépend de la diminution du facteur de sécurité. Ainsi, la présence d'une bifurcation peut donner lieu à une augmentation de la charge repolarisante, et à un bloc de la conduction.

Un facteur majeur contrôlant la vitesse de propagation de l'influx dans un *modèle bidimensionnel* est représenté par la courbure du front dépolarisant. Plus la courbure est marquée, plus la propagation du flux est lente. Ce concept a d'abord été évoqué à partir de modèles mathématiques dans les années 80, puis confirmé par des données expérimentales. Fast et Kléber (438), puis Cabo et coll. (688) ont clairement établi à partir de modèles *in vitro* et de modélisations mathématiques, que la vitesse de propagation était dépendante de la *courbure du front d'activation*: rapide si le front était concave, intermédiaire si le front était plan, lente si le front était convexe. Au-delà d'une convexité critique, la propagation s'interrompt. Cette notion de valeur critique dans un modèle bidimensionnel se rapproche de la notion de longueur critique dans le modèle unidimensionnel. Plus la courbure est large, plus le rapport entre la surface de la "source" et du "sink" est faible.

L'existence d'une *anisotropie* représente une caractéristique majeure de la structure du muscle cardiaque, du fait de la morphologie allongée des myocytes, de la distribution inégale des "gap junctions", et de l'orientation de bandes musculaires dans l'axe des cellules cardiaques. Ainsi, la progression du front d'activation sur un modèle bidimensionnel à partir d'une stimulation ponctuelle supraliminaire n'est pas circulaire mais ellipsoïde. La conduction est plus rapide dans le sens longitudinal des fibres que dans le sens transversal, jusqu'à donner

lieu parfois à un bloc de conduction dans le sens transversal des fibres, bloc qui peut être le point de départ de troubles du rythme comme un mouvement de réentrée.

Les conséquences de l'anisotropie sur les variations du facteur de sécurité de propagation font l'objet de controverse. Certaines études, tant *in vitro* (689) que des modélisations mathématiques, ont montré que, sur un modèle d'anisotropie bidimensionnelle, l'on pouvait s'attendre à une valeur de la dV/dt max plus importante dans le sens transversal que dans le sens longitudinal. Cette augmentation de la dV/dt max serait liée à une plus grande résistance du couplage cellulaire dans le sens transversal. Sachant que l'augmentation d'amplitude de la dV/dt max est un élément majorant le facteur de sécurité de propagation, on pourrait s'attendre en présence d'une augmentation globale des résistances intercellulaires, ou d'une diminution globale de la valeur de dV/dt max, à un bloc longitudinal et non transversal. Néanmoins la vulnérabilité du blocage longitudinal n'a pas été confirmée par les modélisations mathématiques et les données expérimentales (133).

Le myocarde est une structure *tridimensionnelle*. L'équipe de Ideker (690) a comparé la conduction épicardique et transmurale à partir de la chambre de chasse de ventricule droit de chien, en utilisant une stimulation épicardique ponctuelle. Si la propagation de l'influx se fait bien, comme prévu par les différents modèles, selon un schéma ellipsoïde, les ellipses formées sont asymétriques et présentent des pliures et des ondulations. De plus ces ellipses subissent une rotation anti-horaire progressive de l'épicarde vers l'endocarde. Cette rotation est moins importante que celle qui est attendue à partir de la rotation transmurale des faisceaux de fibres myocardiques (anisotropie transmurale). Ces données expérimentales ont été corroborées à des modèles mathématiques (691) qui ont retrouvé une rotation transmurale de 60° de l'axe principal de l'ellipse, alors que l'anisotropie transmurale "histologique" était de 120°.

4. Mécanisme de pénétration des ions

Les canaux ioniques représentent des zones de passage à travers lesquelles les ions traversent la membrane lipidique de manière purement passive. À l'inverse, les pompes sont dépendantes du métabolisme énergétique lié à l'ATP pour transférer les ions à travers la membrane cellulaire. Enfin, les échangeurs ne dépendent pas directement du métabolisme énergétique, mais utilisent le gradient électrochimique d'une catégorie d'ions pour transférer une deuxième catégorie d'ions à travers la membrane lipidique.

Les canaux ioniques sont caractérisés par deux propriétés fondamentales. La première est appelée en anglais "gating", et correspond aux phénomènes d'ouverture et de fermeture des portes intégrées dans les canaux ioniques. La deuxième est la sélectivité, c'est-à-dire la capacité d'un canal à autoriser le passage d'un type d'ion déterminé. La corrélation entre la structure des canaux et ces deux propriétés constituent un champ de recherche particulièrement actif.

Les canaux sont souvent classés selon le *mécanisme d'ouverture des portes* (5). Les canaux sont dits "voltage-dépendants" si leur ouverture (ou leur fermeture) est déclenchée par des modifications de potentiel membranaire. Les protéines canalaire chargées électriquement fonctionnent comme un récepteur sensible aux variations du potentiel de membrane. La stimulation du récepteur entraîne l'ouverture du canal et la diffusion de l'ion. C'est le cas des canaux sodique, calcique, et de certains canaux potassiques. D'autres canaux sont activés en présence d'un ligand intra ou extracellulaire (canaux récepteurs-dépendants), comme certains canaux potassiques rectifiants entrants, $I_{K_{Ach}}$ ou $I_{K_{ATP}}$. Le ligand se fixe sur le récepteur spécifique extramembranaire ce qui change sa configuration. La transduction du signal comporte 3 étapes. Le signal est d'abord préamplifié par le récepteur situé sur la face extracellulaire de la membrane. Le transducteur est représenté par une protéine G située dans la paroi membranaire. Cette protéine va assurer la stimulation (G_s) ou l'inhibition (G_i) des

enzymes membranaires. L'unité catalytique ou amplificatrice (ADC ou PLC) est située sur la face intracellulaire de la membrane. Enfin, les protéines des gap junctions semblent sensibles tant aux variations de potentiel, que à la présence de certains ligands.

Le phénomène de "gating" peut être imaginé comme un changement de conformation de la molécule protéique qui forme le canal. On peut considérer que le canal existe selon 3 conformations différentes: fermé, ouvert, inactivé. Les travaux de Hodgkin et Huxley dans les années 50 sur l'axone géant de calamar ont permis de jeter les bases du concept de "gating" à partir de l'activation du courant sodique. Hodgkin et Huxley ont supposé que l'ouverture du canal sodique était dépendante de l'ouverture de 3 portes situées sur la face extracellulaire de la membrane (portes "m"), et que sa fermeture était dépendante d'une porte située sur la face intracellulaire (porte "h"). Le positionnement de ces portes détermine l'état du canal (**Figure 39**). Ils ont également supposé que la vitesse d'ouverture et de fermeture des portes était plus rapide pour "m" que pour "h". Ils ont enfin calculé empiriquement les équations décrivant le courant sodique, mais aussi le courant potassique dans l'axone géant de calamar, avec pour ce dernier 4 portes "m" et aucune porte "h".

$$I_{Na} = m^3 h G_{Na} (E_m - E_{Na}) \text{ et } I_K = m^4 G_K (E_m - E_K)$$

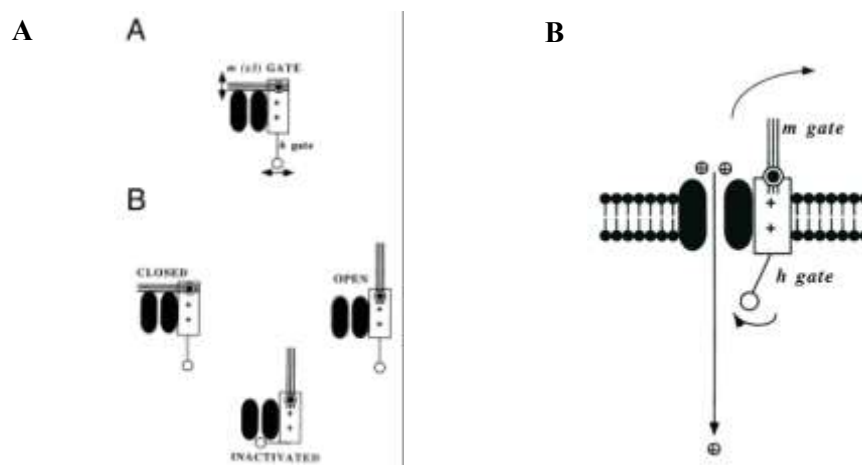


Figure 39. *A. Modèle basé sur le travail historique de Hodgkin et Huxley dans les années 50, expliquant l'ouverture des canaux ioniques de l'axone géant de calamar. Le modèle consiste en 3 activations de la porte « m » et une inactivation de la porte « h ». Les 3 états potentiels sont : fermé, ouvert, et inactivé (5). B. Compte tenu du fait que les portes m et h sont activées par la dépolarisation, le passage des ions est rendu possible par une ouverture de la porte m plus rapide que celle de la porte h.*

Les modifications de la configuration stérique de la molécule peuvent être en partie responsables de la sélectivité des canaux ioniques. Par exemple, l'ouverture externe du canal potassique est supposée être de l'ordre de $0,3 \times 0,3 \text{ \AA}$, de telle manière que les ions trop encombrants ne peuvent pénétrer dans le canal. Il est cependant certain que ce mécanisme n'est pas exclusif, puisque les ions les plus petits ne peuvent pénétrer dans tous les canaux.

D. Structure moléculaire des canaux ioniques

Pendant de nombreuses années, les électrophysiologistes ont étudié les courants ioniques en imaginant la structure moléculaire des canaux. Grâce aux progrès réalisés dans le domaine du génie génétique ("genetic engineering"), il est devenu possible de réaliser des "clones" d'un gène codant pour une protéine, d'en manipuler l'ADN. La réexpression de l'ADNc au sein d'un système d'expression hétérologue, tels que l'ovocyte de xénope ou des lignées de cellules de

mammifères, permet ensuite de caractériser la protéine tant sur le plan électrophysiologique que biochimique. L'échafaudage de modèles physiques a été confirmé par cristallisation, en particulier concernant les canaux potassiques. Un prix Nobel est venu récompenser MacKinnon pour ces travaux (692).

1. Sodique et Calcique

La première description de la structure primaire d'un canal ionique a été effectuée en 1984 à propos du canal sodique voltage-dépendant. L'architecture supposée du canal en a été ensuite déduite. La sous-unité α du canal sodique appartient à la "superfamille S4" des gènes codant pour des canaux voltage-dépendants. Bien qu'un grand nombre de sous-unités α aient été identifiées jusqu'à présent, la sous-unité $\text{Na}_v 1.5$ (SCN5A) est de loin la plus exprimée dans le myocarde ventriculaire de mammifère. Des expériences de mutagenèse dirigée ont permis de révéler le rôle clef de certaines structures (143). La sous-unité α est composée de 4 régions homologues, appelées domaines (I à IV), reliés par des liaisons covalentes, et agencées de telle manière que se constitue une zone de passage pour les ions au milieu de la protéine. Chaque domaine est constitué de 6 segments transmembranaires (S1 à S6) de structure α hélicoïdale. Chacune des 4 régions situées entre les segments S5 et S6, et appelée "P", se regroupe pour former le pore du canal. Les segments S1 et S3, chargés négativement, et le segment S2, chargé négativement et positivement, de chacun des 4 domaines, entourent la région centrale de passage des ions. Les segments hydrophobes S5 et S6 constituent les murs intérieurs du pore du canal, ainsi que les vestibules interne et externe du canal en contact avec la bicouche lipidique constituant la membrane. Le segment S4 a une composition originale liée à la répétition de charges positives et de résidus hydrophobes s'entourant en spirale autour du segment. Ce segment est un détecteur des variations de potentiel membranaire, correspondant à la porte "m". La porte "h" correspond probablement au court segment reliant S6 du domaine III et S1 du domaine IV. Cette zone pourrait faire office de "couvercle à charnière" en obstruant l'orifice intracellulaire du canal. Les extrémités N- et C-terminales des sous-unités α sont intracytoplasmiques. La sous-unité β module les propriétés de la sous-unité α . Selon l'origine du tissu, la protéine canalaire sodique est composée d'une sous-unité α de 206-280 kd associée avec 0, 1, ou 2 sous-unités β . Ces sous-unités α et β sont glycosylées de manière variable selon l'origine tissulaire. Le rôle de ces sous-unités reste controversé au niveau cardiaque, mais il semble, que la co-expression des sous-unités α et β accélère l'activation et l'inactivation, et influence aussi la voltage-dépendance du canal (14).

Des mutations sur SCN5A, un gène situé sur le chromosome 3 et codant pour le canal sodique ($\text{Na}_v 1.5$), peut être responsable de la forme 3 du syndrome du QT long. Dans ce cas, les mutations impliquées entraînent un gain de fonction du canal sodique (interruption de l'inactivation), donc une augmentation de l'intensité du courant dépolarisant, caractérisé par une ouverture prolongée du canal sodique et le maintien d'un courant dépolarisant, et un allongement de la repolarisation ventriculaire (693). Ce même canal est impliqué dans d'autres maladies cardio-vasculaires comme le syndrome de Brugada et la maladie de Lenègre (bloc auriculo-ventriculaire chronique progressif). Plusieurs études ont révélé le rôle important de l'extrémité C-terminale de la sous-unité α de ce canal dans le contrôle de l'inactivation. Certaines mutations ponctuelles dans la partie C-terminale de SCN5A peuvent entraîner un décalage ("shift") dans la courbe d'inactivation, une prolongation de l'activité du canal, une modification de la cinétique de récupération de l'inactivation, et une modification des interactions pharmacologiques (694). Il existe vraisemblablement une interaction entre la région structurée de l'extrémité C-terminale et d'autres composantes de la protéine. Ces interactions donnent lieu à un blocage du pore du canal dans un état d'inactivation pendant la dépolarisation membranaire. Certaines mutations, liées à la forme 3 du syndrome du QT long, et allongeant la repolarisation, ne donnent pas lieu à une augmentation du courant entrant

sodique par le même mécanisme. La première, D1790G, initialement découverte dans une famille Israélienne (695), aboutirait, selon des modélisations mathématiques, à un allongement de la repolarisation par l'intermédiaire d'un effet indirect sur le contrôle de la concentration intracytoplasmique de calcium (696). Une autre, E1295K (697), modifierait l'équilibre entre le courant de fenêtre et les autres courants repolarisants, et aboutirait ainsi également à une prolongation de la repolarisation.

La sous-unité α formant le pore du canal calcique cardiaque appartient également à la superfamille S4 des canaux voltage-dépendants. Le canal calcique est constitué d'une sous-unité α_1 (212 à 273 kd) organisée de manière identique à la sous-unité α du canal sodique, ainsi que des sous-unités régulatrices, β , et $\alpha_2\delta$. Il existe trois types de courants cardiaques: un type T (Ca_v 3.1), un type L de bas seuil (Ca_v 1.3), un type L de haut seuil (Ca_v 1.2), ce dernier étant responsable du couplage excitation-contraction. Le syndrome de Timothy, étiqueté LQT8, associe des désordres multi-viscéraux et un allongement de l'intervalle QT. Ce syndrome est lié à un gain de fonction en rapport avec une mutation sur Ca_v 1.2, donc à une augmentation de courant entrant calcique (698).

2. Potassique

Sur le plan structurel, on différencie les canaux potassiques du type I_K ou I_{to} d'une part, et d'autre part du type I_{K1} .

a) Sous-unité α

L'étude structurelle des canaux potassiques a progressé récemment, et de manière fortuite, à partir du mutant d'une mouche appelée "*drosophila melanogaster*", et dénommé "shaker" (to shake = agiter) du fait d'une agitation anormale des pattes de la mouche en présence d'éther. Cette mouche mutante présentait des anomalies du potentiel d'action et de la transmission neuromusculaire, que l'on rapportera ensuite à une anomalie du gène codant pour un canal potassique, dans une zone identifiée comme le "shaker locus". Le clonage de ce locus révélera des similarités importantes avec les sous-unités principales des canaux sodique et calcique, alors que l'expression du produit de ce gène donnera lieu à un courant potassique. Par homologie de séquence avec le "shaker gene", une grande variété de canaux potassiques ont été clonés depuis lors.

Contrairement aux canaux sodique et calcique, les 4 sous-unités α constituant probablement la structure du canal ne sont pas reliées par des liaisons covalentes. Chaque unité du tétramère potassique correspond donc à un domaine d'une sous-unité α . Les segments S4 et la région du pore ont la même fonction que pour les canaux sodique et calcique, ce qui permet de classer également les sous-unités α des canaux potassiques dans la superfamille S4. Par contre, l'inactivation du canal se fait par l'obstruction de la bouche intracellulaire grâce à l'extrémité N-terminale de la protéine qui agirait un peu comme un bilboquet ("ball and chain"). Les canaux potassiques pourraient cependant être inactivés par un deuxième mécanisme utilisant l'extrémité C-terminale de la protéine au niveau de l'orifice extracellulaire du canal.

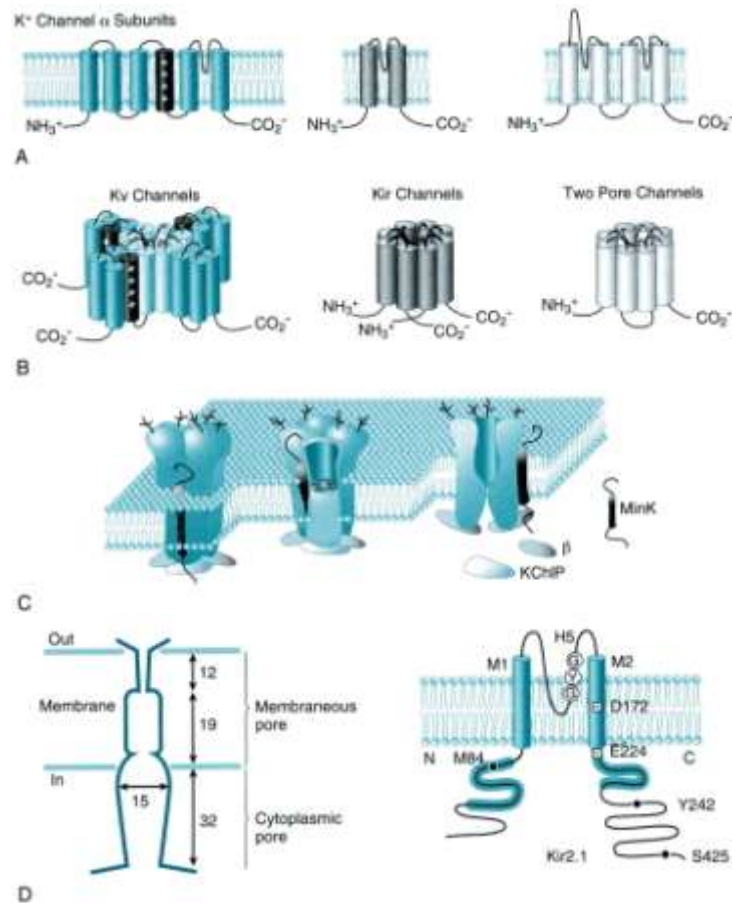


Figure 40. Composition moléculaire des canaux potassiques (11). A. Sous-unités α de type K_v , K_{ir} , et double pore. B. Assemblage des sous-unités pour former des canaux. C. Canaux et sous-unités régulatrices. D. Canal $K_{ir} 2.1$ schématisé sur la droite et géométrie générale d'un chenal au sein d'un canal de type $K_{ir} 2.x$ selon le modèle de Nishid et coll. 2002 (11).

Il existe une grande diversité de sous-unités de type $K_v\alpha$. Plusieurs sous-familles de sous-unités α , $K_v1.x$, $K_v2.x$, $K_v3.x$, $K_v4.x$, ont été identifiées, et un bon nombre sont exprimés dans le myocarde ventriculaire de mammifère. Ainsi, chez l'homme, $K_v4.3$ produit I_{to,f}, alors que ce courant est produit chez le rongeur par $K_v4.3$ et $K_v4.2$. Par ailleurs, la diversité fonctionnelle des canaux potassiques est renforcée par la possibilité d'épissage alternatif sur les transcrits, ainsi que par la formation d'un canal potassique hétéromultimérique (et non-homomultimérique) à partir de deux, au moins, sous-unités $K_v\alpha$ d'une même sous-famille (141). L'expression hétérologue des sous-unités α $K_v5.x$ - $K_v6.x$ et $K_v8.x$ - $K_v9.x$ ne donne lieu à aucun canal potassique fonctionnel. Par contre, la co-injection de ces sous-unités avec $K_v2.x$ (Shab) atténue l'amplitude du courant induit par $K_v2.x$, laissant entendre qu'elles pourraient se comporter comme des sous-unités régulatrices (699).

Une autre sous-famille de sous-unité α potassique voltage-dépendant a pu être mise en évidence par le clonage du locus ether-a-gogo (eag) de la drosophile (700). Par screening homologue, on a pu ensuite identifier un "Human Ether-a-gogo Related Gene" (HERG) (701), dont les mutations peuvent aboutir à la forme 2 du syndrome du QT long (74). KCNH2, le gène codant HERG ($K_v11.1$), est fortement exprimé dans le cerveau, un peu moins dans le cœur, les testicules et le poumon, et encore moins dans le muscle squelettique, la glande surrénale, et le thymus (702). L'expression de HERG (human ERG1) dans l'oocyte de

xénope génère un courant potassique voltage-dépendant et rectifiant entrant, en raison d'une inactivation rapide et dépendante du voltage du canal, dont les propriétés sont identiques au courant I_{Kr} (84, 703). Des gènes *ERG2* et *ERG3* ont également été identifiés, mais semblent être spécifiques du système nerveux central, et ne sont pas exprimés dans le cœur de mammifère.

Enfin, une sous-famille de sous-unité α potassiques voltage-dépendant a pu être mise en évidence par le clonage de *KvLQT1* (75) dont les mutations peuvent aboutir à la forme 1 du syndrome du QT long. L'expression de *KvLQT1* (*Kv7.1*) (*KCNQ1*) produit un courant potassique dont l'activation est rapide et qui ne s'inactive pas. Par contre la co-expression de *KvLQT1* avec *minK* (I_{sK}) produit un courant potassique dont l'activation est lente, et qui ressemble à la composante lente du courant potassique rectifiant entrant, I_{Ks} (704, 705). D'autres membres de la sous-famille *KCNQ*, *KCNQ2* à *KCNQ5* ont été identifiés, mais ne sont pas exprimés dans le cœur. Des mutations sur ces deux gènes ont été associées à une maladie neurologique, la convulsion néonatale familiale bénigne.

b) *Sous-unités régulatrices*

Plusieurs sous-unités régulatrices des canaux potassiques voltage-dépendants ont été identifiées. La première d'entre elles, *minK* (ou I_{sK}), code pour une petite protéine (130 acides aminés) et comporte un seul domaine transmembranaire (706). L'expression de *minK* dans un système hétérologue ne produit pas de canal potassique fonctionnel voltage-dépendant (704), mais le co-assemblage de I_{sK} avec *KvLQT1* génère un canal fonctionnel reproduisant I_{Ks} (705). D'autres sous-unités homologues à *minK* ont été identifiées: *MiRP1* (*KCNE2*), *MiRP2* (*KCNE3*), *MiRP3* (*KCNE4*). Il a été suggéré que *MiRP1* représente la sous-unité régulatrice de *ERG1* pour produire le courant I_{Kr} (540). Cependant, la contribution des différents membres de la sous-famille *KCNE* à la genèse des courants K^+ voltage-dépendants cardiaques, en particulier I_{Kr} , n'est pas parfaitement claire. Il est également possible que les différents membres de cette sous-famille puissent s'assembler avec différentes sous-unités de type *Kv* α , non seulement au niveau du myocarde, mais aussi au niveau du muscle strié squelettique (707).

Certains membres d'une autre sous-famille de sous-unités régulatrices, *Kv* β , sont également exprimés dans le cœur (708). Les sous-unités *Kv* β interagissent avec le domaine intracellulaire des sous-unités *Kv* α et modifient les propriétés fonctionnelles et l'expression cellulaire de surface de ces sous-unités *Kv* α . Les sous-unités *Kv* α et β co-assemblent dans le réticulum endoplasmique, et il est possible que les sous-unités *Kv* β aient un rôle dans l'assemblage des protéines, leur transfert à la membrane, ou leur stabilité. La régulation de *Kv4.3* est réalisée par une sous-unité auxiliaire, *KCHIP2*, dont le rôle varie selon les espèces. Chez l'homme, contrairement à la souris, il semble que le gradient transmural de I_{to} ne soit pas lié à un gradient d'expression de *Kv4.3*, mais à une expression plus forte de *KCHIP2* dans le myocarde sous-épicaire que dans le myocarde sous-endocardique (709).

c) *Apport des souris transgéniques*

La transgénèse chez la souris est une technique qui s'est considérablement développée ces dernières années. Cette technique s'additionne à celle déjà existante pour mieux comprendre le lien entre d'une part les gènes et leur expression, et d'autre part les courants ioniques. Le courant ionique "visé" se trouve ainsi "disséqué génétiquement".

Le courant $I_{to,f}$ est supprimé des myocytes ventriculaires des souris transgéniques exprimant le mutant dominant négatif de *Kv4.2* (710). Il est vraisemblable que *Kv4.2* et *Kv4.3* s'associent pour former un hétéromère responsable de $I_{to,f}$ chez la souris. Compte tenu de la similitude des propriétés de $I_{to,f}$ dans les différentes espèces, il est raisonnable de penser que les sous-unités *Kv4* (α) (*Kv4.3* chez l'homme (711)) sont responsables de $I_{to,f}$ dans plusieurs

espèces. De manière semblable, on peut démontrer la responsabilité de Kv1.4 dans le courant $I_{to,s}$ chez la souris (712). Il est intéressant d'observer que Kv1.4 (et $I_{to,s}$) est surexprimé chez les souris Kv4.2-/-, suggérant un remodelage électrique. Le rôle des sous-unités Kv1 α dans la genèse du courant potassique ventriculaire $I_{K,slow}$ (courant ventriculaire qui n'existe pas chez l'homme) est soutenu par la diminution d'intensité de ce courant chez les souris fonctionnellement invalidées par une sous-unité Kv1.1 tronquée (et fonctionnant comme un dominant négatif de Kv1.5) (713). La responsabilité de Kv2.1 dans ce courant a été démontrée de manière semblable (714).

d) Autres courants

La sous-famille Kir (K inward rectifier) code pour un grand nombre de canaux potassiques rectifiants entrants dont chaque sous-unité α est constituée de deux segments transmembranaires. Le canal est constitué d'un tétramère au sein duquel le pore est sélectif au K^+ . À partir d'expériences basées sur l'expression dans des systèmes hétérologues, on a pu démontrer que les sous-unités Kir2 α constituaient le substrat du courant rectifiant entrant I_{K1} (715). Ces informations ont été renforcées par les résultats obtenus avec les souris transgéniques invalidées pour Kir2.1 (KCNJ2, syndrome d'Andersen) ou Kir2.2 (KCNJ12) (465, 470). Dans le cœur, les canaux I_{KATP} sont impliqués dans l'ischémie myocardique et le pré-conditionnement (716). Des expériences de réexpression dans des systèmes hétérologues ont permis de suggérer la responsabilité de Kir6.2 et SUR2A (protéine codant pour des récepteurs sulfonylurés) (717). Là encore la responsabilité de Kir6.2 a été renforcée par la disparition du courant chez les souris transgéniques invalidées pour ce gène (718).

Un nouveau type de sous-unité α potassique, les K_{2P} , comportant 4 segments transmembranaires et 2 domaines-pores a récemment été identifié. Les canaux fonctionnels sont constitués de 2 sous-unités α et d'un seul pore sélectif aux ions K^+ . Le rôle de ces canaux, dont certains sont exprimés dans le cœur, n'est pas totalement élucidé. $K_{2P} 1$ est le premier canal cloné de cette famille. Ce canal que l'on pensait présenter une légère rectification entrante (TWIK-1), est plus probablement un courant de fond chez l'homme. Une seconde famille, comportant $K_{2P} 3$, (antérieurement TASK-1), est exprimé dans le cœur, et présente une sensibilité aux variations de pH. Les courants générés par $K_{2P} 2$ et $K_{2P} 3$ ont des caractéristiques proches du courant I_{Kp} , qui a été identifié dans les myocytes ventriculaires de cobaye (642).

E. Système nerveux autonome

1. Rappel anatomique

Le système nerveux autonome est activé principalement par les centres localisés dans la moelle épinière, le tronc cérébral, et l'hypothalamus. Certaines parties du cortex cérébral, en particulier le système limbique, transmettent aussi des signaux aux centres inférieurs, et de ce fait, participent au contrôle du système nerveux autonome (2). Les signaux sensoriels issus d'un viscère, par exemple le cœur, utilisent les voies afférentes pour rejoindre les centres activateurs, qui en retour envoient des réponses réflexes par les voies efférentes. Ces voies efférentes sont représentées par deux sous-systèmes majeurs appelés systèmes sympathique et parasympathique. Au niveau cardiaque, on distingue le système nerveux extrinsèque et intrinsèque. Le système nerveux extrinsèque correspond à l'ensemble des structures nerveuses (nerfs et ganglions) qui véhiculent les informations entre d'une part le système nerveux central et la moelle épinière, et d'autre part le cœur. Le système nerveux cardiaque intrinsèque correspond quant à lui aux fibres nerveuses et ganglions qui ont traversé le hile cardiaque, et qui se trouvent donc au contact direct de l'organe. Un concept relativement récent, développé

par Armour, présente le système nerveux cardiaque intrinsèque comme étant en mesure de gérer des informations de manière indépendante du système nerveux central, et en dehors des boucles réflexes classiques empruntant la moelle épinière et le tronc cérébral. Ce concept a abouti d'un "functional heart brain" (719).

Les fibres *sympathiques* sont issues de la moelle épinière au niveau des segments médullaires dorsaux D1 à L2, puis font relais dans les ganglions de la chaîne sympathique avant d'innervier les organes cibles (**Figures 41 et 42**). Les fibres sympathiques cardiaques sont principalement issues des segments D2, D3, D4, D5, et D6 de la moelle épinière, en suivant non pas la segmentation corporelle des nerfs spinaux, mais l'origine embryonnaire des organes. Chaque fibre sympathique, depuis son origine à l'effecteur, est composée de deux neurones, un neurone préganglionnaire et un neurone postganglionnaire. Le corps cellulaire du neurone préganglionnaire est situé dans la corne intermédiolatérale de la moelle épinière, et la fibre émerge par la racine antérieure de la moelle dans le nerf spinal correspondant. Immédiatement après l'émergence du nerf spinal du canal rachidien, le neurone sympathique préganglionnaire quitte ce nerf par le rameau blanc, et pénètre dans le ganglion de la chaîne sympathique. Le devenir de ce neurone est ensuite variable. Il peut faire synapse avec le neurone postganglionnaire dans le ganglion, ou traverser le ganglion et faire relais dans un autre ganglion de la chaîne, ou encore traverser le ganglion et cheminer vers un autre nerf sympathique pour faire synapse dans un autre ganglion périphérique. Ces ganglions donnent lieu à des nerfs cardiaques, qui se joignent aux ramifications cardiaques du nerf vague (X^{ème} paire crânienne), et forment les plexus cardiaques, dont les branches innervent le cœur. Signalons que les fibres nerveuses sympathiques destinées à la médullosurrénale ne font relais qu'au sein de cette glande avec les cellules sécrétrices d'adrénaline et de noradrénaline, qui sont elles-mêmes des cellules dérivées embryonnaires du tissu nerveux, et donc représentent les neurones postganglionnaires. Les fibres parasympathiques quittent le système nerveux central par les paires crâniennes III, VII, IX et X, et émergent également de la partie sacrée de la moelle épinière. Les fibres à destinée cardiaque empruntent la X^{ème} paire crânienne, ou nerfs vagues. Dans la grande majorité, les fibres préganglionnaires se dirigent directement vers l'organe qu'elles contrôlent, le relais postganglionnaire étant situé dans la paroi de l'organe cible. Elles donnent des connections synaptiques avec les cellules ganglionnaires des plexus cardiaques ou des ganglions intracardiaques (720). Les fibres postganglionnaires sont donc courtes, de quelques millimètres à quelques centimètres.

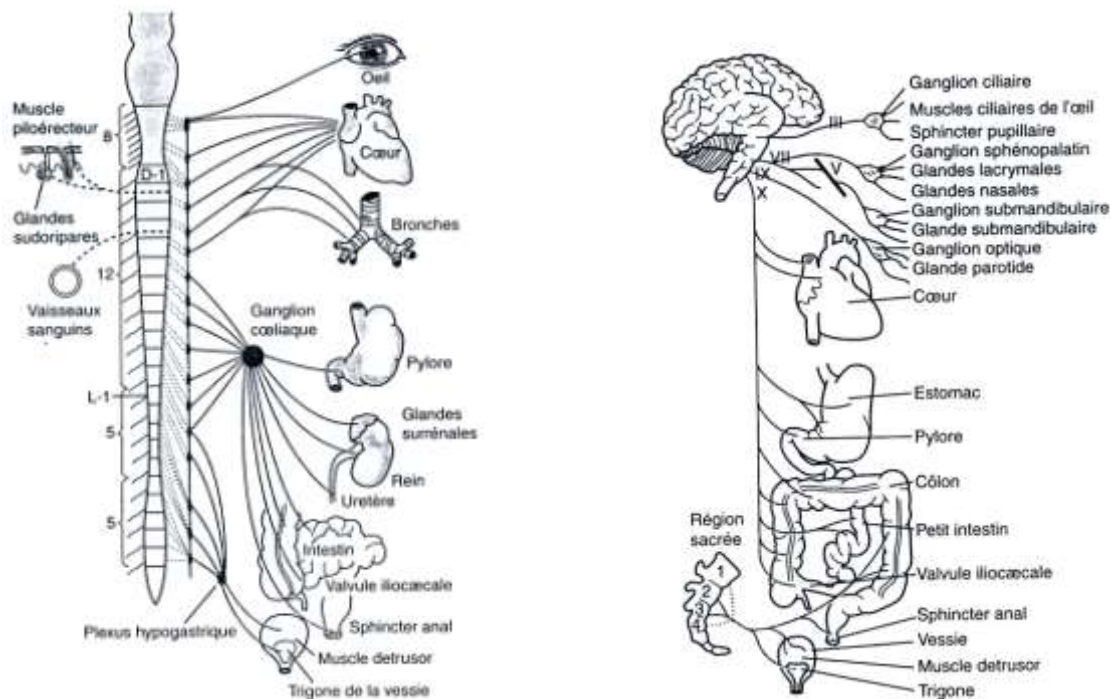


Figure 41. Schématisation du système nerveux autonome (2).

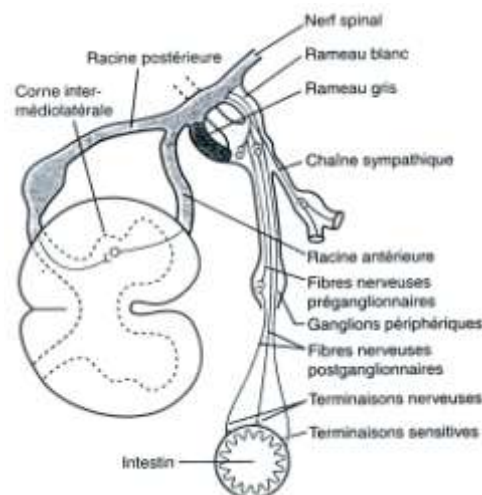


Figure 42. Schématisation du système nerveux autonome (2).

Bien que les premières études anatomiques datent du XVI^{ème} siècle (Andreas Vesalius, 1514-1564) (cité dans (721)), la description des nerfs et des ganglions cardiaques ne fait pas l'unanimité. L'article le plus récent relatant de l'anatomie du *système nerveux cardiaque extrinsèque* date de 1986 (721) et représente la dissection de 23 cadavres. Janes et coll. indiquent que tous les nerfs cardiaques sympathiques (3 à droite, et 3 à gauche: dorso-médian, dorso-latéral, et stellaire) proviennent du ganglion stellaire (ganglion le plus crânial de la chaîne sympathique thoracique) et de la moitié inférieure de la chaîne sympathique cervicale (au dessous du cartilage cricoïde), pour rejoindre les nerfs parasympathiques issus des nerfs vague et laryngé, en dessous du niveau de chaque nerf récurrent respectif. Aucun des nerfs

cardiaques ne provient de la moitié supérieure de la chaîne cervicale sympathique, ou du ganglion cervical supérieur, ou de la chaîne thoracique sympathique en dessous du ganglion stellaire. L'interconnexion entre les nerfs sympathiques et parasympathiques, droits et gauches, aboutit à la formation de plexus nerveux en avant et en arrière du tronc de l'artère pulmonaire. À partir de ces plexus, émergent 3 nerfs cardiaques principaux (coronaire gauche, coronaire droit, et latéral gauche), ainsi qu'un certain nombre de rameaux nerveux plus ténus qui innervent le cœur. Les données concernant les plexus, ainsi que les nerfs qui en émergent, font cependant l'objet d'une littérature contradictoire, et ont été étudiés plus en détail récemment par la même équipe.

L'anatomie des plexus cardiaques et des ganglions épicaudiques, encore appelés globalement le *système nerveux cardiaque intrinsèque*, fait aussi l'objet de débats. Les premiers travaux utilisant des techniques de microdissection datent de la fin du XVIII^{ème} siècle (Andersch 1792 et Scarpa 1794, cités dans (29)). Bien que des travaux importants aient été effectués par Worobiew (1925, 1928, et 1958, également cité dans (29)), puis Singh et coll. (722) et Armour et coll. (723), l'étude la plus complète et effectuée sur le plus grand nombre de cœurs (n=21) a été récemment publiée par Pauza et coll. (29). L'innervation cardiaque intrinsèque est décrite ici comme des plexus organisés en réseau par un système de maillage, et projetant vers telle ou telle région du cœur une arborisation de fibres permettant l'innervation. Il apparaît ainsi qu'il existe chez l'homme une innervation cardiaque épicaudique riche tant au niveau des oreillettes que des ventricules, contenant de nombreux ganglions, et qui forment 7 plexus localisés à différents sites du hile cardiaque: le plexus coronaire droit et coronaire gauche (entre l'aorte et le tronc pulmonaire à l'origine des troncs coronaires), atrial droit ventral (en avant de la veine cave supérieure), atrial gauche ventral (en avant de la veine pulmonaire supérieure droite), dorsal gauche (en avant, et sur la paroi latérale gauche de la veine pulmonaire supérieure gauche), dorsal médian (entre les veines pulmonaires supérieures droites et gauches), atrial droit dorsal (entre la veine cave supérieure et la veine pulmonaire supérieure droite) (**Figure 23**). Ces plexus sont dans des zones graisseuses appelées "fat pad", et sont composés par des nerfs préganglionnaires, des ganglions, et des nerfs postganglionnaires. Ils sont interconnectés grâce à des filets nerveux dépourvus de ganglions. L'oreillette droite est innervée par 2 plexus, l'oreillette gauche par 3, le ventricule droit par 1, et le ventricule gauche par 2. La topographie de ces plexus semble invariable, mais la densité de ganglions et l'épaisseur de ces plexus est variable d'un individu à l'autre, diminuant globalement avec le vieillissement. Enfin, les données immuno-histochimiques de cette étude laissent entendre que le réseau nerveux endocardique est principalement sensitif, alors que le réseau nerveux épicaudique est mixte, comportant à la fois des fibres afférentes et efférentes, contrairement à l'hypothèse développée principalement par Martins et Zipes (724) qui propose une répartition faite de fibres sympathiques épicaudiques et de fibres parasympathiques endocardiques. Cette étude s'oppose également à des données plus classiques, et pourtant reprises dans des ouvrages récents où l'on écrit: " Les nerfs sympathiques sont répartis sur la presque totalité des couches épicaudiques superficielles, et pénètrent dans le myocarde le long des axes artériels coronaires. Ils sont localisés principalement autour des vaisseaux sanguins et entre les myocytes, parallèlement à leur grand axe (720)".

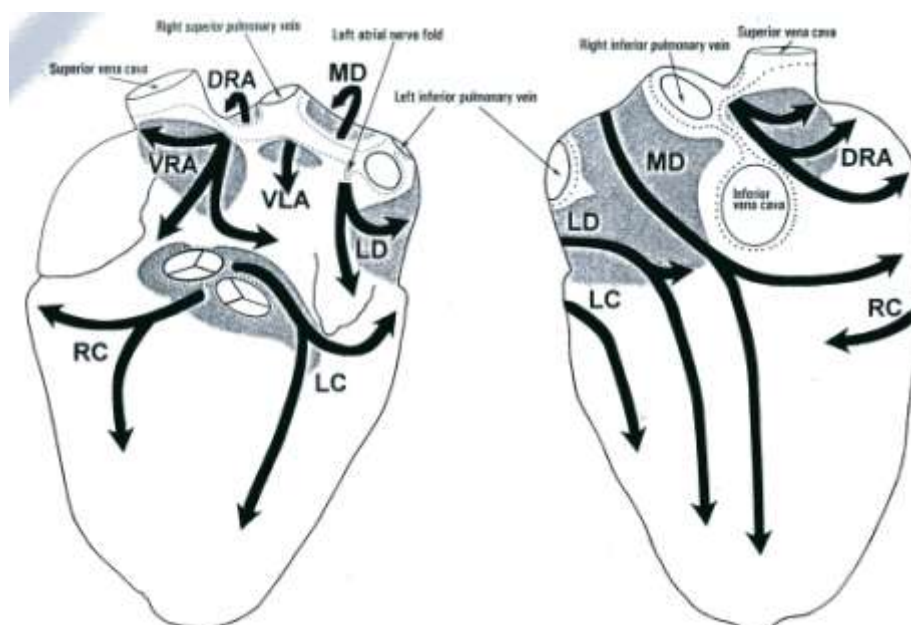


Figure 43. Représentation des sept plexi ganglionnaires épicaudiques selon Pauza et coll. (29). À gauche, vue ventrale; à droite, vue dorsale. Les régions les plus denses sont grisées. Les pointillés indiquent les limites du hile cardiaque.

Comme les autres nerfs périphériques, les nerfs cardiaques comportent à la fois des fibres myélinisées et non-myélinisées. En utilisant des méthodes immuno-histochimiques, Marron et coll. ont démontré que toutes les terminaisons nerveuses (voies afférentes) épicaudiques étaient de nature sympathiques (immunomarquage par la tyrosine hydroxylase), ainsi que la majorité des terminaisons endocardiques. Les terminaisons parasympathiques (immunomarquage par l'acétylcholinestérase) sont absentes de l'épicaud, et représentent 5% des terminaisons endocardiques. Par contre, elles représentent la majorité des terminaisons nerveuses du tissu nodal et du tissu de conduction (60% à 70%) (725). Ces données indiquent que les fibres nerveuses, répandues largement tant au niveau supraventriculaire que ventriculaire, comportent, une prédominance de fibres sympathiques.

2. Rappel physiologique

Le système nerveux autonome module les fonctions cardiaques de manière importante. La stimulation des fibres nerveuses sympathiques ou parasympathiques entraîne le largage de neurotransmetteurs au niveau des terminaisons nerveuses, respectivement de l'épinéphrine et de l'acétylcholine. Tous les neurones préganglionnaires sont cholinergiques, ainsi que la quasi-totalité des neurones postganglionnaires parasympathiques cardiaques. Les neurones postganglionnaires sympathiques cardiaques sont pour la plupart adrénérgiques. Les fibres nerveuses postganglionnaires sympathiques ou parasympathiques sont le siège d'un élargissement formant une varicosité qui sert de réservoir au neurotransmetteur dont la libération est provoquée par un potentiel d'action véhiculé par la fibre nerveuse. L'acétylcholine libérée par la terminaison nerveuse est catabolisée après quelques secondes par l'acétylcholinestérase. La noradrénaline sécrétée par les terminaisons nerveuses reste également active quelques secondes puis est éliminée principalement par recaptage actif, et, à un moindre degré, catabolisée (monoamine-oxydase). Par contre l'adrénaline sécrétée par la médullosurrénale (80% de la noradrénaline surrénalienne est méthylée en adrénaline) reste

active jusqu'à son catabolisme hépatique, donc une trentaine de secondes après sa libération, suivi par une décroissance de plusieurs minutes (2).

Le neurotransmetteur se lie avec un récepteur spécifique au niveau de la face extracellulaire de la membrane. L'acétylcholine active principalement deux types de récepteurs, les récepteurs muscariniques et nicotiniques. Les récepteurs muscariniques sont situés sur toutes les cellules effectrices postganglionnaires alors que les récepteurs nicotiniques sont situés au niveau des synapses entre les fibres pré- et postganglionnaires.

Les récepteurs adrénergiques sont soit de type alpha, soit de type bêta. La noradrénaline stimule préférentiellement les récepteurs alpha, alors que l'adrénaline stimule les deux familles de récepteurs de façon indépendante (2). Trois sous-types de récepteurs β ont été clonés. Dans le tissu cardiaque humain, les récepteurs β_1 sont majoritaires (80%). Dans les conditions normales, les actions inotrope, chronotrope, et lusotrope positives des catécholamines peuvent être à l'effet sur les récepteurs β_1 qui déclenche une cascade d'événements comportant l'activation d'un 2^{ème} messager. La formation d'un complexe catécholamine- β_1 récepteur entraîne l'activation d'une protéine G stimulante (Gs), qui elle-même vient activer dans la membrane lipidique l'adenylate cyclase dont la fonction est de synthétiser l'APMc (2^{ème} messager) qui a son tour entraîne l'activation dans le cytoplasme de la protéine kinase A (PKA). Cette dernière enzyme a pour fonction la phosphorylation de protéines cibles, comportant les protéines canalaire véhiculant le courant $I_{Ca,L}$, mais aussi les phospholamban et la troponine I (252). Cependant, les cardiomyocytes expriment également des récepteurs β_2 qui assurent des fonctions inotropiques importantes dans le cas d'une "down-regulation" des récepteurs β_1 , comme dans l'insuffisance cardiaque. Les récepteurs β_3 , également présents dans le cœur, inhibent la contraction cardiaque (726). Il semble exister une segmentation ("compartmentation") dans le mode de transmission du signal selon le sous-type de récepteur. En effet, s'il existe une relation étroite entre l'accumulation de l'APMc dans le cytoplasme secondaire à la stimulation β_1 , et la réponse inotrope, cette relation apparaît faible lorsqu'il s'agit d'une stimulation β_2 (727). De plus, l'accumulation de l'AMPc induite par la stimulation β_1 est antagonisée par la présence de carbachol qui est un agoniste muscarinique (antagonisme accentué) alors que l'augmentation d'AMPc secondaire à la stimulation β_2 semble, elle, indépendante de la présence de carbachol (728). Il est par ailleurs très vraisemblable que les récepteurs β_1 et β_2 soient variables selon le types cellulaire, selon l'espèce, mais aussi selon l'âge (252). Ainsi, dans l'épicarde de chien, le raccourcissement de la durée du potentiel d'action n'existe que chez l'adulte. Cet effet pourrait être lié à une modulation de l'effet de la stimulation β sur le courant I_{Ks} , dont l'amplitude n'est augmentée que chez l'adulte (729). La stimulation des récepteurs α_1 cardiaques donne des effets importants sur la fréquence et la force de contraction, mais qui sont variables selon le contexte. Là aussi, l'effet de la stimulation α est dépendante des espèces et de l'âge. Ainsi, la stimulation α sur du ventricule de chien, de lapin ou de rat, entraîne un allongement de la durée du potentiel d'action, vraisemblablement par le biais d'un blocage de I_{to} et de I_K . Par contre l'effet de la stimulation α chez le cobaye est plutôt un raccourcissement de la durée du potentiel d'action (252). Les modifications observées à l'échelon canalaire puis cellulaire sur le déroulement du potentiel d'action peuvent se projeter à l'échelle de l'organe entier, donc *in fine* sur l'intervalle QT de l'électrocardiogramme.

REFERENCES

1. Einthoven W. Ein neues Galvanometer. *Ann Phys* 1903;12:1059-71.
2. Guyton AC, Hall JE. The autonomic nervous system and the adrenal medulla. In: *Textbook of medical physiology*. 9th ed: W.B. Saunders company; 1996:769-81.
3. Dessertenne F. La tachycardie ventriculaire à deux foyers opposés variables. *Arch Mal Coeur* 1966;59:263-72.
4. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Bioelectricity. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*: Futura publishing compagny, Inc.; 1999:1-38.
5. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Ion channels. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*: Futura publishing compagny, Inc.; 1999:39-71.
6. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Basic mechanisms of cardiac arrhythmias. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*: Futura publishing compagny, Inc.; 1999:197-245.
7. Frey W. Über Vorhofflimmern beim Menschen und seine Beseitigung durch Chinidin. *Berl Klin Wochenschr* 1918;55:417-9.
8. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Spiral wave activity: a new look at the old problem of reentry. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*: Futura publishing compagny, Inc.; 1999:247-81.
9. Lüderitz B. Historical development of antiarrhythmic drug therapy. In: Lüderitz B, ed. *History of the disorders of cardiac rhythm*. Armonk, New-York: Futura publishing compagny, Inc; 1998:83-106.
10. Pertsov AM. Scroll waves in three dimensions. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:345-54.
11. Oudit GY, Ramirez RJ, Backx PH. Voltage regulated potassium channels. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:19-32.
12. Priori S, Rivolta I, Napolitano C. Genetics of long QT, Brugada, and other channelopathies. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, PE.: W.B. Saunders company; 2004:462-70.
13. El-Sherif N, Turitto G. Torsade de pointes. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:687-99.
14. Nerbonne JM, Kass RS. Physiology and molecular biology of ions channels contributing to ventricular repolarization. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:25-62.
15. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Ion channel regulation. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*. Futura publishing compagny, Inc.; 1999:73-96.
16. Antzelevitch C, Burashnikov A, Di Diego JM. Cellular and ionic mechanisms underlying arrhythmogenesis. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:201-51.
17. Coumel P, Maison-Blanche P. Neuro-mediated repolarization abnormalities. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:329-50.
18. Lindquist M, Edwards IR. Risks of non-sedating antihistamines. *Lancet* 1997;349(9061):1322.
19. Antzelevitch C, Zygmunt AC, Dumaine R. Electrophysiology and pharmacology of ventricular repolarization. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:63-89.
20. Scherer JA, Rubel P, Fayn J, Willems JL. Quantitative assessment of 12-lead ECG synthesis using CAVIAR. *J Electrocardiol* 1992;25 Suppl:137-42.

21. Carroll SJ, Kurokawa J, Kass RS. KCNQ1/KCNE1 macromolecular signaling complex: channel microdomains and human disease. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:143-9.
22. Craelius W, Chen V, el-Sherif N. Stretch activated ion channels in ventricular myocytes. *Biosci Rep* 1988;8(5):407-14.
23. Monahan BP, Ferguson CL, Killeavy ES, Lloyd BK, Troy J, Cantilena LR, Jr. Torsades de pointes occurring in association with terfenadine use. *Jama* 1990;264(21):2788-90.
24. Sanguinetti MC, Mitcheson JS. Predicting drug-hERG channel interactions that cause acquired long QT syndrome. *Trends Pharmacol Sci* 2005;26(3):119-24.
25. Stacy GP, Jr., Jobe RL, Taylor LK, Hansen DE. Stretch-induced depolarizations as a trigger of arrhythmias in isolated canine left ventricles. *Am J Physiol* 1992;263(2 Pt 2):H613-21.
26. Milne JR, Ward DE, Spurrell RA, Camm AJ. The ventricular paced QT interval--the effects of rate and exercise. *Pacing Clin Electrophysiol* 1982;5(3):352-8.
27. Woosley RL, Chen Y, Freiman JP, Gillis RA. Mechanism of the cardiotoxic actions of terfenadine. *Jama* 1993;269(12):1532-6.
28. Roy M, Dumaine R, Brown AM. HERG, a primary human ventricular target of the nonsedating antihistamine terfenadine. *Circulation* 1996;94(4):817-23.
29. Pauza DH, Skripka V, Pauziene N, Stropus R. Morphology, distribution, and variability of the epicardial neural ganglionated subplexuses in the human heart. *Anat Rec* 2000;259(4):353-82.
30. Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ, et al. The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy Conference of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2000;47(2):219-33.
31. Demolombe S, Lande G, Charpentier F, et al. Transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part I: Phenotypic characterisation. *Cardiovasc Res* 2001;50(2):314-27.
32. Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc Res* 2003;58(1):32-45.
33. Lande G, Kyndt F, Baro I, et al. Dynamic analysis of the QT interval in long QT1 syndrome patients with a normal phenotype. *Eur Heart J* 2001;22(5):410-22.
34. Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the normal T wave and the electrocardiographic manifestations of the long-QT syndrome. *Circulation* 1998;98(18):1928-36.
35. *Dictionnaire Vidal*. Vidal ed; 1989.
36. Romano C, Gemme C, Pongiglione R. Aritmie cardiache rare dell'età pediatrica. *Clin Pediatr* 1963;45:656-83.
37. Ward OC. A new familial cardiac syndrome in children. *J Irish Med Assoc* 1964;54:103-6.
38. Wenckebach KF. Cinchona derivatives in the treatment of heart disorders. *J Am Med Assoc* 1923;81:472-4.
39. Selzer A, Wray HW. Quinidine syncope: paroxysmal ventricular fibrillation occurring during treatment of chronic atrial arrhythmias. *Circulation* 1964;30:17-26.
40. Nicholson WJ, Martin CE, Gracey JG, Knoch HR. Disopyramide-induced ventricular fibrillation. *Am J Cardiol* 1979;43(5):1053-5.

41. Sclarovsky S, Lewin RF, Kracoff O, Strasberg B, Arditti A, Agmon J. Amiodarone-induced polymorphous ventricular tachycardia. *Am Heart J* 1983;105(1):6-12.
42. Herre JM, Thompson JA. Polymorphic ventricular tachycardia and ventricular fibrillation due to N-acetyl procainamide. *Am J Cardiol* 1985;55(1):227-8.
43. Minardo JD, Heger JJ, Miles WM, Zipes DP, Prystowsky EN. Clinical characteristics of patients with ventricular fibrillation during antiarrhythmic drug therapy. *N Engl J Med* 1988;319(5):257-62.
44. Caron J, Adamantidis M, Bordet R, Libersa C, Dupuis B. Effets proarythmiques des antihistaminiques H1. *La Lettre du Pharmacologue* 1996;10(10):200-7.
45. Woosley RL. Cardiac actions of antihistamines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996;36:233-52.
46. De La Fuente DJ, Willert C. Electrophysiologic effects of hydroxyzine on canine heart. *Pediatr Res* 1975;9:264.
47. Hutcheon DE, Scriabine A, Morris D. Cardiovascular action of hydroxyzine. *J Pharmacol Exp Ther* 1956;118:451.
48. Huang TF. Studies on prevention and abolition of fibrillation of the cat's heart by drugs. *Arch Intern Pharmacol* 1963;141:239.
49. Burrell ZL, Gittinger WC, Martinez A. Treatment of cardiac arrhythmias with hydroxyzine. *Am J Cardiol* 1958;1:624.
50. Abaza A, Delattre G, Germain G. Hydroxyzine et troubles du rythme cardiaque. *Coeur Med Interne* 1967;6(3):373-87.
51. Hollister LE. Hydroxyzine hydrochloride: possible adverse cardiac interactions. *Psychopharmacol Commun* 1975;1(1):61-5.
52. Desautels JN, Filteau C, Jean A. Ventricular tachycardia associated with administration of thioridazine hydrochloride (Mellaril): Report of a case with a favourable outcome. *Can Med Ass J* 1964;90:1030-6.
53. Blanoeil Y, Pinaud M, Nicolas F. Torsades de pointe après injection de suxaméthonium chez deux coronariens digitalisés. *Nouv Presse Med* 1979;8(21):1765.
54. List WF. Succinylcholine-induced cardiac arrhythmias. *Anesth Analg* 1971;50(3):361-7.
55. Dany F, Liozon F, Goudoud JC, et al. Torsade de pointes et arythmies ventriculaires graves par administration parentérale de vincamine. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1980;73(3):298-306.
56. Deveze JL, Sainty JM, David J. Intoxication volontaire au fenoxedil. *Nouv Presse Med* 1976;5:23.
57. Fowler NO, McCall D, Chou TC, Holmes JC, Hanenson IB. Electrocardiographic changes and cardiac arrhythmias in patients receiving psychotropic drugs. *Am J Cardiol* 1976;37(2):223-30.
58. Liberatore MA, Robinson DS. Torsade de pointes: a mechanism for sudden death associated with neuroleptic drug therapy? *J Clin Psychopharmacol* 1984;4(3):143-6.
59. Davison ET. Amitriptyline-induced Torsade de Pointes. Successful therapy with atrial pacing. *J Electrocardiol* 1985;18(3):299-301.
60. Strasberg B, Coelho A, Welch W, Swiryn S, Bauernfeind R, Rosen K. Doxepin induced torsade de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1982;5(6):873-7.
61. Craft TM. Torsade de pointes after astemizole overdose. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;292(6521):660.
62. Simons FE, Kesselman MS, Giddins NG, Pelech AN, Simons KJ. Astemizole-induced torsade de pointes. *Lancet* 1988;2(8611):624.
63. Snook J, Boothman-Burrell D, Watkins J, Colin-Jones D. Torsade de pointes ventricular tachycardia associated with astemizole overdose. *Br J Clin Pract* 1988;42(6):257-9.

64. Simonsen LL. What are pharmacists dispensing more often? *Pharmacy Times* 1992;47-65.
65. Important drug warning. In: Cincinnati OMMDI, editor. Marion Merrell Dow Inc; 1990; 1990.
66. Yun CH, Okerholm RA, Guengerich FP. Oxidation of the antihistaminic drug terfenadine in human liver microsomes. Role of cytochrome P-450 3A(4) in N-dealkylation and C-hydroxylation. *Drug Metab Dispos* 1993;21(3):403-9.
67. Weinscheck HP, Ziegler A. Terfenadine, surface-activity and kinetics of action. *Arch Pharmacol* 1993;347:44.
68. Davies AJ, Harindra V, McEwan A, Ghose RR. Cardiotoxic effect with convulsions in terfenadine overdose. *Bmj* 1989;298(6669):325.
69. Committee P-ADA. Proceedings of the Pulmonary-Allergy Drugs Advisory Committee. Rockville, Md: Food and Drug Administration, Public Health Service, US Dept of Health and Human Services; 1990.
70. Inc MMD. Important Drug Warning. Cincinnati, Ohio: Marion Merrell Dow Inc; 1990 August 6, 1990.
71. Nightingale SL. From the Food and Drug Administration. *Jama* 1992;268(6):705.
72. Viskin S. Long QT syndromes and torsade de pointes. *Lancet* 1999;354(9190):1625-33.
73. Wang Q, Shen J, Splawski I, et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell* 1995;80(5):805-11.
74. Curran ME, Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Green ED, Keating MT. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell* 1995;80(5):795-803.
75. Wang Q, Curran ME, Splawski I, et al. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet* 1996;12(1):17-23.
76. Jurkiewicz NK, Sanguinetti MC. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current by dofetilide. *Circ Res* 1993;72(1):75-83.
77. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol* 1990;96(1):195-215.
78. Carmeliet E. Use-dependent block and use-dependent unblock of the delayed rectifier K⁺ current by almokalant in rabbit ventricular myocytes. *Circ Res* 1993;73(5):857-68.
79. Yang T, Snyders DJ, Roden DM. Ibutilide, a methanesulfonanilide antiarrhythmic, is a potent blocker of the rapidly activating delayed rectifier K⁺ current (IKr) in AT-1 cells. Concentration-, time-, voltage-, and use-dependent effects. *Circulation* 1995;91(6):1799-806.
80. CAST and beyond. Implications of the cardiac arrhythmia suppression trials. By the Task Force of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 1990;11(3):194-9.
81. Ruskin JN. The cardiac arrhythmia suppression trial (CAST). *N Engl J Med* 1989;321(6):386-8.
82. Waldo AL, Camm AJ, deRuyter H, et al. Effect of d-sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. The SWORD Investigators. Survival With Oral d-Sotalol [see comments] [published erratum appears in *Lancet* 1996 Aug 10;348(9024):416]. *Lancet* 1996;348(9019):7-12.
83. Zehender M, Hohnloser S, Just H. QT-interval prolonging drugs: mechanisms and clinical relevance of their arrhythmogenic hazards. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991;5(2):515-30.
84. Trudeau MC, Warmke JW, Ganetzky B, Robertson GA. HERG, a human inward rectifier in the voltage-gated potassium channel family. *Science* 1995;269(5220):92-5.
85. Rosen MR. Of oocytes and runny noses. *Circulation* 1996;94(4):607-9.

86. Priori SG. Exploring the hidden danger of noncardiac drugs. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;9(10):1114-6.
87. Camm AJ, Janse MJ, Roden DM, Rosen MR, Cinca J, Cobbe SM. Congenital and acquired long QT syndrome. *Eur Heart J* 2000;21(15):1232-7.
88. Pratt CM, Hertz RP, Ellis BE, Crowell SP, Louv W, Moye L. Risk of developing life-threatening ventricular arrhythmia associated with terfenadine in comparison with over-the-counter antihistamines, ibuprofen and clemastine. *Am J Cardiol* 1994;73(5):346-52.
89. Burkhart GA, Freiman J. The risk of life-threatening cardiovascular events with terfenadine. *Am J Cardiol* 1995;75(2):213-4.
90. Hanrahan JP, Choo PW, Carlson W, Greineder D, Faich GA, Platt R. Terfenadine-associated ventricular arrhythmias and QTc interval prolongation. A retrospective cohort comparison with other antihistamines among members of a health maintenance organization. *Ann Epidemiol* 1995;5(3):201-9.
91. de Abajo FJ, Rodriguez LA. Risk of ventricular arrhythmias associated with nonsedating antihistamine drugs. *Br J Clin Pharmacol* 1999;47(3):307-13.
92. Faich GA. Adverse-drug-reaction monitoring. *N Engl J Med* 1986;314(24):1589-92.
93. Anonymous. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP), The European Agency for the Evaluation of the Medicinal Products. Points to consider: The assessment of the potential for QT interval prolongation by non-cardiovascular medicinal products; 1997.
94. MacConnell TJ, Stanners AJ. Torsades de pointes complicating treatment with terfenadine. *Bmj* 1991;302(6790):1469.
95. Roden DM, Woosley RL, Primm RK. Incidence and clinical features of the quinidine-associated long QT syndrome: implications for patient care. *Am Heart J* 1986;111(6):1088-93.
96. Hohnloser SH, Woosley RL. Sotalol. *N Engl J Med* 1994;331(1):31-8.
97. Roden DM. Ibutilide and the treatment of atrial arrhythmias. A new drug--almost unheralded--is now available to US physicians. *Circulation* 1996;94(7):1499-502.
98. Mounsey JP, DiMarco JP. Cardiovascular drugs. Dofetilide. *Circulation* 2000;102(21):2665-70.
99. Roden DM. Taking the "idio" out of "idiosyncratic": predicting torsades de pointes [editorial]. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998;21(5):1029-34.
100. Vandenberg JJ, Walker BD, Campbell TJ. HERG K⁺ channels: friend and foe. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22(5):240-6.
101. Donger C, Denjoy I, Berthet M, et al. KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. *Circulation* 1997;96(9):2778-81.
102. Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ. Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact. *Circulation* 1999;99(4):529-33.
103. Billups SJ, Carter BL. Mibefradil withdrawn from the market. *Ann Pharmacother* 1998;32(7-8):841.
104. Krayenbuhl JC, Vozeh S, Kondo-Oestreicher M, Dayer P. Drug-drug interactions of new active substances: mibefradil example. *Eur J Clin Pharmacol* 1999;55(8):559-65.
105. Levine TB, Bernink PJ, Caspi A, et al. Effect of mibefradil, a T-type calcium channel blocker, on morbidity and mortality in moderate to severe congestive heart failure: the MACH- 1 study. Mortality Assessment in Congestive Heart Failure Trial. *Circulation* 2000;101(7):758-64.
106. Chouabe C, Drici MD, Romey G, Barhanin J, Lazdunski M. HERG and KvLQT1/IsK, the cardiac K⁺ channels involved in long QT syndromes, are targets for calcium channel blockers. *Mol Pharmacol* 1998;54(4):695-703.
107. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983;245(1):C1-14.

108. Milanese R, Baruscotti M, Gneccchi-Ruscone T, DiFrancesco D. Familial sinus bradycardia associated with a mutation in the cardiac pacemaker channel. *N Engl J Med* 2006;354(2):151-7.
109. Stieber J, Herrmann S, Feil S, et al. The hyperpolarization-activated channel HCN4 is required for the generation of pacemaker action potentials in the embryonic heart. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(25):15235-40.
110. Yan GX, Shimizu W, Antzelevitch C. Characteristics and distribution of M cells in arterially perfused canine left ventricular wedge preparations. *Circulation* 1998;98(18):1921-7.
111. Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, et al. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells. *Circ Res* 1991;69(6):1427-49.
112. Sicouri S, Antzelevitch C. A subpopulation of cells with unique electrophysiological properties in the deep subepicardium of the canine ventricle. The M cell. *Circ Res* 1991;68(6):1729-41.
113. Litovsky SH, Antzelevitch C. Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. *Circ Res* 1988;62(1):116-26.
114. Antzelevitch C, Nesterenko VV, Yan GX. Role of M cells in acquired long QT syndrome, U waves, and torsade de pointes. *J Electrocardiol* 1995;28(Suppl):131-8.
115. Shimizu W, Antzelevitch C. Cellular basis for the ECG features of the LQT1 form of the long-QT syndrome: effects of beta-adrenergic agonists and antagonists and sodium channel blockers on transmural dispersion of repolarization and torsade de pointes [see comments]. *Circulation* 1998;98(21):2314-22.
116. Antzelevitch C, Yan GX, Shimizu W. Transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenicity: the Brugada syndrome versus the long QT syndrome. *J Electrocardiol* 1999;32(Suppl):158-65.
117. Antzelevitch C, Yan GX, Shimizu W, Burashnikov A. Electrical heterogeneity, the ECG, and cardiac arrhythmias. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2000:222-38.
118. Antzelevitch C. Are M cells present in the ventricular myocardium of the pig? A question of maturity [letter]. *Cardiovasc Res* 1997;36(1):127-8.
119. Stankovicova T, Szilard M, De Scheerder I, Sipido KR. M cells and transmural heterogeneity of action potential configuration in myocytes from the left ventricular wall of the pig heart. *Cardiovasc Res* 2000;45(4):952-60.
120. Drouin E, Charpentier F, Gauthier C, Laurent K, Le Marec H. Electrophysiologic characteristics of cells spanning the left ventricular wall of human heart: evidence for presence of M cells [see comments]. *J Am Coll Cardiol* 1995;26(1):185-92.
121. Liu DW, Antzelevitch C. Characteristics of the delayed rectifier current (IKr and IKs) in canine ventricular epicardial, midmyocardial, and endocardial myocytes. A weaker IKs contributes to the longer action potential of the M cell. *Circ Res* 1995;76(3):351-65.
122. Zygmunt AC, Eddlestone GT, Thomas GP, Nesterenko VV, Antzelevitch C. Larger late sodium conductance in M cells contributes to electrical heterogeneity in canine ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(2):H689-97.
123. Zygmunt AC, Goodrow RJ, Antzelevitch C. I(NaCa) contributes to electrical heterogeneity within the canine ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(5):H1671-8.
124. Sicouri S, Antzelevitch C. Drug-induced afterdepolarizations and triggered activity occur in a discrete subpopulation of ventricular muscle cells (M cells) in the canine heart: quinidine and digitalis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4(1):48-58.
125. Loussouarn G, Charpentier F, Mohammad-Panah R, Kunzelmann K, Baro I, Escande D. KvLQT1 potassium channel but not IsK is the molecular target for trans- 6-cyano-4-(N-

ethylsulfonyl-N-methylamino)-3-hydroxy-2,2-dimethyl- chromane. *Mol Pharmacol* 1997;52(6):1131-6.

126. Anyukhovsky EP, Sosunov EA, Feinmark SJ, Rosen MR. Effects of quinidine on repolarization in canine epicardium, midmyocardium, and endocardium: II. In vivo study. *Circulation* 1997;96(11):4019-26.

127. Davidenko JM, Cohen L, Goodrow R, Antzelevitch C. Quinidine-induced action potential prolongation, early afterdepolarizations, and triggered activity in canine Purkinje fibers. Effects of stimulation rate, potassium, and magnesium. *Circulation* 1989;79(3):674-86.

128. Antzelevitch C, Shimizu W, Yan GX, et al. The M cell: its contribution to the ECG and to normal and abnormal electrical function of the heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10(8):1124-52.

129. Sicouri S, Moro S, Litovsky S, Elizari MV, Antzelevitch C. Chronic amiodarone reduces transmural dispersion of repolarization in the canine heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1997;8(11):1269-79.

130. Merot J, Charpentier F, Poirier JM, Coutris G, Weissenburger J. Effects of chronic treatment by amiodarone on transmural heterogeneity of canine ventricular repolarization in vivo: interactions with acute sotalol. *Cardiovasc Res* 1999;44(2):303-14.

131. Drouin E, Lande G, Charpentier F. Amiodarone reduces transmural heterogeneity of repolarization in the human heart. *J Am Coll Cardiol* 1998;32(4):1063-7.

132. Sicouri S, Fish J, Antzelevitch C. Distribution of M cells in the canine ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994;5(10):824-37.

133. Jalife J, Delmar M, Davidenko JM, Anumonwo JM. Propagation through cardiac muscle. In: *Basic cardiac electrophysiology for the clinician*: Futura publishing compagny, Inc.; 1999:97-122.

134. Weissenburger J, Nesterenko VV, Antzelevitch C. Transmural heterogeneity of ventricular repolarization under baseline and long QT conditions in the canine heart in vivo: torsades de pointes develops with halothane but not pentobarbital anesthesia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000;11(3):290-304.

135. el-Sherif N, Caref EB, Yin H, Restivo M. The electrophysiological mechanism of ventricular arrhythmias in the long QT syndrome. Tridimensional mapping of activation and recovery patterns. *Circ Res* 1996;79(3):474-92.

136. Anyukhovsky EP, Sosunov EA, Gainullin RZ, Rosen MR. The controversial M cell. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10(2):244-60.

137. Shimizu W, McMahon B, Antzelevitch C. Sodium pentobarbital reduces transmural dispersion of repolarization and prevents torsades de Pointes in models of acquired and congenital long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10(2):154-64.

138. Bauer A, Becker R, Freigang KD, et al. Rate- and site-dependent effects of propafenone, dofetilide, and the new I(Ks)-blocking agent chromanol 293b on individual muscle layers of the intact canine heart. *Circulation* 1999;100(21):2184-90.

139. Pereon Y, Demolombe S, Baro I, Drouin E, Charpentier F, Escande D. Differential expression of KvLQT1 isoforms across the human ventricular wall. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(6):H1908-15.

140. Demolombe S, Baro I, Pereon Y, et al. A dominant negative isoform of the long QT syndrome 1 gene product. *J Biol Chem* 1998;273(12):6837-43.

141. Nerbonne JM. Molecular basis of functional voltage-gated K⁺ channel diversity in the mammalian myocardium. *J Physiol* 2000;525 Pt 2:285-98.

142. Barry DM, Nerbonne JM. Myocardial potassium channels: electrophysiological and molecular diversity. *Annu Rev Physiol* 1996;58:363-94.

143. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000;26(1):13-25.

144. Rivolta I, Clancy CE, Tateyama M, Liu H, Priori SG, Kass RS. A novel SCN5A mutation associated with long QT-3: altered inactivation kinetics and channel dysfunction. *Physiol Genomics* 2002;10(3):191-7.
145. Attwell D, Cohen I, Eisner D, Ohba M, Ojeda C. The steady state TTX-sensitive ("window") sodium current in cardiac Purkinje fibres. *Pflugers Arch* 1979;379(2):137-42.
146. Sakmann BF, Spindler AJ, Bryant SM, Linz KW, Noble D. Distribution of a persistent sodium current across the ventricular wall in guinea pigs. *Circ Res* 2000;87(10):910-4.
147. Marionneau C, Couette B, Liu J, et al. Specific pattern of ionic channel gene expression associated with pacemaker activity in the mouse heart. *J Physiol* 2005;562(Pt 1):223-34.
148. Li GR, Feng J, Yue L, Carrier M, Nattel S. Evidence for two components of delayed rectifier K⁺ current in human ventricular myocytes. *Circ Res* 1996;78(4):689-96.
149. Salata JJ, Jurkiewicz NK, Jow B, et al. IK of rabbit ventricle is composed of two currents: evidence for IKs. *Am J Physiol* 1996;271(6 Pt 2):H2477-89.
150. Walsh KB, Arena JP, Kwok WM, Freeman L, Kass RS. Delayed-rectifier potassium channel activity in isolated membrane patches of guinea pig ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1991;260(4 Pt 2):H1390-3.
151. Xu H, Guo W, Nerbonne JM. Four kinetically distinct depolarization-activated K⁺ currents in adult mouse ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 1999;113(5):661-78.
152. Wetzel GT, Klitzner TS. Developmental cardiac electrophysiology recent advances in cellular physiology. *Cardiovasc Res* 1996;31 Spec No:E52-60.
153. Jeck CD, Boyden PA. Age-related appearance of outward currents may contribute to developmental differences in ventricular repolarization. *Circ Res* 1992;71(6):1390-403.
154. Escande D, Loisan D, Planche C, Coraboeuf E. Age-related changes of action potential plateau shape in isolated human atrial fibers. *Am J Physiol* 1985;249(4 Pt 2):H843-50.
155. Wettwer E, Amos GJ, Posival H, Ravens U. Transient outward current in human ventricular myocytes of subepicardial and subendocardial origin. *Circ Res* 1994;75(3):473-82.
156. Main MC, Bryant SM, Hart G. Regional differences in action potential characteristics and membrane currents of guinea-pig left ventricular myocytes. *Exp Physiol* 1998;83(6):747-61.
157. Coraboeuf E, Carmeliet E. Existence of two transient outward currents in sheep cardiac Purkinje fibers. *Pflugers Arch* 1982;392(4):352-9.
158. Zygmunt AC, Gibbons WR. Calcium-activated chloride current in rabbit ventricular myocytes. *Circ Res* 1991;68(2):424-37.
159. Brahmajothi MV, Campbell DL, Rasmusson RL, et al. Distinct transient outward potassium current (I_{to}) phenotypes and distribution of fast-inactivating potassium channel alpha subunits in ferret left ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 1999;113(4):581-600.
160. Inoue M, Imanaga I. Masking of A-type K⁺ channel in guinea pig cardiac cells by extracellular Ca²⁺. *Am J Physiol* 1993;264(6 Pt 1):C1434-8.
161. Nichols CG, Lopatin AN. Inward rectifier potassium channels. *Annu Rev Physiol* 1997;59:171-91.
162. Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305(5930):147-8.
163. Escande D, Thuringer D, Leguern S, Caverio I. The potassium channel opener cromakalim (BRL 34915) activates ATP-dependent K⁺ channels in isolated cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;154(2):620-5.
164. Waller AG. A demonstration on man of electromotive changes accompanying the heart's beat. *J Physiol* 1887;8:229-34.

165. Einthoven W, Fahr G, de Waart A. On the direction and manifest size of the variations of potential in the human heart and on the influence of the position of the heart on the form of the electrocardiogram (Translation: Hoff, H.E., Sekely, P.). *Am Heart J* 1950;40:163-211.
166. Fisch C. Electrocardiography. In: Braunwald E, ed. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders company; 1997:108-52.
167. Craib WH. A study of the electrical field surrounding active heart muscle. *Heart* 1927;14:71.
168. Mirvis DM, Goldberger AL. Electrocardiography. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E, eds. *Heart disease*. 7th ed. Philadelphia, Pe: Elsevier, Inc.; 2005:107-51.
169. Wellens HJ, Zipes DP. Ventricular repolarization and the identification of the sudden death candidate. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:3-6.
170. Mann H. A method of analyzing the electrocardiogram. *Arch Intern Med* 1920;25:283.
171. Frank E. An accurate, clinically practical system for spatial vectocardiography. *Circulation* 1956;13:737.
172. Fayn J, Rubel P. CAVIAR: a serial ECG processing system for the comparative analysis of VCGs and their interpretation with auto-reference to the patient. *J Electrocardiol* 1988;21 Suppl:S173-6.
173. Lande G, Maison-Blanche P, Fayn J, Ghadanfar M, Coumel P, Funck-Brentano C. Dynamic analysis of dofetilide-induced changes in ventricular repolarization. *Clin Pharmacol Ther* 1998;64(3):312-21.
174. Neyroud N, Maison-Blanche P, Denjoy I, et al. Diagnostic performance of QT interval variables from 24-h electrocardiography in the long QT syndrome. *Eur Heart J* 1998;19(1):158-65.
175. Coumel P, Fayn J, Maison-Blanche P, Rubel P. Clinical relevance of assessing QT dynamicity in Holter recordings. *J Electrocardiol* 1994;27(Suppl):62-6.
176. Catuli D, Maison-Blanche P, Fayn J, et al. [Analysis of frequency-dependence of ventricular repolarisation by the Holter method in young adults. Influence of the autonomic nervous system on the rate-dependence of QT]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1997;90(7):927-34.
177. Ramanathan C, Ghanem RN, Jia P, Ryu K, Rudy Y. Noninvasive electrocardiographic imaging for cardiac electrophysiology and arrhythmia. *Nat Med* 2004;10(4):422-8.
178. Moller M. QT interval in relation to ventricular arrhythmias and sudden cardiac death in postmyocardial infarction patients. *Acta Med Scand* 1981;210(1-2):73-7.
179. Juul-Moller S. Corrected QT-interval during one year follow-up after an acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1986;7(4):299-304.
180. Ahnve S, Helmers C, Lundman T. QTc intervals at discharge after acute myocardial infarction and long-term prognosis. *Acta Med Scand* 1980;208(1-2):55-60.
181. Wheelan K, Mukharji J, Rude RE, et al. Sudden death and its relation to QT-interval prolongation after acute myocardial infarction: two-year follow-up. *Am J Cardiol* 1986;57(10):745-50.
182. Boudoulas H, Sohn YH, O'Neill W, Brown R, Weissler AM. The QT greater than QS2 syndrome: a new mortality risk indicator in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1982;50(6):1229-35.
183. Peters RW, Byington RP, Barker A, Yusuf S. Prognostic value of prolonged ventricular repolarization following myocardial infarction: the BHAT experience. The BHAT Study Group. *J Clin Epidemiol* 1990;43(2):167-72.
184. Tobe TJ, de Langen CD, Crijns HJ, et al. Late potentials, QTc prolongation, and prediction of arrhythmic events after myocardial infarction. *Int J Cardiol* 1994;46(2):121-8.
185. Cowan JC, Yusoff K, Moore M, et al. Importance of lead selection in QT interval measurement. *Am J Cardiol* 1988;61(1):83-7.

186. Lepeschkin E, Surawicz B. The measurement of the QT interval of the electrocardiogram. *Circulation* 1952;6(NIF):378-88.
187. Murray A, McLaughlin NB, Bourke JP, Doig JC, Furniss SS, Campbell RW. Errors in manual measurement of QT intervals. *Br Heart J* 1994;71(4):386-90.
188. Kautzner J, Yi G, Camm AJ, Malik M. Short- and long-term reproducibility of QT, QTc, and QT dispersion measurement in healthy subjects. *Pacing Clin Electrophysiol* 1994;17(5 Pt 1):928-37.
189. Willems JL, Arnaud P, van Bommel JH, Degani R, Macfarlane PW, Zywiec C. Common standards for quantitative electrocardiography: goals and main results. CSE Working Party. *Methods Inf Med* 1990;29(4):263-71.
190. McLaughlin NB, Campbell RW, Murray A. Accuracy of four automatic QT measurement techniques in cardiac patients and healthy subjects. *Heart* 1996;76(5):422-6.
191. Lande G, Funck-Brentano C, Ghadanfar M, Escande D. Steady-state versus non-steady-state QT-RR relationships in 24-hour Holter recordings. *Pacing Clin Electrophysiol* 2000;23(3):293-302.
192. Savelieva I, Yi G, Guo X, Hnatkova K, Malik M. Agreement and reproducibility of automatic versus manual measurement of QT interval and QT dispersion. *Am J Cardiol* 1998;81(4):471-7.
193. Kors JA, van Herpen G. Measurement error as a source of QT dispersion: a computerised analysis. *Heart* 1998;80(5):453-8.
194. Badilini F, Maison-Blanche P, Childers R, Coumel P. QT interval analysis on ambulatory electrocardiogram recordings: a selective beat averaging approach. *Med Biol Eng Comput* 1999;37(1):71-9.
195. Merri M, Moss AJ, Benhorin J, Locati EH, Alberti M, Badilini F. Relation between ventricular repolarization duration and cardiac cycle length during 24-hour Holter recordings. Findings in normal patients and patients with long QT syndrome [see comments]. *Circulation* 1992;85(5):1816-21.
196. Zhou SH, Wong S, Rautaharju PM, Karnik N, Calhoun HP. Should the JT rather than the QT interval be used to detect prolongation of ventricular repolarization? An assessment in normal conduction and in ventricular conduction defects. *J Electrocardiol* 1992;25 Suppl:131-6.
197. Lubinski A, Lewicka-Nowak E, Kempa M, Baczynska AM, Romanowska I, Swiatecka G. New insight into repolarization abnormalities in patients with congenital long QT syndrome: the increased transmural dispersion of repolarization. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998;21(1 Pt 2):172-5.
198. Cohen I, Giles W, Noble D. Cellular basis for the T wave of the electrocardiogram. *Nature* 1976;262(5570):657-61.
199. Noble D, Cohen I. The interpretation of the T wave of the electrocardiogram. *Cardiovasc Res* 1978;12(1):13-27.
200. Janse MJ, Sosunov EA, Coronel R, et al. Repolarization gradients in the canine left ventricle before and after induction of short-term cardiac memory. *Circulation* 2005;112(12):1711-8.
201. Di Diego JM, Sun ZQ, Antzelevitch C. I(to) and action potential notch are smaller in left vs. right canine ventricular epicardium. *Am J Physiol* 1996;271(2 Pt 2):H548-61.
202. Gussak I, Bjerregaard P, Egan TM, Chaitman BR. ECG phenomenon called the J wave. History, pathophysiology, and clinical significance. *J Electrocardiol* 1995;28(1):49-58.
203. Osborn JJ. Experimental hypothermia; respiratory and blood pH changes in relation to cardiac function. *Am J Physiol* 1953;175(3):389-98.
204. Sridharan MR, Horan LG. Electrocardiographic J wave of hypercalcemia. *Am J Cardiol* 1984;54(6):672-3.

205. Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the electrocardiographic J wave. *Circulation* 1996;93(2):372-9.
206. Antzelevitch C, Nesterenko VV. Contribution of electrical heterogeneity of repolarization to the ECG. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:111-26.
207. Wilson FN, MacLeod AG, Barker PS, Johnston FD. The determination and the significance of the areas of the ventricular deflections of the electrocardiogram. *Am Heart J* 1934;10:46.
208. Day CP, McComb JM, Campbell RW. QT dispersion: an indication of arrhythmia risk in patients with long QT intervals. *Br Heart J* 1990;63(6):342-4.
209. Zabel M, Portnoy S, Franz MR. Electrocardiographic indexes of dispersion of ventricular repolarization: an isolated heart validation study. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(3):746-52.
210. Zabel M, Lichtlen PR, Haverich A, Franz MR. Comparison of ECG variables of dispersion of ventricular repolarization with direct myocardial repolarization measurements in the human heart. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;9(12):1279-84.
211. Malik M. QT dispersion: time for an obituary? *Eur Heart J* 2000;21(12):955-7.
212. Malik M, Batchvarov VN. Measurement, interpretation and clinical potential of QT dispersion. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(6):1749-66.
213. Lee KW, Kligfield P, Dower GE, Okin PM. QT dispersion, T-wave projection, and heterogeneity of repolarization in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2001;87(2):148-51.
214. Macfarlane PW, McLaughlin SC, Rodger JC. Influence of lead selection and population on automated measurement of QT dispersion. *Circulation* 1998;98(20):2160-7.
215. Kors JA, van Herpen G, van Bommel JH. QT dispersion as an attribute of T-loop morphology. *Circulation* 1999;99(11):1458-63.
216. Zabel M, Franz MR, Klingenhöben T, Mansion B, Schultheiss HP, Hohnloser SH. Rate-dependence of QT dispersion and the QT interval: comparison of atrial pacing and exercise testing. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(5):1654-8.
217. Priori SG, Napolitano C, Diehl L, Schwartz PJ. Dispersion of the QT interval. A marker of therapeutic efficacy in the idiopathic long QT syndrome. *Circulation* 1994;89(4):1681-9.
218. Sun ZH, Swan H, Viitasalo M, Toivonen L. Effects of epinephrine and phenylephrine on QT interval dispersion in congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1998;31(6):1400-5.
219. Stramba-Badiale M, Goulene K, Schwartz PJ. Effects of beta-adrenergic blockade on dispersion of ventricular repolarization in newborn infants with prolonged QT interval. *Am Heart J* 1997;134(3):406-10.
220. Priori SG, Mortara DW, Napolitano C, et al. Evaluation of the spatial aspects of T-wave complexity in the long-QT syndrome. *Circulation* 1997;96(9):3006-12.
221. Weidmann S. Shortening of the cardiac action potential due to a brief injection of KCl following the onset of activity. *J Physiol* 1956;132(1):157-63.
222. Nemec J, Hammill SC, Shen WK. Evaluation of ventricular repolarization. The clinician's perspective. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:255-89.
223. Bazett HC. An analysis of the time relations of the electrocardiograms. *Am Heart J* 1920;7:353-70.
224. Fridericia LS. Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei Normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand* 1920;53:469-86.

225. Sagie A, Larson MG, Goldberg RJ, Bengtson JR, Levy D. An improved method for adjusting the QT interval for heart rate (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 1992;70(7):797-801.
226. Sarma JS, Sarma RJ, Bilitch M, Katz D, Song SL. An exponential formula for heart rate dependence of QT interval during exercise and cardiac pacing in humans: reevaluation of Bazett's formula. *Am J Cardiol* 1984;54(1):103-8.
227. Molnar J, Weiss J, Zhang F, Rosenthal JE. Evaluation of five QT correction formulas using a software-assisted method of continuous QT measurement from 24-hour Holter recordings. *Am J Cardiol* 1996;78(8):920-6.
228. Puddu PE, Jouve R, Mariotti S, et al. Evaluation of 10 QT prediction formulas in 881 middle-aged men from the seven countries study: emphasis on the cubic root Fridericia's equation. *J Electrocardiol* 1988;21(3):219-29.
229. Funck-Brentano C, Kibleur Y, Le Coz F, Poirier JM, Mallet A, Jaillon P. Rate dependence of sotalol-induced prolongation of ventricular repolarization during exercise in humans. *Circulation* 1991;83(2):536-45.
230. Ong JJ, Sarma JS, Venkataraman K, Levin SR, Singh BN. Circadian rhythmicity of heart rate and QTc interval in diabetic autonomic neuropathy: implications for the mechanism of sudden death. *Am Heart J* 1993;125(3):744-52.
231. Malik M. Problems of heart rate correction in assessment of drug-induced QT interval prolongation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001;12(4):411-20.
232. Franz MR, Swerdlow CD, Liem LB, Schaefer J. Cycle length dependence of human action potential duration in vivo. Effects of single extrastimuli, sudden sustained rate acceleration and deceleration, and different steady-state frequencies. *J Clin Invest* 1988;82(3):972-9.
233. Lau CP, Freedman AR, Fleming S, Malik M, Camm AJ, Ward DE. Hysteresis of the ventricular paced QT interval in response to abrupt changes in pacing rate. *Cardiovasc Res* 1988;22(1):67-72.
234. Sarma JS, Venkataraman SK, Samant DR, Gadgil U. Hysteresis in the human RR-QT relationship during exercise and recovery. *Pacing Clin Electrophysiol* 1987;10(3 Pt 1):485-91.
235. Krahn AD, Klein GJ, Yee R. Hysteresis of the RT interval with exercise: a new marker for the long- QT syndrome? *Circulation* 1997;96(5):1551-6.
236. Takahashi N, Ito M, Ishida S, et al. Paradoxically shortened QT interval after a prolonged pause. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998;21(7):1476-9.
237. Lecocq B, Lecocq V, Jaillon P. Physiologic relation between cardiac cycle and QT duration in healthy volunteers. *Am J Cardiol* 1989;64(8):481-6.
238. Abildskov JA. Adrenergic effects of the QT interval of the electrocardiogram. *Am Heart J* 1976;92(2):210-6.
239. Badilini F, Maison-Blanche P, Spaulding R, Palma M, Coumel P. Analysis of QT interval during passive tilt test: comparison of different correction formula. *Computers cardiol* 1998;25:713-6.
240. Ahnve S, Vallin H. Influence of heart rate and inhibition of autonomic tone on the QT interval. *Circulation* 1982;65(3):435-9.
241. Dickhuth HH, Bluemner E, Auchschwelk W, Zehnder M, Irmer M, Meinertz T. The relationship between heart rate and QT interval during atrial stimulation. *Pacing Clin Electrophysiol* 1991;14(5 Pt 1):793-9.
242. Cappato R, Alboni P, Pedroni P, Gilli G, Antonioli GE. Sympathetic and vagal influences on rate-dependent changes of QT interval in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1991;68(11):1188-93.
243. Fananapazir L, Bennett DH, Faragher EB. Contribution of heart rate to QT interval shortening during exercise. *Eur Heart J* 1983;4(4):265-71.

244. Horstmann E, Koenn B. Temporal relationship between exercise and QT shortening in patients with QT pacemakers. *Pacing Clin Electrophysiol* 1989;12(7 Pt 1):1080-4.
245. Browne KF, Prystowsky E, Heger JJ, Chilson DA, Zipes DP. Prolongation of the Q-T interval in man during sleep. *Am J Cardiol* 1983;52(1):55-9.
246. Browne KF, Prystowsky E, Heger JJ, Zipes DP. Modulation of the Q-T interval by the autonomic nervous system. *Pacing Clin Electrophysiol* 1983;6(5 Pt 2):1050-6.
247. Viitasalo M, Karjalainen J. QT intervals at heart rates from 50 to 120 beats per minute during 24- hour electrocardiographic recordings in 100 healthy men. Effects of atenolol. *Circulation* 1992;86(5):1439-42.
248. Murakawa Y, Inoue H, Nozaki A, Sugimoto T. Role of sympathovagal interaction in diurnal variation of QT interval. *Am J Cardiol* 1992;69(4):339-43.
249. Alexopoulos D, Rynkiewicz A, Yusuf S, Johnston JA, Sleight P, Yacoub MH. Diurnal variations of QT interval after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1988;61(6):482-5.
250. Bexton RS, Vallin HO, Camm AJ. Diurnal variation of the QT interval--influence of the autonomic nervous system. *Br Heart J* 1986;55(3):253-8.
251. Coumel P, Leclercq JF, Maison-Blanche P, Attuel P, Cauchemez B. Computerized analysis of dynamic electrocardiograms: a tool for comprehensive electrophysiology. *Clin Progress* 1985;3:181-201.
252. Steinberg SF, Robinson RB, Rosen MR. Molecular and cellular bases of beta adrenergic and alpha adrenergic modulation of cardiac rhythm. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia: W.B. Saunders company; 2004:291-8.
253. Takei M, Sasaki Y, Yonezawa T, Lakhe M, Aruga M, Kiyosawa K. The autonomic control of the transmural dispersion of ventricular repolarization in anesthetized dogs. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10(7):981-9.
254. Litovsky SH, Antzelevitch C. Differences in the electrophysiological response of canine ventricular subendocardium and subepicardium to acetylcholine and isoproterenol. A direct effect of acetylcholine in ventricular myocardium. *Circ Res* 1990;67(3):615-27.
255. Mubagwa K, Carmeliet E. Effects of acetylcholine on electrophysiological properties of rabbit cardiac Purkinje fibers. *Circ Res* 1983;53(6):740-51.
256. Prystowsky EN, Jackman WM, Rinkenberger RL, Heger JJ, Zipes DP. Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans. Evidence supporting a direct cholinergic action on ventricular muscle refractoriness. *Circ Res* 1981;49(2):511-8.
257. Trautwein W, Kameyama M. Intracellular control of calcium and potassium currents in cardiac cells. *Jpn Heart J* 1986;27 Suppl 1:31-50.
258. Nakayama T, Fozzard HA. Adrenergic modulation of the transient outward current in isolated canine Purkinje cells. *Circ Res* 1988;62(1):162-72.
259. Han W, Wang Z, Nattel S. Slow delayed rectifier current and repolarization in canine cardiac Purkinje cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(3):H1075-80.
260. Potet F, Scott JD, Mohammad-Panah R, Escande D, Baro I. AKAP proteins anchor cAMP-dependent protein kinase to KvLQT1/IsK channel complex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(5):H2038-45.
261. Gray PC, Scott JD, Catterall WA. Regulation of ion channels by cAMP-dependent protein kinase and A-kinase anchoring proteins. *Curr Opin Neurobiol* 1998;8(3):330-4.
262. Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, et al. Phosphorylation-dependent regulation of ryanodine receptors: a novel role for leucine/isoleucine zippers. *J Cell Biol* 2001;153(4):699-708.
263. Marx SO, Kurokawa J, Reiken S, et al. Requirement of a macromolecular signaling complex for beta adrenergic receptor modulation of the KCNQ1-KCNE1 potassium channel. *Science* 2002;295(5554):496-9.

264. Lin JW, Wyszynski M, Madhavan R, Sealock R, Kim JU, Sheng M. Yotiao, a novel protein of neuromuscular junction and brain that interacts with specific splice variants of NMDA receptor subunit NR1. *J Neurosci* 1998;18(6):2017-27.
265. Surks HK, Mochizuki N, Kasai Y, et al. Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP- dependent protein kinase Ialpha. *Science* 1999;286(5444):1583-7.
266. Piippo K, Swan H, Pasternack M, et al. A founder mutation of the potassium channel KCNQ1 in long QT syndrome: implications for estimation of disease prevalence and molecular diagnostics. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(2):562-8.
267. Paavonen KJ, Swan H, Piippo K, et al. Response of the QT interval to mental and physical stress in types LQT1 and LQT2 of the long QT syndrome. *Heart* 2001;86(1):39-44.
268. Kurokawa J, Chen L, Kass RS. Requirement of subunit expression for cAMP-mediated regulation of a heart potassium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(4):2122-7.
269. January CT, Riddle JM. Early afterdepolarizations: mechanism of induction and block. A role for L-type Ca²⁺ current. *Circ Res* 1989;64(5):977-90.
270. Molnar J, Zhang F, Weiss J, Ehlert FA, Rosenthal JE. Diurnal pattern of QTc interval: how long is prolonged? Possible relation to circadian triggers of cardiovascular events [see comments]. *J Am Coll Cardiol* 1996;27(1):76-83.
271. Davey P. Influence of posture and handgrip on the QT interval in left ventricular hypertrophy and in chronic heart failure. *Clin Sci (Lond)* 1999;96(4):403-7.
272. D'Aunno DS, Dougherty AH, DeBlock HF, Meck JV. Effect of short- and long-duration spaceflight on QTc intervals in healthy astronauts. *Am J Cardiol* 2003;91(4):494-7.
273. Ahmed MW, Kadish AH, Goldberger JJ. Autonomic effects on the QT interval. *ANE* 1996;1:44-53.
274. Malik M, Farbom P, Batchvarov V, Hnatkova K, Camm AJ. Relation between QT and RR intervals is highly individual among healthy subjects: implications for heart rate correction of the QT interval. *Heart* 2002;87(3):220-8.
275. Extramiana F, Tavernier R, Maison-Blanche P, et al. [Ventricular repolarization and Holter monitoring. Effect of sympathetic blockage on the QT/RR ratio]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2000;93(11):1277-83.
276. Arrowood JA, Kline J, Simpson PM, et al. Modulation of the QT interval: effects of graded exercise and reflex cardiovascular stimulation. *J Appl Physiol* 1993;75(5):2217-23.
277. Levy MN. Sympathetic-parasympathetic interactions in the heart. *Circ Res* 1971;29(5):437-45.
278. Morady F, Kou WH, Nelson SD, et al. Accentuated antagonism between beta-adrenergic and vagal effects on ventricular refractoriness in humans. *Circulation* 1988;77(2):289-97.
279. Haynes RE, Hallstrom AP, Cobb LA. Repolarization abnormalities in survivors of out-of-hospital ventricular fibrillation. *Circulation* 1978;57(4):654-8.
280. Schwartz PJ, Wolf S. QT interval prolongation as predictor of sudden death in patients with myocardial infarction. *Circulation* 1978;57(6):1074-7.
281. Association AH. *Electrocardiographic textbook*; 1956.
282. Kissin M, Schwartzschild MM, Bakst H. A nomogram for rate correction of the QT interval in the electrocardiogram. *Am Heart J* 1948;35:990-2.
283. Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. *Circulation* 1993;88(2):782-4.
284. Pratt CM, Camm AJ, Cooper W, et al. Mortality in the Survival With ORal D-sotalol (SWORD) trial: why did patients die? *Am J Cardiol* 1998;81(7):869-76.
285. Drici MD, Knollmann BC, Wang WX, Woosley RL. Cardiac actions of erythromycin: influence of female sex. *Jama* 1998;280(20):1774-6.

286. Makkar RR, Fromm BS, Steinman RT, Meissner MD, Lehmann MH. Female gender as a risk factor for torsades de pointes associated with cardiovascular drugs. *Jama* 1993;270(21):2590-7.
287. Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS, et al. The long QT syndrome. Prospective longitudinal study of 328 families. *Circulation* 1991;84(3):1136-44.
288. Kawasaki R, Machado C, Reinhoehl J, et al. Increased propensity of women to develop torsades de pointes during complete heart block. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1995;6(11):1032-8.
289. Merri M, Benhorin J, Alberti M, Locati E, Moss AJ. Electrocardiographic quantitation of ventricular repolarization. *Circulation* 1989;80(5):1301-8.
290. Rautaharju PM, Zhou SH, Wong S, et al. Sex differences in the evolution of the electrocardiographic QT interval with age. *Can J Cardiol* 1992;8(7):690-5.
291. Kligfield P, Lax KG, Okin PM. QT interval-heart rate relation during exercise in normal men and women: definition by linear regression analysis. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(6):1547-55.
292. Stramba-Badiale M, Locati EH, Martinelli A, Courville J, Schwartz PJ. Gender and the relationship between ventricular repolarization and cardiac cycle length during 24-h Holter recordings. *Eur Heart J* 1997;18(6):1000-6.
293. Extramiana F, Maison-Blanche P, Badilini F, Pinoteau J, Deseo T, Coumel P. Circadian modulation of QT rate dependence in healthy volunteers: gender and age differences. *J Electrocardiol* 1999;32(1):33-43.
294. Smetana P, Batchvarov V, Hnatkova K, John Camm A, Malik M. Sex differences in the rate dependence of the T wave descending limb. *Cardiovasc Res* 2003;58(3):549-54.
295. Lehmann MH, Timothy KW, Frankovich D, et al. Age-gender influence on the rate-corrected QT interval and the QT-heart rate relation in families with genotypically characterized long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(1):93-9.
296. Hashiba K. Sex differences in phenotypic manifestation and gene transmission in the Romano-Ward syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1992;644:142-56.
297. Pony JC, Mattheyses M, Daubert JC, Fourdilis M, Gouffault J. [Familial long QT-syncope syndrome. 2 cases of Romano-Ward syndrome]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1977;70(10):1105-14.
298. Locati EH, Zareba W, Moss AJ, et al. Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry. *Circulation* 1998;97(22):2237-44.
299. Bidoggia H, Maciel JP, Capalozza N, et al. Sex differences on the electrocardiographic pattern of cardiac repolarization: possible role of testosterone. *Am Heart J* 2000;140(4):678-83.
300. Lehmann MH, Hardy S, Archibald D, quart B, MacNeil DJ. Sex difference in risk of torsade de pointes with d,l-sotalol. *Circulation* 1996;94(10):2535-41.
301. Hulot JS, Demolis JL, Riviere R, Strabach S, Christin-Maitre S, Funck-Brentano C. Influence of endogenous oestrogens on QT interval duration. *Eur Heart J* 2003;24(18):1663-7.
302. Rashba EJ, Zareba W, Moss AJ, et al. Influence of pregnancy on the risk for cardiac events in patients with hereditary long QT syndrome. *LQTS Investigators. Circulation* 1998;97(5):451-6.
303. Rodriguez I, Kilborn MJ, Liu XK, Pezzullo JC, Woosley RL. Drug-induced QT prolongation in women during the menstrual cycle. *Jama* 2001;285(10):1322-6.
304. McGill HC, Jr., Anselmo VC, Buchanan JM, Sheridan PJ. The heart is a target organ for androgen. *Science* 1980;207(4432):775-7.
305. McGill HC, Jr., Sheridan PJ. Nuclear uptake of sex steroid hormones in the cardiovascular system of the baboon. *Circ Res* 1981;48(2):238-44.

306. Stumpf WE, Sar M, Aumuller G. The heart: a target organ for estradiol. *Science* 1977;196(4287):319-21.
307. Grohe C, Kahlert S, Lobbert K, et al. Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors. *FEBS Lett* 1997;416(1):107-12.
308. Boyle MB, MacLusky NJ, Naftolin F, Kaczmarek LK. Hormonal regulation of K⁺-channel messenger RNA in rat myometrium during oestrus cycle and in pregnancy. *Nature* 1987;330(6146):373-5.
309. Pragnell M, Snay KJ, Trimmer JS, et al. Estrogen induction of a small, putative K⁺ channel mRNA in rat uterus. *Neuron* 1990;4(5):807-12.
310. Ishii K, Kano T, Ando J. Sex differences in [3H]nitrendipine binding and effects of sex steroid hormones in rat cardiac and cerebral membranes. *Jpn J Pharmacol* 1988;46(2):117-25.
311. Liu XK, Katchman A, Drici MD, et al. Gender difference in the cycle length-dependent QT and potassium currents in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;285(2):672-9.
312. Pham TV, Sosunov EA, Gainullin RZ, Danilo P, Jr., Rosen MR. Impact of sex and gonadal steroids on prolongation of ventricular repolarization and arrhythmias induced by i(k)-blocking drugs. *Circulation* 2001;103(17):2207-12.
313. Ebert SN, Liu XK, Woosley RL. Female gender as a risk factor for drug-induced cardiac arrhythmias: evaluation of clinical and experimental evidence. *J Womens Health* 1998;7(5):547-57.
314. Pham TV, Sosunov EA, Anyukhovskiy EP, Danilo P, Jr., Rosen MR. Testosterone diminishes the proarrhythmic effects of dofetilide in normal female rabbits. *Circulation* 2002;106(16):2132-6.
315. Drici MD, Burklow TR, Haridasse V, Glazer RI, Woosley RL. Sex hormones prolong the QT interval and downregulate potassium channel expression in the rabbit heart. *Circulation* 1996;94(6):1471-4.
316. Liu T, Choi BR, Drici MD, Salama G. Sex modulates the arrhythmogenic substrate in prepubertal rabbit hearts with Long QT 2. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16(5):516-24.
317. Hara M, Danilo P, Jr., Rosen MR. Effects of gonadal steroids on ventricular repolarization and on the response to E4031. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;285(3):1068-72.
318. Beato M, Chalepakidis G, Schauer M, Slater EP. DNA regulatory elements for steroid hormones. *J Steroid Biochem* 1989;32(5):737-47.
319. Johnson BD, Zheng W, Korach KS, Scheuer T, Catterall WA, Rubanyi GM. Increased expression of the cardiac L-type calcium channel in estrogen receptor-deficient mice. *J Gen Physiol* 1997;110(2):135-40.
320. Pham TV, Rosen MR. Sex, hormones, and repolarization. *Cardiovasc Res* 2002;53(3):740-51.
321. Alimurung MM, Joseph LG, Craige E, Massell BF. The Q-T interval in normal infants and children. *Circulation* 1949:1329-37.
322. Ashman R. The normal duration of the QT interval. *Am Heart J* 1942;23:522.
323. Mangoni AA, Kinirons MT, Swift CG, Jackson SH. Impact of age on QT interval and QT dispersion in healthy subjects: a regression analysis. *Age Ageing* 2003;32(3):326-31.
324. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. Role of external Ca²⁺ and K⁺ in gating of cardiac delayed rectifier K⁺ currents. *Pflugers Arch* 1992;420(2):180-6.
325. Numaguchi H, Johnson JP, Jr., Petersen CI, Balser JR. A sensitive mechanism for cation modulation of potassium current. *Nat Neurosci* 2000;3(5):429-30.
326. Yang T, Snyders DJ, Roden DM. Rapid inactivation determines the rectification and [K⁺]_o dependence of the rapid component of the delayed rectifier K⁺ current in cardiac cells. *Circ Res* 1997;80(6):782-9.

327. Yang T, Roden DM. Extracellular potassium modulation of drug block of IKr. Implications for torsade de pointes and reverse use-dependence. *Circulation* 1996;93(3):407-11.
328. Van Mieghem C, Sabbe M, Knockaert D. The clinical value of the ECG in noncardiac conditions. *Chest* 2004;125(4):1561-76.
329. Oppenheimer SM, Cechetto DF, Hachinski VC. Cerebrogenic cardiac arrhythmias. Cerebral electrocardiographic influences and their role in sudden death. *Arch Neurol* 1990;47(5):513-9.
330. Di Pasquale G, Pinelli G, Andreoli A, Manini GL, Grazi P, Tognetti F. Torsade de pointes and ventricular flutter-fibrillation following spontaneous cerebral subarachnoid hemorrhage. *Int J Cardiol* 1988;18(2):163-72.
331. Dixit S, Castle M, Velu RP, Swisher L, Hodge C, Jaffe AS. Cardiac involvement in patients with acute neurologic disease: confirmation with cardiac troponin I. *Arch Intern Med* 2000;160(20):3153-8.
332. Tokgozoglu SL, Batur MK, Top uoglu MA, Saribas O, Kes S, Oto A. Effects of stroke localization on cardiac autonomic balance and sudden death. *Stroke* 1999;30(7):1307-11.
333. Valeriano J, Elson J. Electrocardiographic changes in central nervous system disease. *Neurol Clin* 1993;11(2):257-72.
334. Pine DS, Tierney L, Jr. Clinical problem-solving. A stressful interaction. *N Engl J Med* 1996;334(23):1530-4.
335. Drouin E, Nataf S, Lande G, Louboutin JP. Abnormalities of cardiac repolarization in multiple sclerosis: relationship with a model of allergic encephalomyelitis in rat. *Muscle Nerve* 1998;21(7):940-2.
336. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001;344(7):501-9.
337. Walker JD, Crawford FA, Kato S, Spinale FG. The novel effects of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine on myocyte contractile function and beta-adrenergic responsiveness in dilated cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108(4):672-9.
338. Roden DM, Viswanathan PC. Genetics of acquired long QT syndrome. *J Clin Invest* 2005;115(8):2025-32.
339. Asami T, Suzuki H, Yazaki S, Sato S, Uchiyama M. Effects of thyroid hormone deficiency on electrocardiogram findings of congenitally hypothyroid neonates. *Thyroid* 2001;11(8):765-8.
340. Fredlund BO, Olsson SB. Long QT interval and ventricular tachycardia of "torsade de pointe" type in hypothyroidism. *Acta Med Scand* 1983;213(3):231-5.
341. Sarma JS, Venkataraman K, Nicod P, et al. Circadian rhythmicity of rate-normalized QT interval in hypothyroidism and its significance for development of class III antiarrhythmic agents. *Am J Cardiol* 1990;66(12):959-63.
342. Bosch RF, Wang Z, Li GR, Nattel S. Electrophysiological mechanisms by which hypothyroidism delays repolarization in guinea pig hearts. *Am J Physiol* 1999;277(1 Pt 2):H211-20.
343. Eiferman C, Chanson P, Cohen A, Lubetzki J. Torsade de pointes and Q-T prolongation in secondary hypothyroidism. *Lancet* 1988;2(8603):170-1.
344. Kumar A, Bhandari AK, Rahimtoola SH. Torsade de pointes and marked QT prolongation in association with hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1987;106(5):712-3.
345. Le Bouter S, Demolombe S, Chambellan A, et al. Microarray analysis reveals complex remodeling of cardiac ion channel expression with altered thyroid status: relation to cellular and integrated electrophysiology. *Circ Res* 2003;92(2):234-42.
346. Saadeh AM, Farsakh NA, al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart* 1997;77(5):461-4.

347. Vahter M, Concha G. Role of metabolism in arsenic toxicity. *Pharmacol Toxicol* 2001;89(1):1-5.
348. Hanley PC, Holmes DR, Jr., Julsrud PR, Smith HC. Use of conventional and newer radiographic contrast agents in cardiac angiography. *Prog Cardiovasc Dis* 1986;28(6):435-48.
349. Gussak I, Antzelevitch C, Bjerregaard P. ECG phenomena of the early ventricular repolarization. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:407-25.
350. Mattu A, Brady WJ, Perron AD. Electrocardiographic manifestations of hypothermia. *Am J Emerg Med* 2002;20(4):314-26.
351. Solomon A, Barish RA, Browne B, Tso E. The electrocardiographic features of hypothermia. *J Emerg Med* 1989;7(2):169-73.
352. MacKenzie MA, Aengevaeren WR, van der Werf T, Hermus AR, Kloppenborg PW. Effects of steady hypothermia and normothermia on the electrocardiogram in human poikilothermia. *Arctic Med Res* 1991;50 Suppl 6:67-70.
353. Zhang S, Rajamani S, Chen Y, et al. Cocaine blocks HERG, but not KvLQT1+minK, potassium channels. *Mol Pharmacol* 2001;59(5):1069-76.
354. Guo J, Gang H, Zhang S. Molecular determinants of cocaine block of hERG potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 2006.
355. Singh N, Singh HK, Singh PP, Khan IA. Cocaine-induced torsades de pointes in idiopathic long Q-T syndrome. *Am J Ther* 2001;8(4):299-302.
356. Kuczkowski KM. Crack cocaine-induced long QT interval syndrome in a parturient with recreational cocaine use. *Ann Fr Anesth Reanim* 2005;24(6):697-8.
357. Bauman JL, DiDomenico RJ. Cocaine-induced channelopathies: emerging evidence on the multiple mechanisms of sudden death. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002;7(3):195-202.
358. Sticherling C, Schaer BA, Ammann P, Maeder M, Osswald S. Methadone-induced Torsade de pointes tachycardias. *Swiss Med Wkly* 2005;135(19-20):282-5.
359. Katchman AN, McGroary KA, Kilborn MJ, et al. Influence of opioid agonists on cardiac human ether-a-go-go-related gene K(+) currents. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;303(2):688-94.
360. Eap CB, Buclin T, Baumann P. Interindividual variability of the clinical pharmacokinetics of methadone: implications for the treatment of opioid dependence. *Clin Pharmacokinet* 2002;41(14):1153-93.
361. Kocheril AG, Bokhari SA, Batsford WP, Sinusas AJ. Long QTc and torsades de pointes in human immunodeficiency virus disease. *Pacing Clin Electrophysiol* 1997;20(11):2810-6.
362. Gonzalez A, Sager PT, Akil B, Rahimtoola SH, Bhandari AK. Pentamidine-induced torsade de pointes. *Am Heart J* 1991;122(5):1489-92.
363. Fantoni M, Autore C, Del Borgo C. Drugs and cardiotoxicity in HIV and AIDS. *Ann N Y Acad Sci* 2001;946:179-99.
364. Anson BD, Weaver JG, Ackerman MJ, et al. Blockade of HERG channels by HIV protease inhibitors. *Lancet* 2005;365(9460):682-6.
365. Bellavere F, Ferri M, Guarini L, et al. Prolonged QT period in diabetic autonomic neuropathy: a possible role in sudden cardiac death? *Br Heart J* 1988;59(3):379-83.
366. Coumel P, Johnson N, Extramiana F, Maison-Blanche P, Valensi P. [Electrocardiographic changes and rhythm problems in the diabetic]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2000;93 Spec No 4:59-66.
367. Fisler JS. Cardiac effects of starvation and semistarvation diets: safety and mechanisms of action. *Am J Clin Nutr* 1992;56(1 Suppl):230S-4S.

368. Isner JM, Sours HE, Paris AL, Ferrans VJ, Roberts WC. Sudden, unexpected death in avid dieters using the liquid-protein-modified-fast diet. Observations in 17 patients and the role of the prolonged QT interval. *Circulation* 1979;60(6):1401-12.
369. Singh BN, Gaarder TD, Kanegae T, Goldstein M, Montgomerie JZ, Mills H. Liquid protein diets and torsade de pointes. *Jama* 1978;240(2):115-9.
370. Kleber AG, Janse MJ. Ischemia-related changes in repolarization. In: Gussak I, Antzelevitch C, eds. *Cardiac repolarization Bridging basic and clinical science*. Totowa, NJ.: Humana Press; 2003:153-67.
371. Griffin J, Most AS. Torsade de pointes complicating acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1984;107(1):169-70.
372. Halkin A, Roth A, Lurie I, Fish R, Belhassen B, Viskin S. Pause-dependent torsade de pointes following acute myocardial infarction: a variant of the acquired long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2001;38(4):1168-74.
373. Denney SD, Lakkireddy DR, Khan IA. Long QT syndrome and torsade de pointes in transient left ventricular apical ballooning syndrome. *Int J Cardiol* 2005;100(3):499-501.
374. Tomaselli GF, Marban E. Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res* 1999;42(2):270-83.
375. Roshan J, George OK, Vineet S, George PV, Jose VJ. Torsade de pointes in a case of pheochromocytoma--an unusual presentation of an uncommon disease. *Indian Heart J* 2004;56(3):248-9.
376. Viskin S, Fish R, Roth A, Schwartz PJ, Belhassen B. Clinical problem-solving. QT or not QT? *N Engl J Med* 2000;343(5):352-6.
377. Mayer AG. Rhythmical pulsations in scyphomedusae. *Carnegie Institute* 1906;Publication 47:1-62.
378. Mines GR. On circulating excitation in heart muscles and their possible relation to tachycardia and fibrillation. *Trans R Soc Can* 1914;8:43-52.
379. Imanishi S, Surawicz B. Automatic activity in depolarized guinea pig ventricular myocardium. Characteristics and mechanisms. *Circ Res* 1976;39(6):751-9.
380. Dangman KH, Hoffman BF. Studies on overdrive stimulation of canine cardiac Purkinje fibers: maximal diastolic potential as a determinant of the response. *J Am Coll Cardiol* 1983;2(6):1183-90.
381. Katzung BG, Morgenstern JA. Effects of extracellular potassium on ventricular automaticity and evidence for a pacemaker current in mammalian ventricular myocardium. *Circ Res* 1977;40(1):105-11.
382. Janse MJ, van Capelle FJ. Electrotonic interactions across an inexcitable region as a cause of ectopic activity in acute regional myocardial ischemia. A study in intact porcine and canine hearts and computer models. *Circ Res* 1982;50(4):527-37.
383. Rosen MR, Reder RF. Does triggered activity have a role in the genesis of cardiac arrhythmias? *Ann Intern Med* 1981;94(6):794-801.
384. Wit AL, Rosen MR. Pathophysiologic mechanisms of cardiac arrhythmias. *Am Heart J* 1983;106(4 Pt 2):798-811.
385. Cranefield PF. Action potentials, afterpotentials, and arrhythmias. *Circ Res* 1977;41(4):415-23.
386. Coraboeuf E, Deroubaix E, Coulombe A. Acidosis-induced abnormal repolarization and repetitive activity in isolated dog Purkinje fibers. *J Physiol (Paris)* 1980;76(2):97-106.
387. Charpentier F, Drouin E, Gauthier C, Le Marec H. Early after/depolarizations and triggered activity: mechanisms and autonomic regulation. *Fundam Clin Pharmacol* 1993;7(1):39-49.
388. Antzelevitch C, Sicouri S. Clinical relevance of cardiac arrhythmias generated by afterdepolarizations. Role of M cells in the generation of U waves, triggered activity and torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1994;23(1):259-77.

389. Priori SG, Corr PB. Mechanisms underlying early and delayed afterdepolarizations induced by catecholamines. *Am J Physiol* 1990;258(6 Pt 2):H1796-805.
390. Emori T, Antzelevitch C. Cellular basis for complex T waves and arrhythmic activity following combined I(Kr) and I(Ks) block. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001;12(12):1369-78.
391. Burashnikov A, Antzelevitch C. Acceleration-induced action potential prolongation and early afterdepolarizations. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;9(9):934-48.
392. El-Sherif N, Chinushi M, Caref EB, Restivo M. Electrophysiological mechanism of the characteristic electrocardiographic morphology of torsade de pointes tachyarrhythmias in the long-QT syndrome: detailed analysis of ventricular tridimensional activation patterns. *Circulation* 1997;96(12):4392-9.
393. Roden DM, Hoffman BF. Action potential prolongation and induction of abnormal automaticity by low quinidine concentrations in canine Purkinje fibers. Relationship to potassium and cycle length. *Circ Res* 1985;56(6):857-67.
394. Sicouri S, Antzelevitch C. Afterdepolarizations and triggered activity develop in a select population of cells (M cells) in canine ventricular myocardium: the effects of acetylcholine and Bay K 8644. *Pacing Clin Electrophysiol* 1991;14(11 Pt 2):1714-20.
395. Rosen MR, Gelband H, Merker C, Hoffman BF. Mechanisms of digitalis toxicity. Effects of ouabain on phase four of canine Purkinje fiber transmembrane potentials. *Circulation* 1973;47(4):681-9.
396. Burashnikov A, Antzelevitch C. Block of I(Ks) does not induce early afterdepolarization activity but promotes beta-adrenergic agonist-induced delayed afterdepolarization activity. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000;11(4):458-65.
397. Brachmann J, Scherlag BJ, Rosenshtraukh LV, Lazzara R. Bradycardia-dependent triggered activity: relevance to drug-induced multiform ventricular tachycardia. *Circulation* 1983;68(4):846-56.
398. Shimizu W, Ohe T, Kurita T, et al. Early afterdepolarizations induced by isoproterenol in patients with congenital long QT syndrome. *Circulation* 1991;84(5):1915-23.
399. Asano Y, Davidenko JM, Baxter WT, Gray RA, Jalife J. Optical mapping of drug-induced polymorphic arrhythmias and torsade de pointes in the isolated rabbit heart. *J Am Coll Cardiol* 1997;29(4):831-42.
400. Van Hemel NM, Swenne CA, De Bakker JM, Defauw JJ, Guiraudon GM. Epicardial reflection as a cause of incessant ventricular bigeminy. *Pacing Clin Electrophysiol* 1988;11(7):1036-44.
401. Antzelevitch C, Jalife J, Moe GK. Characteristics of reflection as a mechanism of reentrant arrhythmias and its relationship to parasystole. *Circulation* 1980;61(1):182-91.
402. Antzelevitch C, Moe GK. Electrotonically mediated delayed conduction and reentry in relation to "slow responses" in mammalian ventricular conducting tissue. *Circ Res* 1981;49(5):1129-39.
403. Schmitt FO, Erlanger J. Directional differences in the conduction of the impulse through heart muscle and their possible relation to extrasystolic and fibrillary contractions. *Am J Physiol* 1928;87:326-47.
404. Cranefield PF, Hoffman BF. Conduction of the cardiac impulse. II. Summation and inhibition. *Circ Res* 1971;28(2):220-33.
405. Cranefield PF, Klein HO, Hoffman BF. Conduction of the cardiac impulse. 1. Delay, block, and one-way block in depressed Purkinje fibers. *Circ Res* 1971;28(2):199-219.
406. Sasyniuk BI, Mendez C. A mechanism for reentry in canine ventricular tissue. *Circ Res* 1971;28(1):3-15.
407. Garrey WE. Auricular fibrillation. *Physiol Rev* 1924;4:215-50.
408. Wiener N, Rosenblueth A. The mathematical formulation of the problem of conduction of impulses in a network of connected excitable elements, specifically in cardiac muscle. *Arch Inst Cardiol Mex* 1946;16:1.

409. Allesie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circ Res* 1973;33(1):54-62.
410. Allesie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II. The role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block, as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res* 1976;39(2):168-77.
411. Allesie MA, Bonke FI, Schopman FJ. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. III. The "leading circle" concept: a new model of circus movement in cardiac tissue without the involvement of an anatomical obstacle. *Circ Res* 1977;41(1):9-18.
412. el-Sherif N. Reentry revisited. *Pacing Clin Electrophysiol* 1988;11(9):1358-68.
413. Welch W. Three-dimensional chemical waves in the Belousov-Zhabotinski reaction. *Nature* 1983;304:611-4.
414. Luo CH, Rudy Y. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I. Simulations of ionic currents and concentration changes. *Circ Res* 1994;74(6):1071-96.
415. Wellner M, Berenfeld O. Theory of reentry. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:317-26.
416. Fast VG, Pertsov AM. Drift of a vortex in the myocardium. *Biophysics* 1990;35:489-94.
417. Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A Computer Model of Atrial Fibrillation. *Am Heart J* 1964;67:200-20.
418. Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z, Chen PS. Chaos and the transition to ventricular fibrillation: a new approach to antiarrhythmic drug evaluation. *Circulation* 1999;99(21):2819-26.
419. Chen J, Mandapati R, Berenfeld O, Skanes AC, Jalife J. High-frequency periodic sources underlie ventricular fibrillation in the isolated rabbit heart. *Circ Res* 2000;86(1):86-93.
420. Winfree AT, Strogatz SH. Organizing centres for three-dimensional chemical waves. *Nature* 1984;311(5987):611-5.
421. Davidenko JM. Spiral wave activity: a possible common mechanism for polymorphic and monomorphic ventricular tachycardias. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4(6):730-46.
422. Eckardt L, Haverkamp W, Borggrefe M, Breithardt G. Experimental models of torsade de pointes. *Cardiovasc Res* 1998;39(1):178-93.
423. D'Alnoncourt CN, Zierhut W, Bluderitz B. "Torsade de pointes" tachycardia. Re-entry or focal activity? *Br Heart J* 1982;48(3):213-6.
424. Abildskov JA, Lux RL. Mechanisms in simulated torsade de pointes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4(5):547-60.
425. Abildskov JA, Lux RL. Mechanisms in adrenergic dependent onset of torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1997;20(1 Pt 1):88-94.
426. Antzelevitch C. Drug-induced channelopathies. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:151-7.
427. Crampton R. Preeminence of the left stellate ganglion in the long Q-T syndrome. *Circulation* 1979;59(4):769-78.
428. Schwartz PJ. Idiopathic long QT syndrome: progress and questions. *Am Heart J* 1985;109(2):399-411.
429. Zipes DP. The long QT interval syndrome. A Rosetta stone for sympathetic related ventricular tachyarrhythmias. *Circulation* 1991;84(3):1414-9.

430. Shimizu W, Antzelevitch C. Sodium channel block with mexiletine is effective in reducing dispersion of repolarization and preventing torsade des pointes in LQT2 and LQT3 models of the long-QT syndrome. *Circulation* 1997;96(6):2038-47.
431. Shimizu W, Antzelevitch C. Differential effects of beta-adrenergic agonists and antagonists in LQT1, LQT2 and LQT3 models of the long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(3):778-86.
432. Chezalviel-Guilbert F, Davy JM, Poirier JM, Weissenburger J. Mexiletine antagonizes effects of sotalol on QT interval duration and its proarrhythmic effects in a canine model of torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1995;26(3):787-92.
433. Levine JH, Spear JF, Guarnieri T, et al. Cesium chloride-induced long QT syndrome: demonstration of afterdepolarizations and triggered activity in vivo. *Circulation* 1985;72(5):1092-103.
434. Nayeypour M, Solymoss BC, Nattel S. Cardiovascular and metabolic effects of caesium chloride injection in dogs--limitations as a model for the long QT syndrome. *Cardiovasc Res* 1989;23(9):756-66.
435. el-Sherif N, Zeiler RH, Craelius W, Gough WB, Henkin R. QTU prolongation and polymorphic ventricular tachyarrhythmias due to bradycardia-dependent early afterdepolarizations. Afterdepolarizations and ventricular arrhythmias. *Circ Res* 1988;63(2):286-305.
436. Millar CK, Kralios FA, Lux RL. Correlation between refractory periods and activation-recovery intervals from electrograms: effects of rate and adrenergic interventions. *Circulation* 1985;72(6):1372-9.
437. Sicouri S, Antzelevitch C. Electrophysiologic characteristics of M cells in the canine left ventricular free wall. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1995;6(8):591-603.
438. Fast VG, Kleber AG. Cardiac tissue geometry as a determinant of unidirectional conduction block: assessment of microscopic excitation spread by optical mapping in patterned cell cultures and in a computer model. *Cardiovasc Res* 1995;29(5):697-707.
439. Bardy GH, Ungerleider RM, Smith WM, Ideker RE. A mechanism of torsades de pointes in a canine model. *Circulation* 1983;67(1):52-9.
440. Cranefield PF, Aronson RS. Torsade de pointes and other pause-induced ventricular tachycardias: the short-long-short sequence and early afterdepolarizations. *Pacing Clin Electrophysiol* 1988;11(6 Pt 1):670-8.
441. Vos MA, Verduyn SC, Gorgels AP, Lipcsei GC, Wellens HJ. Reproducible induction of early afterdepolarizations and torsade de pointes arrhythmias by d-sotalol and pacing in dogs with chronic atrioventricular block. *Circulation* 1995;91(3):864-72.
442. Batey AJ, Coker SJ. Proarrhythmic potential of halofantrine, terfenadine and clofilium in a modified in vivo model of torsade de pointes. *Br J Pharmacol* 2002;135(4):1003-12.
443. Farkas A, Lepran I, Papp JG. Proarrhythmic effects of intravenous quinidine, amiodarone, D-sotalol, and almokalant in the anesthetized rabbit model of torsade de pointes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39(2):287-97.
444. Carlsson L, Almgren O, Duker G. QTU-prolongation and torsades de pointes induced by putative class III antiarrhythmic agents in the rabbit: etiology and interventions. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16(2):276-85.
445. Carlsson L, Abrahamsson C, Drews L, Duker G. Antiarrhythmic effects of potassium channel openers in rhythm abnormalities related to delayed repolarization. *Circulation* 1992;85(4):1491-500.
446. Carlsson L, Drews L, Duker G, Schiller-Linhardt G. Attenuation of proarrhythmias related to delayed repolarization by low-dose lidocaine in the anesthetized rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;267(3):1076-80.
447. Mukherjee A, Haghani Z, Brady J, et al. Differences in myocardial alpha- and beta-adrenergic receptor numbers in different species. *Am J Physiol* 1983;245(6):H957-61.

448. Charpentier F, Demolombe S, Escande D. Cardiac channelopathies: from men to mice. *Ann Med* 2004;36 Suppl 1:28-34.
449. Nerbonne JM, Nichols CG, Schwarz TL, Escande D. Genetic manipulation of cardiac K(+) channel function in mice: what have we learned, and where do we go from here? *Circ Res* 2001;89(11):944-56.
450. Nerbonne JM. Studying cardiac arrhythmias in the mouse--a reasonable model for probing mechanisms? *Trends Cardiovasc Med* 2004;14(3):83-93.
451. Guo W, Xu H, London B, Nerbonne JM. Molecular basis of transient outward K⁺ current diversity in mouse ventricular myocytes. *J Physiol* 1999;521 Pt 3:587-99.
452. Lee MP, Ravenel JD, Hu RJ, et al. Targeted disruption of the *Kvlqt1* gene causes deafness and gastric hyperplasia in mice. *J Clin Invest* 2000;106(12):1447-55.
453. Demolombe S, Franco D, de Boer P, et al. Differential expression of KvLQT1 and its regulator *IsK* in mouse epithelia. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280(2):C359-72.
454. Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with the prolongation of the Q-T interval, and sudden death. *Am Heart J* 1957;54:59-68.
455. Casimiro MC, Knollmann BC, Ebert SN, et al. Targeted disruption of the *Kcnq1* gene produces a mouse model of Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(5):2526-31.
456. Babij P, Askew GR, Nieuwenhuijsen B, et al. Inhibition of cardiac delayed rectifier K⁺ current by overexpression of the long-QT syndrome HERG G628S mutation in transgenic mice. *Circ Res* 1998;83(6):668-78.
457. Dumaine R, Wang Q, Keating MT, et al. Multiple mechanisms of Na⁺ channel--linked long-QT syndrome. *Circ Res* 1996;78(5):916-24.
458. Nuyens D, Stengl M, Dugarmaa S, et al. Abrupt rate accelerations or premature beats cause life-threatening arrhythmias in mice with long-QT3 syndrome. *Nat Med* 2001;7(9):1021-7.
459. Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, et al. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature* 2003;421(6923):634-9.
460. Vetter DE, Mann JR, Wangemann P, et al. Inner ear defects induced by null mutation of the *isk* gene. *Neuron* 1996;17(6):1251-64.
461. Schulze-Bahr E, Wang Q, Wedekind H, et al. KCNE1 mutations cause jervell and Lange-Nielsen syndrome [letter]. *Nat Genet* 1997;17(3):267-8.
462. Kupersmidt S, Yang T, Anderson ME, et al. Replacement by homologous recombination of the *minK* gene with *lacZ* reveals restriction of *minK* expression to the mouse cardiac conduction system. *Circ Res* 1999;84(2):146-52.
463. Franco D, Demolombe S, Kupersmidt S, et al. Divergent expression of delayed rectifier K(+) channel subunits during mouse heart development. *Cardiovasc Res* 2001;52(1):65-75.
464. Plaster NM, Tawil R, Tristani-Firouzi M, et al. Mutations in *Kir2.1* cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome. *Cell* 2001;105(4):511-9.
465. Zaritsky JJ, Redell JB, Tempel BL, Schwarz TL. The consequences of disrupting cardiac inwardly rectifying K(+) current (*I*(K1)) as revealed by the targeted deletion of the murine *Kir2.1* and *Kir2.2* genes. *J Physiol* 2001;533(Pt 3):697-710.
466. Lande G, Demolombe S, Bammert A, Moorman A, Charpentier F, Escande D. Transgenic mice overexpressing human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part II: Pharmacological profile. *Cardiovasc Res* 2001;50(2):328-34.
467. Ng WA, Grupp IL, Subramaniam A, Robbins J. Cardiac myosin heavy chain mRNA expression and myocardial function in the mouse heart. *Circ Res* 1991;68(6):1742-50.
468. Palermo J, Gulick J, Colbert M, Fewell J, Robbins J. Transgenic remodeling of the contractile apparatus in the mammalian heart. *Circ Res* 1996;78(3):504-9.

469. Yu Z, Redfern CS, Fishman GI. Conditional transgene expression in the heart. *Circ Res* 1996;79(4):691-7.
470. Zaritsky JJ, Eckman DM, Wellman GC, Nelson MT, Schwarz TL. Targeted disruption of Kir2.1 and Kir2.2 genes reveals the essential role of the inwardly rectifying K(+) current in K(+)-mediated vasodilation. *Circ Res* 2000;87(2):160-6.
471. Schwartz PJ, Periti M, Malliani A. The long Q-T syndrome. *Am Heart J* 1975;89(3):378-90.
472. Schwartz PJ, Malliani A. Electrical alternation of the T-wave: clinical and experimental evidence of its relationship with the sympathetic nervous system and with the long Q-T syndrome. *Am Heart J* 1975;89(1):45-50.
473. Moise NS, Meyers-Wallen V, Flahive WJ, et al. Inherited ventricular arrhythmias and sudden death in German shepherd dogs. *J Am Coll Cardiol* 1994;24(1):233-43.
474. Moise NS, Riccio ML, Kornreich B, Flahive WJ, Jr., Gilmour RF, Jr. Age dependence of the development of ventricular arrhythmias in a canine model of sudden cardiac death. *Cardiovasc Res* 1997;34(3):483-92.
475. Merot J, Probst V, Debailleul M, et al. Electropharmacological characterization of cardiac repolarization in German shepherd dogs with an inherited syndrome of sudden death: abnormal response to potassium channel blockers. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(3):939-47.
476. Gilmour RF, Jr., Moise NS. Triggered activity as a mechanism for inherited ventricular arrhythmias in German shepherd Dogs. *J Am Coll Cardiol* 1996;27(6):1526-33.
477. Dae MW, Lee RJ, Ursell PC, Chin MC, Stillson CA, Moise NS. Heterogeneous sympathetic innervation in German shepherd dogs with inherited ventricular arrhythmia and sudden cardiac death. *Circulation* 1997;96(4):1337-42.
478. Leenhardt A, Glaser E, Burguera M, Nurnberg M, Maison-Blanche P, Coumel P. Short-coupled variant of torsade de pointes. A new electrocardiographic entity in the spectrum of idiopathic ventricular tachyarrhythmias. *Circulation* 1994;89(1):206-15.
479. Coumel P, Leclercq JF, Lucet V. Possible mechanisms of the arrhythmias in the long QT syndrome. *Eur Heart J* 1985;6 Suppl D:115-29.
480. Coumel P. Cardiac arrhythmias and the autonomic nervous system. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4(3):338-55.
481. Einthoven W. Über die Deutung des Elektrokardiogramms. *Pflügers Arch* 1912;194:65-86.
482. Ritsema van Eck HJ, Kors JA, van Herpen G. The U wave in the electrocardiogram: a solution for a 100-year-old riddle. *Cardiovasc Res* 2005;67(2):256-62.
483. el-Sherif N, Bekheit SS, Henkin R. Quinidine-induced long QTU interval and torsade de pointes: role of bradycardia-dependent early afterdepolarizations. *J Am Coll Cardiol* 1989;14(1):252-7.
484. Habbab MA, el-Sherif N. TU alternans, long QTU, and torsade de pointes: clinical and experimental observations. *Pacing Clin Electrophysiol* 1992;15(6):916-31.
485. Zhou JT, Zheng LR, Liu WY. Role of early afterdepolarization in familial long QTU syndrome and torsade de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1992;15(11 Pt 2):2164-8.
486. Viskin S, Heller K, Barron HV, et al. Postextrasystolic U wave augmentation, a new marker of increased arrhythmic risk in patients without the long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(7):1746-52.
487. Lehmann MH, Suzuki F, Fromm BS, et al. T wave "humps" as a potential electrocardiographic marker of the long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1994;24(3):746-54.
488. Lepschkin E, Surawicz B. The duration of the Q-U interval and its components in electrocardiograms of normal persons. *Am Heart J* 1953;46(NIF):9-29.
489. Lepschkin E. The U wave on the electrocardiogram. *Arch Intern Med* 1955;96(NIF):600-17.

490. Surawicz B. U wave: facts, hypotheses, misconceptions, and misnomers. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998;9(10):1117-28.
491. Daoud FS, Surawicz B, Gettes LS. Effect of isoproterenol on the abnormal T wave. *Am J Cardiol* 1972;30(8):810-9.
492. Lazzara R. The U wave and the M cell [editorial; comment]. *J Am Coll Cardiol* 1995;26(1):193-4.
493. Segers M. Le rôle des potentiels tardifs du cœur. *Mem Acac R Med Belg* 1941;1:1-30.
494. Watanabe Y, De Azevedo JM. Electrocardiographic correlation of bundle branch block and the U wave. *J Electrocardiol* 1979;6(NIF):215-20.
495. Kishida H, Cole JS, Surawicz B. Negative U wave: a highly specific but poorly understood sign of heart disease. *Am J Cardiol* 1982;49(8):2030-6.
496. Furbetta D, Bufalari A, Santucci F, Solinas P. Abnormalities of the U wave and the T-U segment of the electrocardiogram: the syndrome of the papillary muscle. *Circulation* 1956;14:1129-37.
497. Nesterenko VV, Antzelevitch C. Simulation of the electrocardiographic U wave in the heterogeneous myocardium: effect of local junctional resistance. In: *Proceedings of Computers in Cardiology*. Los Alamitos (CA): IEEE Computer Society Press; 1992:43-6.
498. Corabœuf E, Distel R, Boistel J. Potentiels cellulaires des tissus conducteurs et musculaires du cœur de mammifère. *C R Soc Biol (Paris)* 1953;147:1757-68.
499. Hoffman BF, Cranefield PF. *Electrophysiology of the heart*. New-York: McGraw-Hill; 1960.
500. Watanabe Y. Purkinje repolarization as a possible cause of the U wave in the electrocardiogram. *Circulation* 1975;51(6):1030-7.
501. Nahum LH, Hoff HE. The interpretation of the U wave of the electrocardiogram. *Am Heart J* 1939;17:585-98.
502. Lepeschkin E. The U wave of the electrocardiogram. *Circulation* 1957;15:68-110.
503. Bonatti V, Rolli A, Botti G. Recording of monophasic action potentials of the right ventricle in long QT syndromes complicated by severe ventricular arrhythmias. *Eur Heart J* 1983;4(3):168-79.
504. Lab MJ. Contraction-excitation feedback in myocardium. Physiological basis and clinical relevance. *Circ Res* 1982;50(6):757-66.
505. Reiter MJ. Contraction-excitation feedback. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. third ed. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2000:249-55.
506. Morris CE. Mechanosensitive ion channels. *J Membr Biol* 1990;113(2):93-107.
507. Yang XC, Sachs F. Block of stretch-activated ion channels in *Xenopus* oocytes by gadolinium and calcium ions. *Science* 1989;243(4894 Pt 1):1068-71.
508. Wang Z, Mitsuiye T, Noma A. Cell distension-induced increase of the delayed rectifier K⁺ current in guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1996;78(3):466-74.
509. Dudel J, Trautwein W. Das Aktionspotential und Mechanogramm des Herzmuskels unter dem Einfluss der Dehnung. *Cardiologia* 1954;25:344-62.
510. Lerman BB, Burkhoff D, Yue DT, Franz MR, Sagawa K. Mechanoelectrical feedback: independent role of preload and contractility in modulation of canine ventricular excitability. *J Clin Invest* 1985;76(5):1843-50.
511. Fu LT, Takahashi N, Yamamoto M, Kuboki M, Koyama S. Handgrip-induced negative U-wave in electrocardiogram of hypertensive subjects. *Jpn Heart J* 1981;22(1):59-73.
512. Choo MH, Gibson DG. U waves in ventricular hypertrophy: possible demonstration of mechano- electrical feedback. *Br Heart J* 1986;55(5):428-33.
513. Meissner FL. *Taubstummheit und Taubstummtenbildung*. Leipzig and Heidelberg: Winter; 1856.

514. Morquio L. Sur une maladie infantile et familiale caracterisee par des modifications permanentes du pouls, des attaques syncopales et epileptiformes et al mort subite. *Arch Med Inf* 1901;4:467-75.
515. Latham A, Munro TA. Familial myoclonus epilepsy associated with deaf mutism in a family showing other psychobiological abnormalities. *Ann Eugen Lond* 1937;8:166ff.
516. Yanowitz F, Preston JB, Abildskov JA. Functional distribution of right and left stellate innervation to the ventricles. Production of neurogenic electrocardiographic changes by unilateral alteration of sympathetic tone. *Circ Res* 1966;18(4):416-28.
517. Moss AJ, McDonald J. Unilateral cervicothoracic sympathetic ganglionectomy for the treatment of long QT interval syndrome. *N Engl J Med* 1971;285(16):903-4.
518. Keating M, Atkinson D, Dunn C, Timothy K, Vincent GM, Leppert M. Linkage of a cardiac arrhythmia, the long QT syndrome, and the Harvey ras-1 gene. *Science* 1991;252(5006):704-6.
519. Schott JJ, Charpentier F, Peltier S, et al. Mapping of a gene for long QT syndrome to chromosome 4q25-27. *Am J Hum Genet* 1995;57(5):1114-22.
520. Finlayson K, Witchel HJ, McCulloch J, Sharkey J. Acquired QT interval prolongation and HERG: implications for drug discovery and development. *Eur J Pharmacol* 2004;500(1-3):129-42.
521. Sherman J, Tester DJ, Ackerman MJ. Targeted mutational analysis of ankyrin-B in 541 consecutive, unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing and 200 healthy subjects. *Heart Rhythm* 2005;2(11):1218-23.
522. Splawski I, Shen J, Timothy KW, et al. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation* 2000;102(10):1178-85.
523. de Jager T, Corbett CH, Badenhorst JC, Brink PA, Corfield VA. Evidence of a long QT founder gene with varying phenotypic expression in South African families. *J Med Genet* 1996;33(7):567-73.
524. Neyroud N, Tesson F, Denjoy I, et al. A novel mutation in the potassium channel gene KVLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome [see comments]. *Nat Genet* 1997;15(2):186-9.
525. Li H, Chen Q, Moss AJ, et al. New mutations in the KVLQT1 potassium channel that cause long-QT syndrome. *Circulation* 1998;97(13):1264-9.
526. Murray A, Donger C, Fenske C, et al. Splicing mutations in KCNQ1: a mutation hot spot at codon 344 that produces in frame transcripts. *Circulation* 1999;100(10):1077-84.
527. Huang L, Bitner-Glindzicz M, Tranebjaerg L, Tinker A. A spectrum of functional effects for disease causing mutations in the Jervell and Lange-Nielsen syndrome. *Cardiovasc Res* 2001;51(4):670-80.
528. Splawski I, Tristani-Firouzi M, Lehmann MH, Sanguinetti MC, Keating MT. Mutations in the hminK gene cause long QT syndrome and suppress IKs function. *Nat Genet* 1997;17(3):338-40.
529. Mohammad-Panah R, Demolombe S, Neyroud N, et al. Mutations in a dominant-negative isoform correlate with phenotype in inherited cardiac arrhythmias. *Am J Hum Genet* 1999;64(4):1015-23.
530. Bianchi L, Shen Z, Dennis AT, et al. Cellular dysfunction of LQT5-minK mutants: abnormalities of IKs, IKr and trafficking in long QT syndrome. *Hum Mol Genet* 1999;8(8):1499-507.
531. Franqueza L, Lin M, Shen J, Splawski I, Keating MT, Sanguinetti MC. Long QT syndrome-associated mutations in the S4-S5 linker of KvLQT1 potassium channels modify gating and interaction with minK subunits. *J Biol Chem* 1999;274(30):21063-70.
532. Chouabe C, Neyroud N, Richard P, et al. Novel mutations in KvLQT1 that affect Iks activation through interactions with Isk. *Cardiovasc Res* 2000;45(4):971-80.

533. Hoorntje T, Alders M, van Tintelen P, et al. Homozygous premature truncation of the HERG protein : the human HERG knockout. *Circulation* 1999;100(12):1264-7.
534. Sanguinetti MC, Curran ME, Spector PS, Keating MT. Spectrum of HERG K⁺-channel dysfunction in an inherited cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(5):2208-12.
535. Roden DM, Balser JR. A plethora of mechanisms in the HERG-related long QT syndrome. *Genetics meets electrophysiology. Cardiovasc Res* 1999;44(2):242-6.
536. Furutani M, Trudeau MC, Hagiwara N, et al. Novel mechanism associated with an inherited cardiac arrhythmia: defective protein trafficking by the mutant HERG (G601S) potassium channel. *Circulation* 1999;99(17):2290-4.
537. Delisle BP, Anson BD, Rajamani S, January CT. Biology of cardiac arrhythmias: ion channel protein trafficking. *Circ Res* 2004;94(11):1418-28.
538. Anderson CL, Delisle BP, Anson BD, et al. Most LQT2 mutations reduce Kv11.1 (hERG) current by a class 2 (trafficking-deficient) mechanism. *Circulation* 2006;113(3):365-73.
539. Zhou Z, Gong Q, January CT. Correction of defective protein trafficking of a mutant HERG potassium channel in human long QT syndrome. *Pharmacological and temperature effects. J Biol Chem* 1999;274(44):31123-6.
540. Abbott GW, Sesti F, Splawski I, et al. MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* 1999;97(2):175-87.
541. Sesti F, Abbott GW, Wei J, et al. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(19):10613-8.
542. An RH, Wang XL, Kerem B, et al. Novel LQT-3 mutation affects Na⁺ channel activity through interactions between alpha- and beta1-subunits. *Circ Res* 1998;83(2):141-6.
543. Chauhan VS, Tuvia S, Buhusi M, Bennett V, Grant AO. Abnormal cardiac Na⁽⁺⁾ channel properties and QT heart rate adaptation in neonatal ankyrin(B) knockout mice. *Circ Res* 2000;86(4):441-7.
544. Mohler PJ, Bennett V. Ankyrin-based cardiac arrhythmias: a new class of channelopathies due to loss of cellular targeting. *Curr Opin Cardiol* 2005;20(3):189-93.
545. Mohler PJ, Splawski I, Napolitano C, et al. A cardiac arrhythmia syndrome caused by loss of ankyrin-B function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(24):9137-42.
546. Mohler PJ, Rivolta I, Napolitano C, et al. Nav1.5 E1053K mutation causing Brugada syndrome blocks binding to ankyrin-G and expression of Nav1.5 on the surface of cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(50):17533-8.
547. Andersen ED, Krasilnikoff PA, Overvad H. Intermittent muscular weakness, extrasystoles, and multiple developmental anomalies. A new syndrome? *Acta Paediatr Scand* 1971;60(5):559-64.
548. Tristani-Firouzi M, Jensen JL, Donaldson MR, et al. Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome). *J Clin Invest* 2002;110(3):381-8.
549. Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ, et al. Influence of genotype on the clinical course of the long-QT syndrome. International Long-QT Syndrome Registry Research Group. *N Engl J Med* 1998;339(14):960-5.
550. Viskin S, Alla SR, Barron HV, et al. Mode of onset of torsade de pointes in congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(5):1262-8.
551. Abildskov JA, Lux RL. Cycle-length effects on the initiation of simulated torsade de pointes. *J Electrocardiol* 1994;27(1):1-9.
552. Gilmour RF, Jr., Riccio ML, Locati EH, Maison-Blanche P, Coumel P, Schwartz PJ. Time- and rate-dependent alterations of the QT interval precede the onset of torsade de pointes in patients with acquired QT prolongation. *J Am Coll Cardiol* 1997;30(1):209-17.

553. Schwartz PJ, Zaza A, Locati E, Moss AJ. Stress and sudden death. The case of the long QT syndrome. *Circulation* 1991;83(4 Suppl):II71-80.
554. Wilde AA, Jongbloed RJ, Doevendans PA, et al. Auditory stimuli as a trigger for arrhythmic events differentiate HERG-related (LQTS2) patients from KVLQT1-related patients (LQTS1). *J Am Coll Cardiol* 1999;33(2):327-32.
555. Schwartz PJ, Priori SG, Locati EH, et al. Long QT syndrome patients with mutations of the SCN5A and HERG genes have differential responses to Na⁺ channel blockade and to increases in heart rate. Implications for gene-specific therapy. *Circulation* 1995;92(12):3381-6.
556. Schwartz PJ, Locati E. The idiopathic long QT syndrome: pathogenetic mechanisms and therapy. *Eur Heart J* 1985;6 Suppl D:103-14.
557. Moss AJ, Zareba W, Benhorin J, et al. ECG T-wave patterns in genetically distinct forms of the hereditary long QT syndrome. *Circulation* 1995;92(10):2929-34.
558. Schott JJ, Charpentier F, Peltier S, et al. Mapping of a gene for long QT syndrome to chromosome 4q25-27. *Am J Hum Genet* 1995;57(5):1114-22.
559. Vincent GM, Timothy KW, Leppert M, Keating M. The spectrum of symptoms and QT intervals in carriers of the gene for the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 1992;327(12):846-52.
560. Schwartz PJ, Priori SG. Long QT syndrome: genotype - phenotype considerations. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia, PE.: W.B. Saunders company; 2004:651-9.
561. Garson A, Jr., Dick MD, Fournier A, et al. The long QT syndrome in children. An international study of 287 patients [see comments]. *Circulation* 1993;87(6):1866-72.
562. De Ambroggi L, Negroni MS, Monza E, Bertoni T, Schwartz PJ. Dispersion of ventricular repolarization in the long QT syndrome. *Am J Cardiol* 1991;68(6):614-20.
563. Coumel P, Maison-Blanche P, Badilini F. Dispersion of ventricular repolarization: reality? Illusion? Significance? *Circulation* 1998;97(25):2491-3.
564. Badilini F, Fayn J, Maison-Blanche P, et al. Quantitative aspect of ventricular repolarization: relationship between three-dimensional T wave loop morphology and scalar QT dispersion. *ANE* 1997;2:146-57.
565. Rautaharju PM. QT and dispersion of ventricular repolarization: the greatest fallacy in electrocardiography in the 1990s. *Circulation* 1999;99(18):2477-8.
566. Extramiana F, Denjoy I, Badilini F, et al. Heart rate influences on repolarization duration and morphology in symptomatic versus asymptomatic KCNQ1 mutation carriers. *Am J Cardiol* 2005;95(3):406-9.
567. Lupoglazoff JM, Denjoy I, Berthet M, et al. Notched T waves on Holter recordings enhance detection of patients with LQTS2 (HERG) mutations. *Circulation* 2001;103(8):1095-101.
568. Hering HE. Das Wesen des Herzalternans. *Mench Med Wochenschr* 1908;4:1417-21.
569. Kalter HH, Schwartz ML. Electrical alternans. *NY State J Med* 1948;1:1164-6.
570. Smith JM, Clancy EA, Valeri CR, Ruskin JN, Cohen RJ. Electrical alternans and cardiac electrical instability. *Circulation* 1988;77(1):110-21.
571. Pastore JM, Girouard SD, Laurita KR, Akar FG, Rosenbaum DS. Mechanism linking T-wave alternans to the genesis of cardiac fibrillation. *Circulation* 1999;99(10):1385-94.
572. Walker ML, Rosenbaum DS. Repolarization alternans: implications for the mechanism and prevention of sudden cardiac death. *Cardiovasc Res* 2003;57(3):599-614.
573. Vincent GM. The heart rate of Romano-Ward syndrome patients. *Am Heart J* 1986;112(1):61-4.
574. Swan H, Viitasalo M, Piippo K, Laitinen P, Kontula K, Toivonen L. Sinus node function and ventricular repolarization during exercise stress test in long QT syndrome

- patients with KvLQT1 and HERG potassium channel defects. *J Am Coll Cardiol* 1999;34(3):823-9.
575. Ono K, Ito H. Role of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current in sinoatrial node pacemaker activity. *Am J Physiol* 1995;269(2 Pt 2):H453-62.
576. Ono K, Shibata S, Iijima T. Properties of the delayed rectifier potassium current in porcine sino-atrial node cells. *J Physiol (Lond)* 2000;524 Pt 1:51-62.
577. Oei HL, Van Ginneken AC, Jongsma HJ, Bouman LN. Mechanisms of impulse generation in isolated cells from the rabbit sinoatrial node. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21(11):1137-49.
578. Irisawa H, Brown HF, Giles W. Cardiac pacemaking in the sinoatrial node. *Physiol Rev* 1993;73(1):197-227.
579. Veldkamp MW, Wilders R, Baartscheer A, Zegers JG, Bezzina CR, Wilde AA. Contribution of sodium channel mutations to bradycardia and sinus node dysfunction in LQT3 families. *Circ Res* 2003;92(9):976-83.
580. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, et al. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation* 2001;103(1):89-95.
581. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Segantini A, et al. Prolongation of the QT interval and the sudden infant death syndrome. *N Engl J Med* 1998;338(24):1709-14.
582. Schwartz PJ, Priori SG, Dumaine R, et al. A molecular link between the sudden infant death syndrome and the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2000;343(4):262-7.
583. Schwartz PJ, Priori SG, Bloise R, et al. Molecular diagnosis in a child with sudden infant death syndrome. *Lancet* 2001;358(9290):1342-3.
584. Ackerman MJ, Siu BL, Sturner WQ, et al. Postmortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *Jama* 2001;286(18):2264-9.
585. Tester DJ, Ackerman MJ. Sudden infant death syndrome: how significant are the cardiac channelopathies? *Cardiovasc Res* 2005;67(3):388-96.
586. Makielski JC. SIDS: genetic and environmental influences may cause arrhythmia in this silent killer. *J Clin Invest* 2006;116(2):297-9.
587. Dwyer T, Ponsonby AL, Blizzard L, Newman NM, Cochrane JA. The contribution of changes in the prevalence of prone sleeping position to the decline in sudden infant death syndrome in Tasmania. *Jama* 1995;273(10):783-9.
588. Plant LD, Bowers PN, Liu Q, et al. A common cardiac sodium channel variant associated with sudden infant death in African Americans, SCN5A S1103Y. *J Clin Invest* 2006;116(2):430-5.
589. Smits JP, Eckardt L, Probst V, et al. Genotype-phenotype relationship in Brugada syndrome: electrocardiographic features differentiate SCN5A-related patients from non-SCN5A-related patients. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(2):350-6.
590. Wang DW, Viswanathan PC, Balser JR, George AL, Jr., Benson DW. Clinical, genetic, and biophysical characterization of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation* 2002;105(3):341-6.
591. Bezzina C, Veldkamp MW, van Den Berg MP, et al. A single Na⁺ channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. *Circ Res* 1999;85(12):1206-13.
592. Kyndt F, Probst V, Potet F, et al. Novel SCN5A mutation leading either to isolated cardiac conduction defect or Brugada syndrome in a large French family. *Circulation* 2001;104(25):3081-6.
593. Gussak I, Brugada P, Brugada J, et al. Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* 2000;94(2):99-102.
594. Gussak I, Bjerregaard P. Short QT syndrome--5 years of progress. *J Electrocardiol* 2005;38(4):375-7.

595. Brugada R, Hong K, Cordeiro JM, Dumaine R. Short QT syndrome. *Cmaj* 2005;173(11):1349-54.
596. Borggrefe M, Wolpert C, Antzelevitch C, et al. Short QT syndrome. Genotype-phenotype correlations. *J Electrocardiol* 2005;38(4 Suppl):75-80.
597. Brugada R, Hong K, Dumaine R, et al. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation* 2004;109(1):30-5.
598. Bellocq C, van Ginneken AC, Bezzina CR, et al. Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome. *Circulation* 2004;109(20):2394-7.
599. Priori SG, Pandit SV, Rivolta I, et al. A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. *Circ Res* 2005;96(7):800-7.
600. Gaita F, Giustetto C, Bianchi F, et al. Short QT syndrome: pharmacological treatment. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(8):1494-9.
601. Hong K, Bjerregaard P, Gussak I, Brugada R. Short QT syndrome and atrial fibrillation caused by mutation in KCNH2. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16(4):394-6.
602. Leenhardt A, Coumel P, Slama R. Torsades de pointes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1992;3:281-92.
603. Haissaguerre M, Shoda M, Jais P, et al. Mapping and ablation of idiopathic ventricular fibrillation. *Circulation* 2002;106(8):962-7.
604. Haissaguerre M, Shah DC, Jais P, et al. Role of Purkinje conducting system in triggering of idiopathic ventricular fibrillation. *Lancet* 2002;359(9307):677-8.
605. Page E, Polimeni PI. Magnesium exchange in rat ventricle. *J Physiol* 1972;224(1):121-39.
606. Chinushi M, Sugiura H, Komura S, et al. Effects of intravenous magnesium in a prolonged QT interval model of polymorphic ventricular tachycardia focus on transmural ventricular repolarization. *Pacing Clin Electrophysiol* 2005;28(8):844-50.
607. Kuo CC, Hess P. Block of the L-type Ca^{2+} channel pore by external and internal Mg^{2+} in rat pheochromocytoma cells. *J Physiol* 1993;466:683-706.
608. Kaseda S, Gilmour RF, Jr., Zipes DP. Depressant effect of magnesium on early afterdepolarizations and triggered activity induced by cesium, quinidine, and 4-aminopyridine in canine cardiac Purkinje fibers. *Am Heart J* 1989;118(3):458-66.
609. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, et al. Effectiveness and limitations of beta-blocker therapy in congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2000;101(6):616-23.
610. Khan IA. Clinical and therapeutic aspects of congenital and acquired long QT syndrome. *Am J Med* 2002;112(1):58-66.
611. Schwartz PJ, Locati EH, Moss AJ, Crampton RS, Trazzi R, Ruberti U. Left cardiac sympathetic denervation in the therapy of congenital long QT syndrome. A worldwide report [see comments]. *Circulation* 1991;84(2):503-11.
612. Etheridge SP, Compton SJ, Tristani-Firouzi M, Mason JW. A new oral therapy for long QT syndrome: long-term oral potassium improves repolarization in patients with HERG mutations. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(10):1777-82.
613. Shimizu W, Kurita T, Matsuo K, et al. Improvement of repolarization abnormalities by a K^{+} channel opener in the LQT1 form of congenital long-QT syndrome. *Circulation* 1998;97(16):1581-8.
614. Nagatomo T, January CT, Makielski JC. Preferential block of late sodium current in the LQT3 DeltaKPQ mutant by the class I(C) antiarrhythmic flecainide. *Mol Pharmacol* 2000;57(1):101-7.
615. Abriel H, Wehrens XH, Benhorin J, Kerem B, Kass RS. Molecular pharmacology of the sodium channel mutation D1790G linked to the long-QT syndrome. *Circulation* 2000;102(8):921-5.

616. Benhorin J, Taub R, Goldmit M, et al. Effects of flecainide in patients with new SCN5A mutation: mutation-specific therapy for long-QT syndrome? *Circulation* 2000;101(14):1698-706.
617. Windle JR, Geletka RC, Moss AJ, Zareba W, Atkins DL. Normalization of ventricular repolarization with flecainide in long QT syndrome patients with SCN5A:DeltaKPQ mutation. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2001;6(2):153-8.
618. Moss AJ, Windle JR, Hall WJ, et al. Safety and efficacy of flecainide in subjects with Long QT-3 syndrome (DeltaKPQ mutation): a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2005;10(4 Suppl):59-66.
619. Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ, Bloise R, Crotti L, Ronchetti E. The elusive link between LQT3 and Brugada syndrome: the role of flecainide challenge. *Circulation* 2000;102(9):945-7.
620. Moss AJ, Zareba W. Long QT syndrome: therapeutic considerations. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, PE.: W.B. Saunders company; 2004:660-7.
621. Roden DM. Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med* 2004;350(10):1013-22.
622. Haverkamp W, Martinez-Rubio A, Hief C, et al. Efficacy and safety of d,l-sotalol in patients with ventricular tachycardia and in survivors of cardiac arrest. *J Am Coll Cardiol* 1997;30(2):487-95.
623. Kober L, Bloch Thomsen PE, Moller M, et al. Effect of dofetilide in patients with recent myocardial infarction and left-ventricular dysfunction: a randomised trial. *Lancet* 2000;356(9247):2052-8.
624. Stambler BS, Wood MA, Ellenbogen KA, Perry KT, Wakefield LK, VanderLugt JT. Efficacy and safety of repeated intravenous doses of ibutilide for rapid conversion of atrial flutter or fibrillation. *Ibutilide Repeat Dose Study Investigators. Circulation* 1996;94(7):1613-21.
625. Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C, et al. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15(4):475-95.
626. Sanchez-Chapula JA, Ferrer T, Navarro-Polanco RA, Sanguinetti MC. Voltage-dependent profile of human ether-a-go-go-related gene channel block is influenced by a single residue in the S6 transmembrane domain. *Mol Pharmacol* 2003;63(5):1051-8.
627. Fernandez D, Ghanta A, Kauffman GW, Sanguinetti MC. Physicochemical features of the HERG channel drug binding site. *J Biol Chem* 2004;279(11):10120-7.
628. Mitcheson JS, Chen J, Lin M, Culberson C, Sanguinetti MC. A structural basis for drug-induced long QT syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(22):12329-33.
629. Locati EH, Maison-Blanche P, Dejode P, Cauchemez B, Coumel P. Spontaneous sequences of onset of torsade de pointes in patients with acquired prolonged repolarization: quantitative analysis of Holter recordings. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(7):1564-75.
630. committee. Is. ICH Harmonised tripartite guideline. The clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs. E14.; 2005.
631. committee. Is. ICH Harmonised tripartite guideline. The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals. S7B.; 2005.
632. Assessment of the QT prolongation potential of non-antiarrhythmic drugs. 2001. (Accessed at <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut/htmleng/quidmain.html>.)
633. Cavero I, Crumb W. ICH S7B draft guideline on the non-clinical strategy for testing delayed cardiac repolarisation risk of drugs: a critical analysis. *Expert Opin Drug Saf* 2005;4(3):509-30.

634. Hondeghem LM, Carlsson L, Duker G. Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation* 2001;103(15):2004-13.
635. Netzer R, Bischoff U, Ebneith A. HTS techniques to investigate the potential effects of compounds on cardiac ion channels at early-stages of drug discovery. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2003;6(4):462-9.
636. Zheng W, Spencer RH, Kiss L. High throughput assay technologies for ion channel drug discovery. *Assay Drug Dev Technol* 2004;2(5):543-52.
637. Dascal N. The use of *Xenopus* oocytes for the study of ion channels. *CRC Crit Rev Biochem* 1987;22(4):317-87.
638. Netzer R, Ebneith A, Bischoff U, Pongs O. Screening lead compounds for QT interval prolongation. *Drug Discov Today* 2001;6(2):78-84.
639. Antzelevitch C, Sun ZQ, Zhang ZQ, Yan GX. Cellular and ionic mechanisms underlying erythromycin-induced long QT intervals and torsade de pointes. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(7):1836-48.
640. Antzelevitch C. Arrhythmogenic mechanisms of QT prolonging drugs: is QT prolongation really the problem? *J Electrocardiol* 2004;37 Suppl:15-24.
641. Rosenbaum DS, Kaplan DT, Kanai A, et al. Repolarization inhomogeneities in ventricular myocardium change dynamically with abrupt cycle length shortening. *Circulation* 1991;84(3):1333-45.
642. Backx PH, Marban E. Background potassium current active during the plateau of the action potential in guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1993;72(4):890-900.
643. De Clerck F, Van de Water A, D'Aubioul J, et al. In vivo measurement of QT prolongation, dispersion and arrhythmogenesis: application to the preclinical cardiovascular safety pharmacology of a new chemical entity. *Fundam Clin Pharmacol* 2002;16(2):125-40.
644. Ogura T, Shuba LM, McDonald TF. Action potentials, ionic currents and cell water in guinea pig ventricular preparations exposed to dimethyl sulfoxide. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;273(3):1273-86.
645. Sicouri S, Quist M, Antzelevitch C. Evidence for the presence of M cells in the guinea pig ventricle. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1996;7(6):503-11.
646. Charbit B, Becquemont L, Lepere B, Peytavin G, Funck-Brentano C. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction between grapefruit juice and halofantrine. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72(5):514-23.
647. Pratt CM, Ruberg S, Morganroth J, et al. Dose-response relation between terfenadine (Seldane) and the QTc interval on the scalar electrocardiogram: distinguishing a drug effect from spontaneous variability. *Am Heart J* 1996;131(3):472-80.
648. Gras J, Llenas J, Palacios JM, Roberts DJ. The role of ketoconazole in the QTc interval prolonging effects of H1-antihistamines in a guinea-pig model of arrhythmogenicity. *Br J Pharmacol* 1996;119(2):187-8.
649. Honig PK, Wortham DC, Zamani K, Conner DP, Mullin JC, Cantilena LR. Terfenadine-ketoconazole interaction. Pharmacokinetic and electrocardiographic consequences. *Jama* 1993;269(12):1513-8.
650. von Moltke LL, Greenblatt DJ, Duan SX, Harmatz JS, Shader RI. In vitro prediction of the terfenadine-ketoconazole pharmacokinetic interaction. *J Clin Pharmacol* 1994;34(12):1222-7.
651. Lherm T, Lottin F, Larbi D, Bray M, Legall C, Caen D. [Torsade de pointes after poisoning with fluoxetine alone]. *Presse Med* 2000;29(6):306-7.
652. McFadden EP, Clarke JG, Davies GJ, Kaski JC, Haider AW, Maseri A. Effect of intracoronary serotonin on coronary vessels in patients with stable angina and patients with variant angina. *N Engl J Med* 1991;324(10):648-54.

653. Frothingham R. Rates of torsades de pointes associated with ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, and moxifloxacin. *Pharmacotherapy* 2001;21(12):1468-72.
654. Zareba W, Moss AJ, Rosero SZ, Hajj-Ali R, Konecki J, Andrews M. Electrocardiographic findings in patients with diphenhydramine overdose. *Am J Cardiol* 1997;80(9):1168-73.
655. Krikler DM, Rowland E. Torsade de pointes and nifedipine. *Ann Intern Med* 1982;97(4):618-9.
656. Daleau P, Lessard E, Groleau MF, Turgeon J. Erythromycin blocks the rapid component of the delayed rectifier potassium current and lengthens repolarization of guinea pig ventricular myocytes. *Circulation* 1995;91(12):3010-6.
657. Benet LZ, Hoener BA. Changes in plasma protein binding have little clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2002;71(3):115-21.
658. Spector PS, Curran ME, Keating MT, Sanguinetti MC. Class III antiarrhythmic drugs block HERG, a human cardiac delayed rectifier K⁺ channel. Open-channel block by methanesulfonanilides. *Circ Res* 1996;78(3):499-503.
659. Tseng GN. I(Kr): the hERG channel. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33(5):835-49.
660. Singh BN. Antiarrhythmic actions of amiodarone: a profile of a paradoxical agent. *Am J Cardiol* 1996;78(4A):41-53.
661. Funck-Brentano C. Rate-dependence of class III actions in the heart. *Fundam Clin Pharmacol* 1993;7(1):51-9.
662. Middlekauff HR, Stevenson WG, Saxon LA, Stevenson LW. Amiodarone and torsades de pointes in patients with advanced heart failure. *Am J Cardiol* 1995;76(7):499-502.
663. Carmeliet E. Effects of cetirizine on the delayed K⁺ currents in cardiac cells: comparison with terfenadine. *Br J Pharmacol* 1998;124(4):663-8.
664. Taglialatela M, Pannaccione A, Castaldo P, et al. Molecular basis for the lack of HERG K⁺ channel block-related cardiotoxicity by the H1 receptor blocker cetirizine compared with other second-generation antihistamines. *Mol Pharmacol* 1998;54(1):113-21.
665. Roden DM. Pharmacogenomics of cardiac arrhythmias and impact on drug therapy. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia: W.B. Saunders company; 2004:471-7.
666. Ford GA, Wood SM, Daly AK. CYP2D6 and CYP2C19 genotypes of patients with terodiline cardiotoxicity identified through the yellow card system. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50(1):77-80.
667. Roden DM. Pharmacogenetics and drug-induced arrhythmias. *Cardiovasc Res* 2001;50(2):224-31.
668. Drolet B, Vincent F, Rail J, et al. Thioridazine lengthens repolarization of cardiac ventricular myocytes by blocking the delayed rectifier potassium current. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;288(3):1261-8.
669. von Bahr C, Movin G, Nordin C, et al. Plasma levels of thioridazine and metabolites are influenced by the debrisoquin hydroxylation phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 1991;49(3):234-40.
670. Carlsson L, Amos GJ, Andersson B, Drews L, Duker G, Wadstedt G. Electrophysiological characterization of the prokinetic agents cisapride and mosapride in vivo and in vitro: implications for proarrhythmic potential? *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282(1):220-7.
671. Yang P, Kanki H, Drolet B, et al. Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades de pointes. *Circulation* 2002;105(16):1943-8.
672. Paulussen AD, Gilissen RA, Armstrong M, et al. Genetic variations of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, and KCNE2 in drug-induced long QT syndrome patients. *J Mol Med* 2004;82(3):182-8.

673. Splawski I, Timothy KW, Tateyama M, et al. Variant of SCN5A sodium channel implicated in risk of cardiac arrhythmia. *Science* 2002;297(5585):1333-6.
674. Pfeufer A, Jalilzadeh S, Perz S, et al. Common variants in myocardial ion channel genes modify the QT interval in the general population: results from the KORA study. *Circ Res* 2005;96(6):693-701.
675. Petersen CI, McFarland TR, Stepanovic SZ, et al. In vivo identification of genes that modify ether-a-go-go-related gene activity in *Caenorhabditis elegans* may also affect human cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(32):11773-8.
676. Batchvarov VN, Ghuran A, Smetana P, et al. QT-RR relationship in healthy subjects exhibits substantial intersubject variability and high intrasubject stability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282(6):H2356-63.
677. Baranowski R, Poplawska W, Buchner T, Chojnowska L, Rydlewska-Sadowska W. Day-to-day reproducibility of Holter beat-by-beat analysis of repolarisation. *Acta Cardiol* 2003;58(3):185-9.
678. Extramiana F, Maison-Blanche P, Badilini F, Beaufils P, Leenhardt A. Individual QT-R-R relationship: average stability over time does not rule out an individual residual variability: implication for the assessment of drug effect on the QT interval. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2005;10(2):169-78.
679. Nemec J, Buncova M, Bulkova V, et al. Heart rate dependence of the QT interval duration: differences among congenital long QT syndrome subtypes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15(5):550-6.
680. Fujiki A, Sugao M, Nishida K, et al. Repolarization abnormality in idiopathic ventricular fibrillation: assessment using 24-hour QT-RR and QaT-RR relationships. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15(1):59-63.
681. de Seze J, Stojkovic T, Gauvrit JY, et al. Cardiac repolarization abnormalities in multiple sclerosis: spinal cord MRI correlates. *Muscle Nerve* 2000;23(8):1284-6.
682. Deguchi K, Sasaki I, Tsukaguchi M, et al. Abnormalities of rate-corrected QT intervals in Parkinson's disease-a comparison with multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 2002;199(1-2):31-7.
683. Funck-Brentano C, Jaillon P. Rate-corrected QT interval: techniques and limitations. *Am J Cardiol* 1993;72(6):17B-22B.
684. Lande G, Baro I, Drouin E, Escande D. Identifying HERG blockers using an in vivo guinea-pig model. submitted.
685. Moore EN, Spear JF, Fisch C. "Supernormal" conduction and excitability. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993;4(3):320-37.
686. Colquhoun D. Neher and Sakmann win Nobel Prize for patch-clamp work. *Trends Pharmacol Sci* 1991;12(12):449.
687. Weidmann S. Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J Physiol (Lond)* 1951;115:227-36.
688. Cabo C, Pertsov AM, Baxter WT, Davidenko JM, Gray RA, Jalife J. Wave-front curvature as a cause of slow conduction and block in isolated cardiac muscle. *Circ Res* 1994;75(6):1014-28.
689. Spach MS, Kootsey JM. The nature of electrical propagation in cardiac muscle. *Am J Physiol* 1983;244(1):H3-22.
690. Frazier DW, Krassowska W, Chen PS, et al. Transmural activations and stimulus potentials in three-dimensional anisotropic canine myocardium. *Circ Res* 1988;63(1):135-46.
691. Keener JP. An eikonal-curvature equation for action potential propagation in myocardium. *J Math Biol* 1991;29(7):629-51.
692. MacKinnon R. Potassium channels. *FEBS Lett* 2003;555(1):62-5.
693. Bennett PB, Yazawa K, Makita N, George AL, Jr. Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia. *Nature* 1995;376(6542):683-5.

694. Liu H, Tateyama M, Clancy CE, Abriel H, Kass RS. Channel openings are necessary but not sufficient for use-dependent block of cardiac Na(+) channels by flecainide: evidence from the analysis of disease-linked mutations. *J Gen Physiol* 2002;120(1):39-51.
695. Benhorin J, Goldmit M, MacCluer JW, et al. Identification of a new SCN5A mutation, D1840G, associated with the long QT syndrome. *Mutations in brief* no. 153. Online. *Hum Mutat* 1998;12(1):72.
696. Wehrens XH, Abriel H, Cabo C, Benhorin J, Kass RS. Arrhythmogenic mechanism of an LQT-3 mutation of the human heart Na(+) channel alpha-subunit: A computational analysis. *Circulation* 2000;102(5):584-90.
697. Abriel H, Cabo C, Wehrens XH, et al. Novel arrhythmogenic mechanism revealed by a long-QT syndrome mutation in the cardiac Na(+) channel. *Circ Res* 2001;88(7):740-5.
698. Sicouri S, Timothy KW, Zygmunt AC, et al. Cellular basis for the electrocardiographic and arrhythmic manifestations of Timothy syndrome: Effects of ranolazine. *Heart Rhythm* 2007;4(5):638-47.
699. Salinas M, Duprat F, Heurteaux C, Hugnot JP, Lazdunski M. New modulatory alpha subunits for mammalian Shab K⁺ channels. *J Biol Chem* 1997;272(39):24371-9.
700. Warmke J, Drysdale R, Ganetzky B. A distinct potassium channel polypeptide encoded by the *Drosophila* eag locus. *Science* 1991;252(5012):1560-2.
701. Warmke JW, Ganetzky B. A family of potassium channel genes related to eag in *Drosophila* and mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(8):3438-42.
702. Wymore RS, Gintant GA, Wymore RT, Dixon JE, McKinnon D, Cohen IS. Tissue and species distribution of mRNA for the IKr-like K⁺ channel, erg. *Circ Res* 1997;80(2):261-8.
703. Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, Keating MT. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell* 1995;81(2):299-307.
704. Barhanin J, Lesage F, Guillemare E, Fink M, Lazdunski M, Romey G. K(V)LQT1 and IsK (minK) proteins associate to form the I(Ks) cardiac potassium current [see comments]. *Nature* 1996;384(6604):78-80.
705. Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A, et al. Coassembly of K(V)LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac I(Ks) potassium channel [see comments]. *Nature* 1996;384(6604):80-3.
706. Lesage F, Attali B, Lazdunski M, Barhanin J. ISK, a slowly activating voltage-sensitive K⁺ channel. Characterization of multiple cDNAs and gene organization in the mouse. *FEBS Lett* 1992;301(2):168-72.
707. Abbott GW, Butler MH, Bendahhou S, Dalakas MC, Ptacek LJ, Goldstein SA. MiRP2 forms potassium channels in skeletal muscle with Kv3.4 and is associated with periodic paralysis. *Cell* 2001;104(2):217-31.
708. Deal KK, England SK, Tamkun MM. Molecular physiology of cardiac potassium channels. *Physiol Rev* 1996;76(1):49-67.
709. Rosati B, Pan Z, Lypen S, et al. Regulation of KChIP2 potassium channel beta subunit gene expression underlies the gradient of transient outward current in canine and human ventricle. *J Physiol* 2001;533(Pt 1):119-25.
710. Barry DM, Xu H, Schuessler RB, Nerbonne JM. Functional knockout of the transient outward current, long-QT syndrome, and cardiac remodeling in mice expressing a dominant-negative Kv4 alpha subunit. *Circ Res* 1998;83(5):560-7.
711. Dixon JE, Shi W, Wang HS, et al. Role of the Kv4.3 K⁺ channel in ventricular muscle. A molecular correlate for the transient outward current. *Circ Res* 1996;79(4):659-68.
712. London B, Wang DW, Hill JA, Bennett PB. The transient outward current in mice lacking the potassium channel gene Kv1.4. *J Physiol* 1998;509 (Pt 1):171-82.

713. London B, Jeron A, Zhou J, et al. Long QT and ventricular arrhythmias in transgenic mice expressing the N terminus and first transmembrane segment of a voltage-gated potassium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(6):2926-31.
714. Xu H, Li H, Nerbonne JM. Elimination of the transient outward current and action potential prolongation in mouse atrial myocytes expressing a dominant negative Kv4 alpha subunit. *J Physiol* 1999;519 Pt 1:11-21.
715. Takahashi N, Morishige K, Jahangir A, et al. Molecular cloning and functional expression of cDNA encoding a second class of inward rectifier potassium channels in the mouse brain. *J Biol Chem* 1994;269(37):23274-9.
716. Grover GJ, Garlid KD. ATP-Sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32(4):677-95.
717. Babenko AP, Aguilar-Bryan L, Bryan J. A view of sur/KIR6.X, KATP channels. *Annu Rev Physiol* 1998;60:667-87.
718. Suzuki M, Li RA, Miki T, et al. Functional roles of cardiac and vascular ATP-sensitive potassium channels clarified by Kir6.2-knockout mice. *Circ Res* 2001;88(6):570-7.
719. Armour JA. Anatomy and function of the intrathoracic neurons regulating the mammalian heart. In: Zucker IH, Gilmore JP, eds. *Reflex control of the circulation*. Boca Raton: CRC Press; 1991:1-37.
720. Chen LS, Chen PS. Nerve sprouting and cardiac arrhythmias. In: Zipes DP, Jalife J, eds. *Cardiac electrophysiology From cell to bedside*. Philadelphia, Pe: W.B. Saunders company; 2004:299-305.
721. Janes RD, Brandys JC, Hopkins DA, Johnstone DE, Murphy DA, Armour JA. Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia. *Am J Cardiol* 1986;57(4):299-309.
722. Singh S, Johnson PI, Lee RE, et al. Topography of cardiac ganglia in the adult human heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112(4):943-53.
723. Armour JA, Murphy DA, Yuan BX, Macdonald S, Hopkins DA. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *Anat Rec* 1997;247(2):289-98.
724. Martins JB, Zipes DP. Effects of sympathetic and vagal nerves on recovery properties of the endocardium and epicardium of the canine left ventricle. *Circ Res* 1980;46(1):100-10.
725. Marron K, Wharton J, Sheppard MN, et al. Distribution, morphology, and neurochemistry of endocardial and epicardial nerve terminal arborizations in the human heart. *Circulation* 1995;92(8):2343-51.
726. Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, et al. The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest* 1998;102(7):1377-84.
727. Steinberg SF, Brunton LL. Compartmentation of G protein-coupled signaling pathways in cardiac myocytes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:751-73.
728. Aprigliano O, Rybin VO, Pak E, Robinson RB, Steinberg SF. beta 1-and beta 2-adrenergic receptors exhibit differing susceptibility to muscarinic accentuated antagonism. *Am J Physiol* 1997;272(6 Pt 2):H2726-35.
729. Charpentier F, Liu QY, Rosen MR, Robinson RB. Age-related differences in beta-adrenergic regulation of repolarization in canine epicardial myocytes. *Am J Physiol* 1996;271(3 Pt 2):H1174-81.

LE SYNDROME DU QT LONG ACQUIS

Le syndrome du QT long acquis est le plus souvent favorisé par des médicaments bloqueurs de HERG, protéine canalaire portant I_{Kr} qui est un courant repolarisant majeur chez l'homme. Ces médicaments sont parfois des produits d'usage courant. La symptomatologie associe un allongement de l'intervalle QT et des syncopes, voire une mort subite, liées à des troubles du rythme ventriculaire appelés torsade de pointes.

Les travaux de recherche publiés dans le cadre de cette thèse sont orientés en particulier vers la recherche d'un substrat et la mise au point de modèles de dépistage précoce *in vivo* de l'effet potentiellement arythmogène des nouvelles molécules avant leur mise en place sur le marché.

Nous montrons que l'analyse de la repolarisation ventriculaire, à partir de banques de données Holter, peut identifier des anomalies subtiles de la dynamique de l'intervalle QT chez des patients porteurs sains de la forme congénitale du syndrome. Nous avons également mis au point deux types de modèle *in vivo*, dont l'un murin et transgénique, qui peuvent être exploités à une phase très précoce du développement des nouvelles molécules pour dépister leur potentiel de blocage de I_{Kr} .

Mots-clés: repolarisation ventriculaire, syndrome du QT long, canaux potassiques, évaluation médicamenteuse, pharmacologie, électrocardiographie, Holter ECG, animal

THE ACQUIRED LONG QT SYNDROME

The acquired long QT syndrome is often related to drugs that block HERG, which is a channel protein carrying I_{Kr} , a major repolarizing current in human. Some of these drugs are of common use in the population. Symptoms include a lengthening of the QT interval and syncopes, sometimes sudden death, related to ventricular arrhythmias called "torsade de pointes".

The research studies, published in this thesis, are orientated towards the identification of a substrate and the development of *in vivo* models for early detection of the potential arrhythmogenic effect of new compounds before their release on the market.

We show that the analysis of ventricular repolarization, using ambulatory ECG recordings, can identify subtle abnormalities of the QT interval dynamics in carriers of the congenital form of the syndrome with a normal phenotype. We have also developed two *in vivo* models, including a transgenic mouse model, that can be used to detect a potential I_{Kr} blocking action of new compounds at a very early stage of their development.

Key words: ventricular repolarization, long QT syndrome, potassium channels, drug evaluation, pharmacology, electrocardiography, ambulatory ECG recordings, animal

LANDE Gilles
L'institut du thorax
Hôpital Laënnec, CHU de Nantes
Boulevard Jacques Monod
44035 Nantes Cedex 01