



HAL
open science

Régulation du courant calcique cardiaque par la voie du GMPc/NO par

Rodolphe Fischmeister, Pierre-François Méry

► **To cite this version:**

Rodolphe Fischmeister, Pierre-François Méry. Régulation du courant calcique cardiaque par la voie du GMPc/NO par. Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales, 1996, 190 (2-3), pp.181-206. hal-03620172

HAL Id: hal-03620172

https:

//hal-universite-paris-saclay.archives-ouvertes.fr/hal-03620172

Submitted on 25 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Régulation du courant calcique cardiaque par la voie du GMPc/NO

par

Rodolphe Fischmeister et Pierre-François Méry

Laboratoire de Cardiologie Cellulaire et Moléculaire, INSERM U-446, Université de Paris-Sud, Faculté de Pharmacie, F-92296 Châtenay-Malabry, France

Summary. — Early studies in whole heart indicated that cGMP antagonized the positive inotropic effects of catecholamines and cAMP. Since the L-type Ca^{2+} channel current (I_{Ca}) plays a predominant role in the initiation and development of cardiac electrical and contractile activities, regulation of I_{Ca} by cGMP pathways has received much attention over the last ten years. Patch-clamp measurements of I_{Ca} in isolated cardiac myocytes reveal at least three different cGMP effectors that may participate to different degrees in different animal species and cardiac tissues in the regulation of I_{Ca} by cGMP. In frog ventricular myocytes, cGMP inhibits I_{Ca} by stimulation of a cGMP-stimulated cAMP phosphodiesterase (PDE2), whereas in rat ventricular myocytes, cGMP predominantly inhibits I_{Ca} via a mechanism involving activation of a cGMP-dependent protein kinase (cGMP-PK). In guinea pig, frog and human cardiomyocytes, cGMP can also stimulate I_{Ca} via an inhibition of a cGMP-inhibited cAMP phosphodiesterase (PDE3). This effect is most predominant in human atrial myocytes and appears readily during an activation of the soluble guanylate cyclase activity by low concentrations of nitric oxide (NO)-donors. Biochemical characterization of the endogenous phosphodiesterases and cGMP-PK in purified cardiac myocytes provide further evidence in support of these mechanisms of cGMP action on I_{Ca} . However, the regulation of cGMP levels by a variety of agents is not always consistent with their effects on contractility. In particular, the participation of cGMP and NO pathways in the regulation of cardiac I_{Ca} and contractility by acetylcholine is still questionable.

Résumé. — Des études sur cœur entier ont montré que le GMPc s'oppose aux effets inotropes positifs des catécholamines et de l'AMPc. Le courant calcique de type L (I_{Ca}) jouant un rôle déterminant dans l'initiation et le développement des activités électrique et contractile cardiaques, sa régulation par le GMPc a fait l'objet d'une attention particulière durant les dix dernières années. Des expériences en patch-clamp sur myocytes cardiaques isolés ont révélé au moins trois cibles potentielles du GMPc. Celles-ci seraient impliquées à des degrés divers suivant les espèces animales et le tissu cardiaque considérés. Dans les myocytes ventriculaires de grenouille, le GMPc inhibe le courant I_{Ca} en activant une phosphodiesterase stimulée par le GMPc qui hydrolyse l'AMPc (PDE2). Toutefois, dans les myocytes ventriculaires de rat, le GMPc inhibe I_{Ca} par l'intermédiaire d'une activation de la protéine kinase dépendante du GMPc (PK-GMPc). Dans les myocytes cardiaques de cobaye et de grenouille, le GMPc peut aussi activer le courant I_{Ca} en inhibant une phosphodiesterase sensible au GMPc (PDE3). Ce dernier mécanisme apparaît prépondérant dans les myocytes d'oreillette humaine sous l'action des donneurs de monoxyde d'azote (NO), qui stimulent la synthèse de GMPc par l'activation d'une guanylate cyclase soluble. L'existence des différents mécanismes d'action du GMPc sur I_{Ca} dans les myocytes cardiaques est confirmée par la caractérisation biochimique des enzymes impliqués. Toutefois, les effets sur la contractilité cardiaque des activateurs de synthèse du GMPc ne sont pas toujours en relation avec les augmentations observées des taux de GMPc. En particulier, la participation de la voie du GMPc/NO dans la régulation du courant I_{Ca} et de la contractilité cardiaque par l'acétylcholine est encore controversée.

Introduction

Les canaux calciques de type L de la membrane cellulaire d'un myocyte cardiaque s'ouvrent sous l'effet d'une dépolarisation du potentiel de membrane (120). Lors du potentiel d'action cardiaque, l'ouverture des canaux calciques génère un courant calcique (I_{Ca}) assurant une entrée d'ions calcium dans la cellule qui est à l'origine d'une hausse rapide du niveau de calcium intracellulaire (66, 120). Cette augmentation de la concentration interne en calcium, relayée par une libération du calcium contenu dans le réticulum sarcoplasmique, est nécessaire à l'activation des myofilaments et à la contraction de la cellule myocardique. Toute augmentation ou diminution du courant I_{Ca} au cours du potentiel d'action s'accompagne généralement d'une variation dans le même sens de la force de contraction (66). Ainsi, les effets inotropes de nombreux neuromédiateurs et hormones passent par une modification du courant I_{Ca} .

Les régulations neuroendocriniennes de l'activité des canaux calciques cardiaques font généralement intervenir les cascades de seconds messagers (53). Parmi celles-ci, la mieux documentée est la cascade de l'AMP cyclique (AMPC). En effet, une grande partie de l'action inotrope positive du système sympathique passe par la stimulation β -adrénergique de l'activité des canaux calciques de type L (53, 66, 69). Les agonistes β -adrénergiques augmentent la production d'AMP cyclique (AMPC) par l'adénylate cyclase (35). Cette accumulation intracellulaire d'AMPC permet l'activation d'une protéine kinase spécifique (PK-AMPC) qui phosphoryle le canal calcique de type L (ou une protéine régulatrice proche du canal). Ce type de phosphorylation provoque une augmentation de l'activité de ce type de canal, augmentant ainsi le courant I_{Ca} lors du potentiel d'action cardiaque.

Un autre nucléotide cyclique, le GMP cyclique (GMPc), est également soumis à des régulations neuroendocriniennes importantes (34, 58, 66, 110, 118, 207). Or, le GMPc module l'activité contractile cardiaque de manière généralement opposée à celle de l'AMPC (39, 61, 66, 137, 170, 174, 192, 197, 206, 207, 215). Par symétrie avec la voie de l'AMPC, il a été envisagé que les effets inotropes négatifs du GMPc seraient dus à une inhibition de I_{Ca} . Les premières études montrent en effet que le GMPc réduit l'influx de ^{45}Ca (137), raccourcit la durée du potentiel d'action (191), et inhibe les potentiels d'action lents dépendant de l'entrée de Ca^{2+} (19, 92, 121, 204). Les expériences de potentiel imposé qui ont suivi montrent toutefois que le GMPc n'exerce aucun effet sur le courant I_{Ca} (136, 154). Ces premières données électrophysiologiques, obtenues sur des préparations cardiaques multicellulaires, ont été démenties ensuite lorsque les effets du GMPc ont été étudiés à l'aide de la technique du patch-clamp sur des myocytes ventriculaires cardiaques isolés de coeurs de différents animaux. En effet, aussi bien chez la grenouille (49, 67), le cobaye (103, 144), le rat (126), et l'embryon de poulet (18, 190, 203), le GMPc produit des effets inhibiteurs sur le courant I_{Ca} . De la même manière, le GMPc inhibe également le courant calcique de myocytes cardiaques humains (18). Des expériences combinant les techniques de patch-clamp et de perfusion intracellulaire (67) ont permis d'examiner les effets d'application intracellulaire d'AMPC, de GMPc, et de leurs analogues non hydrolysables, ainsi que de la protéine kinase dépendante du GMPc (PK-GMPc) dans les myocytes isolés cardiaques. De telles études ont permis d'élucider les mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation de I_{Ca} par le GMPc. Trois différentes protéines liant le GMPc apparaissent jouer un rôle déterminant dans cette régulation, avec des différences inter espèces importantes. Ces protéines sont vraisemblablement impliquées à des degrés divers dans les effets cardiaques des activateurs de synthèse du GMPc, tels que les peptides natriurétiques et le monoxyde d'azote (NO).

La phosphodiesterase activée par le GMPc (PDE2)

Plusieurs données expérimentales semblent indiquer une participation de l'activation par le GMPc d'une phosphodiesterase assurant l'hydrolyse de l'AMPc dans les effets inotropes négatifs du GMPc. En effet, la concentration en AMPc est généralement diminuée dans le cœur lorsque la concentration en GMPc augmente (42, 54, 206). Par ailleurs, une phosphodiesterase activée par le GMPc (PDE2) a été identifiée dans des études biochimiques, aussi bien dans le tissu cardiaque (13, 93, 112, 116, 133, 136) que dans les myocytes cardiaques isolés (15, 22, 173). Dans des expériences de patch-clamp menées sur des myocytes isolés de ventricule de grenouille, l'utilisation d'un dérivé non hydrolysable du GMPc (le 8-Br-GMPc) ou de l'AMPc (le 8-Br-AMPc) a permis de montrer que l'inhibition de I_{Ca} induite par le GMPc passait par une activation de la PDE2. En effet : 1) le GMPc n'a pas d'effet sur un courant calcique I_{Ca} stimulé par perfusion intracellulaire de 8-Br-AMPc ; 2) le 8-Br-GMPc (qui est un activateur puissant de la PK-GMPc mais non pas de la PDE2) n'a pas d'effet sur I_{Ca} ; 3) les effets inhibiteurs du GMPc sur un courant I_{Ca} activé par l'AMPc sont antagonisés par l'isobutyl-méthyl-xanthine (IBMX), un inhibiteur non sélectif des phosphodiesterases (49, 67). Par ailleurs, des données biochimiques et électrophysiologiques renforcent l'hypothèse d'une implication de la PDE2 dans la régulation de I_{Ca} chez la grenouille. En effet : 1) une activité de type PDE2 a été caractérisée dans les myocytes ventriculaires de grenouille avec une sensibilité au GMPc ($K_a \approx 1,1 \mu M$) comparable à celle observée pour I_{Ca} ($IC_{50} \approx 0,6 \mu M$) (173) ; 2) la sensibilité à l'IBMX est la même pour les effets du GMPc sur la PDE2 et sur I_{Ca} (49, 50, 67, 173). D'autre part, lorsque le GMPc est présent dans les dosages d'activité phosphodiesterasique dans le ventricule de grenouille, l'activité de la PDE2 dépasse largement l'activité des autres formes de phosphodiesterases (50, 51, 173). Ceci indique une capacité d'hydrolyse de l'AMPc bien plus importante pour la PDE2 que pour les autres formes de phosphodiesterase, et pourrait expliquer pourquoi le GMPc exerce des effets inhibiteurs sur I_{Ca} même lorsque le courant calcique est augmenté au préalable par des concentrations massives d'isoprénaline ou d'AMPc. Enfin, plus récemment, un inhibiteur puissant de la PDE2 a été identifié. Il s'agit de l'EHNA (érythro-9-(hydroxyl-3-nonyl)-adénine), classiquement utilisé comme inhibiteur de l'adénosine déaminase. L'EHNA est un puissant inhibiteur de l'activité PDE2 dans les préparations cardiaques (128, 148). Dans des expériences de patch-clamp sur myocyte isolé de grenouille, l'EHNA antagonise totalement les effets inhibiteurs du GMPc sur le courant calcique, et ce à des concentrations 10 fois inférieures à celles nécessaires dans le cas de l'IBMX (124, 128). Il est à noter qu'en présence de GMPc, les inhibiteurs des autres formes de phosphodiesterases, les PDE3 et PDE4, n'ont pas d'effet sur I_{Ca} (50).

Il est intéressant de noter que, en plus de son rôle régulateur sur l'amplitude du courant calcique dans le myocyte cardiaque, la PDE2 participerait également dans la réponse de différents autres types cellulaires au GMPc ou à des activateurs de sa synthèse, tel que le peptide atrial natriurétique (ANP) (100, 114, 211).

La protéine kinase dépendante du GMPc

Divers études indiquent que le GMPc peut également moduler l'amplitude du courant calcique cardiaque d'une manière indépendante de son effet sur la PDE2. A l'origine de cette observation, il faut citer les résultats obtenus dans le cœur de cobaye montrant que le GMPc inhibe les potentiels d'action lents sans entraîner de modification apparente de la concentration en AMPc (187). Des études plus récentes de patch-clamp, sur myocytes isolés de ventricules de rat, de cobaye, et d'embryon de poulet, renforcent l'hypothèse que, contrairement aux myocytes ventriculaires de

grenouille, le mécanisme principal impliqué dans l'inhibition de I_{Ca} induite par le GMPc dans ces cellules serait une activation de la PK-GMPc (18, 103, 126, 203, 181). Dans ces cellules, l'effet inhibiteur du GMPc sur I_{Ca} se manifeste même lorsque le courant calcique a été préalablement activé par le 8-Br-AMPC ou l'IBMX (18, 103, 126). Par ailleurs, le 8-Br-GMPc mime les effets du GMPc sur ces myocytes (103, 126, 144). Dans aucune de ces préparations, l'effet inhibiteur du GMPc ne s'accompagne d'une modification des courbes courant-potentiel ou des courbes d'inactivation (18, 126). Dans le myocyte ventriculaire d'embryon de poulet, le GMPc ou le 8-Br-GMPc inhibent aussi bien le courant calcique basal (c'est à dire en l'absence d'une stimulation préalable de I_{Ca} par la voie de l'AMPC) que celui activé par l'isoprénaline, agoniste des récepteurs β -adrénergiques. Cet effet est accompagné d'un prolongement des temps de fermeture des canaux calciques (190). D'autres évidences en faveur d'une participation de la PK-GMPc dans les effets inhibiteurs du GMPc sur I_{Ca} ont été obtenues dans les myocytes ventriculaires de rat perfusés intracellulairement avec de la PK-GMPc purifiée. Pour ce type d'expérience, afin d'éliminer toute contamination d'autres effets possibles du GMPc, il a été nécessaire de modifier par trypsinisation partielle la PK-GMPc purifiée en une forme constitutivement active qui ne nécessite pas la présence de GMPc pour son activation (73, 164). Ce traitement transforme le dimère de 165 kDa que forme l'enzyme complet de la PK-GMPc en un monomère de 65 kDa. La perfusion intracellulaire de ce fragment, à des concentrations de 10 à 100 nM, dans les myocytes ventriculaires de rat produit une inhibition de 30 à 70% du courant calcique préalablement stimulé par l'AMPC ou le 8-Br-AMPC. Cet effet est sensiblement identique à celui produit par une concentration de 0,1 à 1 μ M de GMPc ou de 8-Br-GMPc (126). La concentration plus importante de GMPc ou de son analogue nécessaire pour produire un effet sur I_{Ca} est vraisemblablement due à quelque hydrolyse de ces nucléotides cycliques dans la cellule et au fait que 4 molécules de GMPc sont nécessaires pour activer une seule molécule de PK-GMPc.

Des expériences complémentaires ont indiqué que l'effet de la PK-GMPc sur I_{Ca} se situe vraisemblablement en aval de la phosphorylation des canaux calciques par la PK-AMPC. En effet, le GMPc est capable d'inhiber I_{Ca} même en présence d'ATP γ S, un analogue non-hydrolysable de l'ATP, dans le milieu intracellulaire (126). Ceci suggère que la régulation par la PK-GMPc se fait sur le substrat même de la PK-AMPC, et non pas, comme cela a été suggéré récemment dans des cellules pituitaires, sur une activité phosphatase responsable de la déphosphorylation des substrats de la PK-AMPC (213). L'explication la plus simple est que le canal calcique est lui-même une cible de phosphorylation par la PK-GMPc. A ce propos, il a été montré dans des conditions *in vitro* que les sous unités α 1 et β du canal calcique du muscle squelettique pouvaient être phosphorylées par la PK-GMPc (81).

La PK-GMPc peut produire d'autres effets dans le cœur qu'une simple inhibition de I_{Ca} . En effet, l'activation de la PK-GMPc entraîne une diminution de la sensibilité au calcium des myofilaments (30, 147, 172), et phosphoryle *in vitro* la sous unité inhibitrice de la troponine (21, 108). D'autres études *in vitro* suggèrent que la PK-GMPc peut réguler la fonction cardiaque au niveau du myocyte par la phosphorylation de plusieurs autres substrats, tels qu'une protéine de 70 kDa identifiée dans le cytosol de cœur de rat (216), une protéine de 50 kDa présente dans le sarcolemme de cobaye (36), le phospholamban (149, 159, mais voir réf. 77), et le récepteur à la ryanodine (183). Par ailleurs, dans d'autres tissus que le cœur, le GMPc et la PK-GMPc peuvent moduler l'activité de différents types de canaux ioniques, tels que des canaux Na^+ (106), Cl^- (95, 107), et K^+ (4, 28, 33, 43, 141, 160, 185). Dans les cellules musculaires lisses vasculaires, la PK-GMPc pourrait être impliquée dans la régulation de canaux calciques activés par les récepteurs membranaires (20, 60) ou par le potentiel de membrane (29, 40, 145, 186), de l'échange Na^+/Ca^{2+} (56), et des sites intracellulaires calciques sensibles à l' IP_3 (142). Enfin, la PK-GMPc régule l'activité de canaux calciques dans certaines

cellules nerveuses (122, 140, 146), et pourrait être impliquée dans le phénomène de potentiation de longue durée (221).

La phosphodiesterase inhibée par le GMPc (PDE3)

Une des formes de phosphodiesterase assurant l'hydrolyse de l'AMPc dans les myocytes cardiaques est la phosphodiesterase inhibée par le GMPc (PDE3). La PDE3 semble jouer un rôle majeur dans la régulation du courant calcique cardiaque. En effet, dans des expériences de patch-clamp sur myocytes isolés de ventricule de grenouille, deux inhibiteurs spécifiques de la PDE3, la milrinone et l'indolidan (LY195115), produisent une forte stimulation de I_{Ca} lorsque l'AMPc est présent à des concentrations non maximales dans le milieu intracellulaire (50). A l'inverse, aucun de ces composés n'agit sur I_{Ca} en l'absence d'AMPc (50). Si l'activité de la PDE3 est importante dans la régulation de I_{Ca} dans le myocyte cardiaque, il est possible d'envisager une participation de la PDE3 dans les effets du GMPc (50, 51). En effet, une des caractéristiques essentielles de la PDE3 est sa forte sensibilité au GMPc, le GMPc inhibant fortement l'activité de l'enzyme (12). L'inhibition par le GMPc de la PDE3 devrait se traduire par une augmentation de I_{Ca} . Or, si la PDE3 est clairement exprimée au niveau du cœur de grenouille (24, 112, 123), le GMPc, comme on l'a vu plus haut, ne produit que des effets inhibiteurs sur I_{Ca} dans cette préparation. Ceci suggère que, en présence de GMPc, l'activité enzymatique de la PDE2 dépasse largement celle de la PDE3 (50). Toutefois, la situation pourrait varier suivant les espèces animales. Dans le myocyte ventriculaire de cobaye où, comme on l'a vu plus haut, l'inhibition de I_{Ca} induite par le GMPc serait due à l'activation de la PK-GMPc plutôt qu'à une activation de PDE2 (103), le GMPc peut, dans certaines conditions, entraîner une augmentation de I_{Ca} . En effet, pour de faibles concentrations de GMPc, I_{Ca} augmente dans ces cellules tandis que pour de plus fortes concentrations, I_{Ca} diminue (144). L'augmentation de I_{Ca} par le GMPc est également accompagnée dans cette préparation d'une augmentation du courant chlore activé par l'AMPc (142, 143). Lorsque le GMPc est remplacé par le 8-Br-GMPc ou bien par la PK-GMPc, seule une diminution de I_{Ca} est observée (144). L'effet stimulant du GMPc dans cette préparation serait dû à une inhibition de la PDE3 puisque 1) des données biochimiques confirment la présence de PDE3 dans le cœur de cobaye (153, 210) et que 2) le GMPc n'exerce plus d'effet stimulant sur I_{Ca} en présence de milrinone, un inhibiteur sélectif de PDE3 (144). Il est à noter que si la séparation des effets activateurs (à faibles concentrations) et inhibiteurs (à fortes concentrations) du GMPc sur I_{Ca} est possible dans des myocytes intacts, les sensibilités des PDE3 et PK-GMPc vis à vis du GMPc apparaissent identiques dans des conditions *in vitro* (11, 207).

Un effet direct du GMPc sur les canaux calciques ?

Le GMPc est capable d'activer de manière directe un canal ionique dans les cellules de bâtonnet rétiniens (86), dans les cellules olfactives (135), et dans les cellules de ganglion rétinale (1). Par ailleurs, le GMPc inhibe de manière directe un canal ionique dans les cellules rénales de la partie médullaire du canal collecteur (106 ; pour une revue voir réfs. 99, 218). Dans les myocytes cardiaques du noeud sino-atrial, le GMPc pourrait aussi activer de manière directe le canal responsable du courant I_f , bien que à un degré moindre que l'AMPc (40). On peut donc se demander si le GMPc peut agir également sur l'activité des canaux calciques cardiaques par une interaction directe entre le nucléotide et le canal. Ceci semble toutefois peu vraisemblable puisque la structure moléculaire du canal calcique cardiaque ne laisse pas apparaître de site de liaison putatif pour des nucléotides cycliques (130). Dans les expériences sur myocyte ventriculaire de grenouille, les effets inhibiteurs du GMPc sur I_{Ca} n'apparaissent pas être dus à un effet direct du GMPc sur le canal calcique puisque,

d'une part, le GMPc n'a pas d'effet en présence de 8-Br-AMPC, et que, d'autre part, l'IBMX antagonise les effets du GMPc (49, 67). Une conclusion semblable s'impose à partir des données obtenues dans le myocyte de rat. Dans cette préparation, les effets inhibiteurs du GMPc sont irréversibles lorsque la cellule est perfusée avec de l'ATP γ S, suggérant un effet du GMPc faisant intervenir une étape de phosphorylation plutôt qu'un effet direct sur le canal calcique (126). Toutefois, il reste à examiner l'existence éventuelle d'une régulation directe par le GMPc d'autres types de canaux ioniques dans les myocytes cardiaques. Il apparaît en effet qu'un canal sensible au GMPc serait exprimé dans le système cardiovasculaire (16, 17).

Existence de cibles endogènes du GMPc dans les myocytes cardiaques

Comme on l'a vu plus haut, de nombreuses études ont permis d'établir l'existence des différentes phosphodiésterases sensibles au GMPc et de la PK-GMPc dans les myocytes cardiaques (109). Différentes formes de phosphodiésterases ont été identifiées aussi bien dans les tissus cardiaques que dans les myocytes isolés, à l'exception, toutefois, de la phosphodiésterase activée par la Ca²⁺-calmoduline (PDE1) dont la présence dans les myocytes cardiaques est contestée (15, 22, 133, 139). Les phosphodiésterases PDE2 et PDE3 sont clairement présentes dans les myocytes cardiaques, et leur activité peut être révélée par l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs, dont certains sont des outils thérapeutiques (11, 12, 14, 139, 152).

Des données obtenues en Western blot ont permis d'établir la présence de PK-GMPc dans les myocytes cardiaques de rat (126). Ces mêmes myocytes avaient été utilisés dans des expériences de patch-clamp pour l'étude des effets du GMPc sur I_{Ca} (126). Dans ces myocytes, la concentration de PK-GMPc est toutefois considérablement plus faible que celle obtenue dans d'autres types cellulaires (26, 41, 111), tels que les cellules musculaires lisses de la trachée de bœuf (46). Les faibles concentrations de PK-GMPc dans les myocytes sont vraisemblablement à l'origine des difficultés rencontrées dans d'autres études pour la détection de cette enzyme par des méthodes immunocytochimiques (26, 164, 206).

Régulation du courant calcique cardiaque par les activateurs de synthèse du GMPc

Les myocytes cardiaques possèdent deux familles différentes de guanylate cyclase. La première est constituée des récepteurs membranaires aux peptides natriurétiques, ANP (atrial natriuretic peptide) et BNP (brain natriuretic peptide) (3, 164, 205, 220). La liaison de l'ANP ou du BNP sur le domaine extracellulaire de ce type de récepteur induit une augmentation de l'activité catalytique du domaine intracellulaire. L'ANP se lie au sarcolemme de myocytes cardiaques avec forte ($K_d \approx 10$ pM) et basse affinités ($K_d \approx 1$ nM) (138, 157). La deuxième famille de guanylate cyclase cardiaque est un hétéro-dimère ($\alpha\beta$) soluble qui est activé par le monoxyde d'azote (NO) et les donneurs de NO (131, 164, 205), ainsi que par d'autres ligands tels que les acides gras non saturés (194), le monoxyde de carbone et les radicaux libres (162, 164). L'activation de la guanylate cyclase soluble par ces agents semble être due à une liaison sur le site hème de l'enzyme, bien que l'hypothèse d'une modification des groupements thiol de la protéine ne soit pas totalement écartée (131, 164, 179, 193, 195).

Régulation de I_{Ca} par les peptides natriurétiques

Les peptides natriurétiques ANP et BNP sont tous deux sécrétés par le cœur et agissent sur le courant calcique cardiaque (18, 72, 101, 159, 177, 178, 189). A l'inverse, le CNP, un autre membre de la familles des peptides natriurétiques, n'a pas d'effet sur I_{Ca} (178). Toutefois, des variations importantes existent dans les effets de ces peptides sur I_{Ca} entre les différentes espèces animales (grenouille, rat, cobaye, Homme) ou même entre différentes cellules d'une même espèce (rat). Des concentrations d'ANP ou de BNP comprises entre la nanomole et la micromole ont soit un effet activateur sur I_{Ca} (ventricule de rat : 72, 178 ; oreillette humaine : 101), soit un effet inhibiteur (ventricule de rat : 78, 178 ; ventricule de poulet : 18 ; myocytes de cœur humain embryonnaire : 18), soit même un effet nul sur le courant I_{Ca} basal (ventricule de grenouille : 59). A ces mêmes concentrations, l'ANP ou le BNP induisent une augmentation de la concentration intracellulaire en GMPc d'un facteur 2 à 5 (34, 66, 118). Toutefois, après stimulation de I_{Ca} par des agonistes β -adrénergiques, l'ANP et le BNP exercent toujours un effet inhibiteur sur I_{Ca} , à des degrés qui peuvent cependant varier d'une espèce animale à l'autre. Les effets de l'ANP ou du BNP semblent dépendre de la présence ou non de GTP dans le milieu intracellulaire. Ainsi, dans les myocytes cardiaques de rat, de cobaye, et dans les myocytes humains, les effets activateurs de l'ANP et du BNP sur I_{Ca} observés en l'absence de GTP se transforment en des effets inhibiteurs en présence de GTP (72, 101, 178). Ceci suggère que le GTP pourrait être un facteur limitant pour l'action inhibitrice des peptides natriurétiques mais pas pour leur effet activateur sur I_{Ca} . Il est toutefois à noter que les deux effets opposés de ces peptides sur I_{Ca} disparaissent totalement chez le rat lorsque le GTP est remplacé par le GDP β S (178). Les mécanismes impliqués dans la régulation de I_{Ca} par l'ANP et le BNP n'ont pas encore été totalement élucidés. Deux observations suggèrent néanmoins que l'effet inhibiteur serait du à l'activation de la PK-GMPc : 1) dans les myocytes ventriculaires d'embryon de poulet, l'effet inhibiteur de l'ANP sur I_{Ca} n'est pas additif avec l'effet inhibiteur du 8-Br-GMPc (18) ; 2) dans les myocytes atriaux humains, l'ANP antagonise l'effet activateur de l'IBMX sur I_{Ca} (101). De plus, il a été clairement établi que la régulation par l'ANP du co-transporteur $Na^+/K^+/Cl^-$ dans les myocytes cardiaques de mammifères passerait par une augmentation du GMPc et une activation de la PK-GMPc (31, 32). Toutefois, dans le myocyte ventriculaire de grenouille, l'ANP est sans effet sur un courant I_{Ca} préalablement stimulé par une perfusion intracellulaire d'AMPc, alors qu'il inhibe fortement le courant I_{Ca} préalablement stimulé par l'isoprénaline (59). Dans cette préparation, l'ANP semble donc agir en amont de la synthèse d'AMPc, probablement en inhibant l'activité de l'adénylate cyclase (voir aussi réfs. 2, 118). L'effet stimulant de l'ANP sur I_{Ca} est encore moins bien caractérisé que l'effet inhibiteur. Dans les myocytes atriaux humains, des données expérimentales semblent indiquer que cet effet passerait par une activation d'une protéine G de type G_s (101) puisqu'une substitution du GTP intracellulaire par le GTP γ S entraîne une activation de I_{Ca} comparable à celle induite par l'ANP, et que l'ANP n'exerce pas d'effet additionnel dans ces conditions (101).

Régulation de I_{Ca} par le monoxyde d'azote

Le cœur libère du NO (87), et le NO augmente l'activité de la guanylate cyclase soluble dans le cœur (79). Une manière simple d'examiner si le NO agit sur le myocyte cardiaque et d'exposer un myocyte cardiaque à des donneurs de NO. Ces agents, tels que le glycérol trinitrate, le nitroprussiate de sodium (SNP), ou la 3-morpholino-sydnonymine (SIN-1), relâchent le NO en solution d'une manière spontanée ou suite à une modification métabolique (44). Dans les myocytes ventriculaires de grenouille, les donneurs de NO agissent sur le courant calcique I_{Ca} d'une manière qui semble être corrélée avec leurs effets sur les taux intracellulaires en GMPc (127). Tout d'abord, comme le GMPc, les donneurs de NO tels que le SIN-1 ou le SNP n'agissent pas sur le courant calcique à l'état basal, c'est à dire en l'absence d'une activation de la cascade de l'AMPc. Cette observation, retrouvée aussi

bien sur les myocytes de grenouille que sur les myocytes ventriculaires de cobaye (202) et de rat (observation non publiée), permet de conclure à l'absence d'effet direct de ces composés sur la protéine canal Ca^{2+} , à l'inverse de certains autres agents possédant des propriétés d'oxydo-réduction (97). En revanche, lorsque le courant I_{Ca} est stimulé soit par une activation des récepteurs β -adrénergiques, soit par la forskoline (activateur direct de l'adénylate cyclase), soit directement par l'AMPC, les donneurs de NO tels que le SIN-1 ou le SNP inhibent fortement I_{Ca} (104, 127, 202). Chez la grenouille, cet effet inhibiteur est observé pour des concentrations de l'ordre de la micromole et est attribué à une activation par le GMPc de la PDE2 (127). En effet : 1) le SIN-1 et le SNP stimulent l'activité de la guanylate cyclase dans le ventricule de grenouille (127) ; 2) l'effet inhibiteur du SIN-1 sur I_{Ca} ne se manifeste plus lorsque le courant I_{Ca} est stimulé par le 8-Br-AMPC, dérivé non-hydrolysable du GMPc (127) ; et 3) l'effet inhibiteur du SIN-1 disparaît en présence d'EHNA qui, comme on l'a vu plus haut, agit en inhibant la PDE2 (128). Dans les myocytes ventriculaires de cobaye (104, 202) et dans les myocytes du noeud sino-atrial de lapin (62, 63), les effets inhibiteurs du SIN-1 et du SNP seraient plutôt dus à une activation de la PK-GMPc, ce qui rappelle les différences rencontrées déjà entre grenouille et mammifères dans les effets inhibiteurs du GMPc (mais voir réf. 63). Il est à noter que, aussi bien chez la grenouille (127) que chez le cobaye (104, 202), les effets inhibiteurs des donneurs de NO sur I_{Ca} sont antagonisés par des inhibiteurs putatifs de la guanylate cyclase soluble, tels que le bleu de méthylène ou le LY83583.

En plus de ses effets inhibiteurs sur I_{Ca} , le SIN-1 peut également produire une augmentation de I_{Ca} . Dans les myocytes ventriculaires de grenouille, cet effet se manifeste essentiellement à des concentrations de l'ordre de la nanomole, et apparaît préférentiellement lorsque le courant I_{Ca} a été préalablement stimulé par la forskoline plutôt que par l'isoprénaline ou l'AMPC (127). Cet effet est également observé chez le cobaye lorsque le courant I_{Ca} a été stimulé de manière non maximale par l'AMPC intracellulaire (202). Plus récemment, nous avons montré que le SIN-1 produit une forte stimulation du courant I_{Ca} dans le myocyte atrial humain (89). Toutefois, à l'inverse des autres préparations étudiées jusqu'alors, cet effet s'observe sur un courant calcique basal, c'est à dire en l'absence d'une stimulation préalable de la cascade de l'AMPC (89). Bien que le mécanisme exact de l'effet stimulateur du SIN-1 sur I_{Ca} n'ait pas été totalement élucidé, une hypothèse plausible est que cet effet serait dû à une inhibition par le GMPc de la PDE3. En effet, aussi bien chez la grenouille (127) que chez l'Homme (89), le SIN-1 n'exerce plus d'effet activateur lorsque la PDE3 a été inhibée par la milrinone.

Rôle physiologique de la voie du GMPc/NO dans le cœur ?

Il est maintenant incontestable que l'AMPC joue un rôle majeur de second messenger dans le cœur. La stimulation du courant I_{Ca} par la cascade de l'AMPC explique en grande partie les effets inotropes positifs de plusieurs neuromédiateurs ou hormones, tels que les agonistes β -adrénergiques (48, 69, 70, 84), l'histamine (75, 102), et le glucagon (123), ainsi que ceux produits par des agents connus pour stimuler la synthèse de l'AMPC, tels que la forskoline (68, 83), ou pour inhiber sa dégradation, tels que les inhibiteurs de PDE3 ou de PDE4 (50, 51, 173).

Toutefois, le rôle de second messenger du GMPc dans le cœur est beaucoup moins bien établi. Par exemple, la participation de ce nucléotide dans les effets inotropes des activateurs de synthèse du GMPc, tels que les peptides natriurétiques ou les donneurs de NO, reste encore incertaine. La première mise en évidence d'une modulation des taux intracellulaires en GMPc dans le cœur a été obtenue en réponse à l'acétylcholine (ACh) (58). Mais le rôle précis joué par la voie du GMPc dans les effets inotropes cardiaques de l'ACh est également controversé (49, 66). Comme on va le voir plus

bas, des résultats contradictoires sont parus dans la littérature concernant l'implication ou non du GMPc dans les réponses cardiaques à l'ACh. Une des difficultés à élucider de manière précise les mécanismes impliqués dans les effets de l'ACh est que certaines expériences ont été réalisées au niveau du myocyte isolé, et d'autres sur des préparations cardiaques multicellulaires. Or on sait que ces dernières contiennent différents types cellulaires en dehors des myocytes cardiaques, tels que cellules endothéliales et cellules musculaires vasculaires, et que la réponse de ces cellules à l'ACh fait intervenir des mécanismes totalement différents. Par ailleurs, des interactions complexes existent entre ces différents types cellulaires (55). Enfin, l'ACh exerce un effet important activateur sur le courant K^+ muscarinique (96, 182) lequel ne fait certainement pas intervenir le GMPc (52) mais peut participer à des degrés divers suivant le tissu cardiaque considéré à l'effet inotrope négatif de l'ACh. L'évaluation du rôle joué par le GMPc dans l'action de l'ACh est rendue plus difficile encore par l'existence d'un effet inhibiteur puissant des récepteurs muscariniques sur l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par les agonistes β -adrénergiques (effet anti-adrénergique de l'ACh : 48, 66, 74).

Récemment, de nombreuses études sont parues visant à déterminer la participation de la voie du GMPc/NO dans les effets contractiles et électrophysiologiques cardiaques de l'ACh. Parmi ces études, plusieurs avaient pour but d'examiner l'implication d'une activité NO-synthétase (NOS), enzyme responsable de la synthèse de NO, dans l'effet inotrope négatif de l'ACh. Les résultats sont toutefois contradictoires : l'effet inotrope négatif de l'ACh apparaît dépendre d'une activation de la NOS dans le ventricule de rat (7, 115) et dans le myocarde de chien (67), mais semble être indépendant d'une activation de NOS dans les myocytes ventriculaires de cobaye (180), le muscle papillaire de lapin (78) et le myocarde ventriculaire humain (88). D'autres études sur la régulation du courant calcique I_{Ca} par l'ACh apportent des arguments en faveur d'une implication de la voie du GMPc/NO dans cette régulation. Tout d'abord, dans les myocytes ventriculaires de cobaye, l'ACh ou le carbachol inhibent la stimulation de I_{Ca} par l'IBMX, c'est à dire en l'absence d'une stimulation de l'adénylate cyclase (74, 104, 132). Cet effet de l'ACh ou du carbachol est bloqué par le LY83583 (132) ou le bleu de méthylène (104), ce qui suggère (115 ; mais voir réfs. 9, 94, 113, 117, 134, 155) l'implication d'une guanylate cyclase. Ensuite, dans les myocytes du noeud sino-atrial de lapin, la régulation muscarinique de I_{Ca} est bloquée par les analogues de l'arginine qui inhibent l'activité de la NOS (62, 63). Ces analogues inhibent également l'effet chronotrope négatif des agonistes muscariniques dans les myocytes cardiaques de rat (6). A coté de ces données en faveur d'une participation de la voie du GMPc/NO dans les effets de l'ACh sur I_{Ca} , plusieurs autres études semblent écarter toute action de l'ACh autre qu'une inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase (66, 82, 125). L'argument majeur de ces études est le fait que l'ACh est incapable de diminuer un courant I_{Ca} préalablement stimulé par une perfusion intracellulaire d'AMPc (48, 74), alors que dans ces mêmes conditions, le GMPc produit un effet inhibiteur (49, 67).

L'utilisation des donneurs de NO est aussi à l'origine de conclusions contradictoires en ce qui concerne l'implication du NO dans l'activité contractile cardiaque (85, 164, 205). Par exemple, l'inhibition de la NOS par les analogues de l'arginine n'a pas d'effet sur la contractilité cardiaque spontanée (57, 80, 188), alors qu'on observe une diminution des concentrations intracellulaires en GMPc (90, 98). Néanmoins, suivant les études, les analogues de l'arginine accélèrent (chez le rat, réf. 217) ou ralentissent (chez le chien, réfs. 212, 214, mais voir réf. 208) le battement cardiaque. De la même manière, ces analogues ont des effets contradictoires sur l'augmentation de la force de contraction cardiaque induite par les agents β -adrénergiques (6, 8, 90). Toutefois, il n'est pas certain que tous les effets des analogues de l'arginine peuvent s'expliquer simplement par une inhibition de l'activité de la NOS (5, 27, 155).

La régulation du courant I_{Ca} par les donneurs de NO peut, toutefois, avoir des implications physiologiques. En effet, le NO, qui est un facteur relaxant libéré par l'endothélium vasculaire (EDRF : réfs. 44, 45, 55), peut aussi être libéré par les cellules de l'endothélium endocardique (91, 165, 175, 201), par des neurones intracardiaques (71, 91, 163, 184, 201), et par les myocytes cardiaques eux-mêmes (166, 167). Par ailleurs, le NO libéré par les cellules endothéliales des micro-vaisseaux coronariens peut diffuser librement vers les myocytes cardiaques avoisinants (25, 201). Par conséquent, aussi bien à la périphérie du cœur que dans la masse cardiaque, le NO libéré peut atteindre les myocytes cardiaques et modifier leur fonctionnement. Il est à noter que lorsqu'on endommage l'endothélium vasculaire (105, 119, 150, 151) ou l'endothélium endocardique (25, 169, 176), la fonction cardiaque est fortement modifiée. En particulier, certains neuromédiateurs sont alors incapables de stimuler les taux intracellulaires en GMPc (25, 129, 168, 169, 171, 176). Par conséquent, il est probable que le NO endogène libéré par ces tissus module l'activité cardiaque dans les conditions physiologiques. Par ailleurs, les neuromédiateurs qui sont responsables d'une stimulation de la production de NO dans le cœur (6, 98) peuvent réguler l'activité cardiaque par ce biais.

Enfin, il est vraisemblable que le NO et la NO-synthétase jouent un rôle dans certaines pathologies cardiaques (37). Par exemple, certaines études ont montré des effets à court terme des endotoxines ou des cytokines (47, 219 ; mais voir aussi réfs. 8, 10). Tandis que ces effets à court terme peuvent entraîner des modifications du courant I_{Ca} (156) et de l'homéostasie calcique (219), l'implication de la voie du NO dans ces effets reste controversée. Toutefois, des applications prolongées d'endotoxines ou de cytokines peuvent induire des effets à long terme dus à l'activation de l'expression d'une forme inductible de NO-synthétase dans certains types cellulaires, dont les myocytes cardiaques (8, 38, 161, 167, 175, 198, 200). De telles conditions s'accompagnent d'une diminution de l'activité contractile (8, 23, 199, 200) qui peut être atténuée par des analogues de l'arginine. Ceci permet d'envisager que, selon l'état général du tissu cardiaque considéré, le NO peut jouer un rôle de messager bi-directionnel entre les myocytes cardiaques et les autres types cellulaires.

Remerciements. L'ensemble du travail effectué dans notre laboratoire et discuté dans cette revue a été rendu possible grâce à des subventions de la Fondation pour la Recherche Médicale, de l'Association Française contre les Myopathies, de la Fédération Française de Cardiologie, et de l'Association Recherche et Partage.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ahmad I., Leinderszuffall T., Kocsis J.D., Shepherd G.M., Zufall F. & Barnstable C.J., Retinal ganglion cells express a cGMP-gated cation conductance activatable by nitric oxide donors. *Neuron*, 1994, 12, 155-165.
2. Anand-Srivastava M. B. & Cantin M., Atrial natriuretic factor receptors are negatively coupled to adenylate cyclase in cultured atrial and ventricular cardiocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1986, 138, 427-436.
3. Anand-Srivastava M. B. & Trachte G. J., Atrial natriuretic factor receptors and signal transduction mechanisms. *Pharmacol. Rev.*, 1993, 45, 455-497.
4. Antoine M. H., Hermann M., Herchuelz A. & Lebrun P., Sodium Nitroprusside Inhibits Glucose-Induced Insulin Release by Activating ATP-Sensitive K⁺ Channels. *Biochim. Biophys. Acta*, 1993, 1175, 293-301.
5. Archer S. L. & Hampl V., N^G-monomethyl-L-arginine causes nitric oxide synthesis in isolated arterial rings - Trouble in paradise. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1992, 188, 590-596.
6. Balligand J.-L., Kelly R.A., Marsden P. A., Smith T.W. & Michel T., Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 347-351.
7. Balligand J.-L., Kobzik L., Han X. Q., Kaye D. M., Belhassen L., Ohara D. S., Kelly R. A., Smith T. W. & Michel T., Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 14582-14586.
8. Balligand J.-L., Ungureanu D., Kelly R. A. *et al.*, Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium. *J. Clin. Invest.*, 1993, 91, 2314-2319.
9. Barbier A. J. M. & Lefebvre R. A., Effect of LY 83583 on relaxation induced by non-adrenergic non-cholinergic nerve stimulation and exogenous nitric oxide in the rat gastric fundus. *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, 219, 331-334.
10. Baydoun A. R., Foale R. D. & Mann G. E., Bacterial endotoxin rapidly stimulates prolonged endothelium vasodilatation in the rat isolated perfused heart. *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 109, 987-991.
11. Beavo J. A., Multiple isozymes of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Adv. Sec. Mess. Phosphoprot. Res.*, 1988, 22, 1-38.
12. Beavo J. A., Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Functional implications of multiple isoforms. *Physiol. Rev.*, 1995, 75, 725-748.
13. Beavo J. A., Hardmann J. G. & Sutherland E. W., Stimulation of adenosine 3',5' monophosphate hydrolysis by guanosine 3',5' monophosphate. *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, 3841-3846.
14. Beavo J. A. & Reifsnyder D H., Primary sequence of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes and the design of selective inhibitors. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1990, 11, 150-155.

15. Bethke T., Meyer W., Schmitz W. *et al.*, Phosphodiesterase inhibition in ventricular cardiomyocytes from guinea-pig hearts. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 107, 127-133.
16. Biel M., Altenhofen W., Hullin R. *et al.*, Primary structure and functional expression of a cyclic nucleotide-gated channel from rabbit aorta. *FEBS Lett.*, 1993, 329, 134-138.
17. Biel M., Zong X. G., Distler M. *et al.*, Another member of the cyclic nucleotide-gated channel family, expressed in testis, kidney, and heart. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 3505-3509.
18. Bkaily G., Perron N., Wang S., Sculptoreanu A., Jacques D. & Menard D., Atrial natriuretic factor blocks the high-threshold Ca²⁺ current and increases K⁺ current in fetal single ventricular cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1993, 25, 1305-1316.
19. Bkaily G. & Sperelakis N., Injection of guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate into heart cells blocks calcium slow channels. *Am. J. Physiol.*, 1985, 248, H745-H749.
20. Blayney L. M., Gapper P. W. & Newby A. C., Inhibition of a receptor-operated calcium channel in pig aortic microsomes by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Biochem. J.*, 1991, 273, 803-806.
21. Blumenthal D. K., Stull J. T. & Gill G. N., Phosphorylation of cardiac troponin by guanosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1978, 253, 334-336.
22. Bode D. C., Kanter J. R. & Brunton L. L., Cellular distribution of phosphodiesterase isoforms in rat cardiac tissue. *Circ. Res.*, 1991, 68, 1070-1079.
23. Brady A. J. B., Poole-Wilson P. A., Harding S. E. & Warren J. B., Nitric oxide production within cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia. *Am. J. Physiol.*, 1992, 263, H1963-H1966.
24. Brechler V., Pavoine C., Hanf R., Garbarz E., Fischmeister R. & Pecker F., Inhibition by glucagon of the cGMP-inhibited low-K_m cAMP phosphodiesterase in heart is mediated by a pertussis toxin-sensitive G-protein. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 15496-15501.
25. Brutsaert D. L. & Andries L. J., The endocardial endothelium. *Am. J. Physiol.*, 1992, 263, H985-H1002.
26. Butt E., Geiger J., Jarchau T., Lohmann S M. & Walter U., The cGMP-dependent protein kinase - Gene, protein, and function. *Neurochem. Res.*, 1993, 18, 27-42.
27. Buxton I. L., Cheek D. J., Eckman D., Westfall D., Sanders K. M. & Keef K D., N^G-nitro L-arginine methyl esters and others alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ. Res.*, 1993, 72, 387-395.
28. Chesnoy-Marchais D. & Fritsch J., Potassium currents and effects of vitamin D3 metabolites and cyclic GMP in rat osteoblastic cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1993, 1148, 239-248.
29. Clapp L. H. & Gurney A. M., Modulation of calcium movements by nitroprusside in isolated vascular smooth muscle cells. *Pflügers Arch.*, 1991, 418, 462-470.
30. Clément O., Pucéat M., Walsh M. P. & Vassort G., Protein kinases change the calcium sensitivity of cardiac myofilaments in skinned single rat cells. *Circulation* 1990, 82, III-216.
31. Clemo H. F. & Baumgarten C. M., Atrial natriuretic factor decreases cell volume of rabbit atrial and ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.*, 1991, 260, C681-C690.

32. Clemo H. F., Feher J. J. & Baumgarten C. M., Modulation of rabbit ventricular cell volume and $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransport by cGMP and atrial natriuretic factor. *J. Gen. Physiol.*, 1992, 100, 89-114.
33. Cook S. P. & Babcock D. F., Selective modulation by cGMP of the K^+ channel activated by speract. *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 22402-22407.
34. Cramb G., Banks R., Rugg E. L. & Aiton J. F., Actions of atrial natriuretic peptide (ANP) on cyclic nucleotide concentrations and phosphatidylinositol turnover in ventricular myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1987, 148, 962-970.
35. Crozatier B., Bases moléculaires et fonctionnement physiologique des récepteurs bêta-adénergiques. *Réalités Cardiol.*, 1992, 35, 24-28.
36. Cuppoletti J., Thakkar J., Sperelakis N. & Wahler G., Cardiac sarcolemmal substrate of the cGMP-dependent protein kinase. *Membrane Biochem.*, 1989, 7, 135-142
37. Debelder A. J., Radomski M. W., Martin J. F. & Moncada S., Nitric oxide and the pathogenesis of heart muscle disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1995, 25, 1-8.
38. Debelder A. J., Radomski M. W. & Why H. J. F. *et al.*, Nitric oxide synthase activities in human myocardium. *Lancet*, 1993, 341, 84-85.
39. Diamond J., Ten Eick R. E. & Trapani AJ., Are increases in cyclic GMP levels responsible for the negative inotropic effects of acetylcholine in heart? *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1977, 79, 912-917.
40. DiFrancesco D. & Tortora P., Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cAMP. *Nature (Lond.)*, 1991, 351, 145-147.
41. Eigenthaler M., Friedrich C., Schanzenbächer P. & Walter U., Concentration and regulation of cyclic nucleotides, vasodilator-regulated protein kinases and one of their substrates in human platelets. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1990, 20, A16.
42. Endoh M., Correlation of cyclic AMP and cyclic GMP levels with changes in contractile force of dog ventricular myocardium during cholinergic antagonism of positive inotropic actions of histamine., glucagon., theophylline and papaverine. *Jap. J. Pharmacol.*, 1979, 9, 855-864.
43. Farrugia G. & Rae J. L., Regulation of a potassium-selective current in rabbit corneal epithelium by cyclic GMP, carbachol and diltiazem. *J. Membr. Biol.*, 1992, 129, 99-107.
44. Feelisch M., The biochemical pathways of nitric oxide formation from nitrovasodilators : appropriate choice of exogenous NO donors and aspects of preparation and handling of aqueous NO solutions. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1991, 17 (suppl 3), S25-S33.
45. Feelisch W., Poel M. T., Zamora R., Deussen A. & Moncada S., Understanding the controversy over the identity of EDRF. *Nature (Lond.)*, 1994, 368, 62-65.
46. Felbel J., Trockur B., Ecker T., Landgraf W. & Hofmann F., Regulation of cytosolic calcium by cAMP and cGMP in freshly isolated smooth muscle cells from bovine trachea. *J. Biol. Chem.*, 1988, 263, 16764-16771.
47. Finkel M. S., Oddis C. V., Jacob T. D., Watkins S. C., Hattler B. G. & Simmons R. L., Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science*, 1992, 257, 387-389.

48. Fischmeister R. & Hartzell H. C., Mechanism of action of acetylcholine on calcium current in single cells from frog ventricle. *J. Physiol. (Lond.)*, 1986, 376, 183-202.
49. Fischmeister R. & Hartzell H. C., Cyclic guanosine 3',5'-monophosphate regulates the calcium current in single cells from frog ventricle. *J. Physiol. (Lond.)*, 1987, 387, 453-472.
50. Fischmeister R. & Hartzell H. C., Regulation of calcium current by low-Km cyclic AMP phosphodiesterases in cardiac cells. *Mol. Pharmacol.*, 1990, 38, 426-433.
51. Fischmeister R. & Hartzell H. C., Cyclic AMP phosphodiesterases and Ca²⁺ current regulation in cardiac cells. *Life Sci.*, 1991, 48, 2365-2376.
52. Fleming B. P., Giles W. & Lederer J., Are acetylcholine-induced increases in 42K efflux mediated by intracellular cyclic GMP in turtle cardiac pacemaker tissue? *J. Physiol. (Lond.)*, 1981, 314, 47-64.
53. Fleming J. W., Wisler P. L. & Watanabe A. M., Signal transduction by G proteins in cardiac tissues. *Circulation*, 1992, 85, 420-433.
54. Flitney F. W. & Singh J., Evidence that cyclic GMP may regulate cyclic AMP metabolism in isolated frog ventricle. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1981, 13, 963-979.
55. Furchgott R. F., The discovery of endothelium-dependent relaxation. *Circulation*, 1993, 87 (suppl V), V3-V8.
56. Furukawa K. I., Ohshima N., Tawada-Iwata Y. & Shigekawa M., Cyclic GMP stimulates Na⁺/Ca²⁺ exchange in vascular smooth muscle cells in primary culture. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 12337-12341.
57. Garcia J. L., Fernandez N., Garcia-Villalon A. L., Monge L., Gomez B. & Dieguez G., Effects of nitric oxide synthesis inhibition on the goat coronary circulation under basal conditions and after vasodilator stimulation. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 106, 563-567.
58. George W. J., Polson J. B., O'Toole A. G. & Goldberg N., Elevation of 3',5'-cyclic phosphate in rat heart after perfusion with acetylcholine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1970, 66, 398-403.
59. Gisbert M.-P. & Fischmeister R., Atrial natriuretic factor regulates the calcium current in frog isolated cardiac cells. *Circ. Res.*, 1988, 62, 660-667.
60. Godfraind T., EDRF and cyclic GMP control gating of receptor-operated calcium channels in vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 1986, 126, 341-343.
61. Goldberg N. D. & Haddox M. K., Cyclic GMP metabolism and involvement in biological regulation. *Ann. Rev. Biochem.*, 1977, 46, 823-896.
62. Han X., Shimoni Y. & Giles W. R., An obligatory role for nitric oxide in autonomic control of mammalian heart rate. *J. Physiol. (Lond.)*, 1994, 476, 309-314.
63. Han X., Shimoni Y. & Giles W. R., A cellular mechanism for nitric oxide-mediated cholinergic control of mammalian heart rate. *J. Gen. Physiol.*, 1995, 106, 45-65.
64. Hare J. M. & Colucci W. S., Role of nitric oxide in the regulation of myocardial function. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 1995, 38, 155-166.

65. Hare J. M., Keaney J. F., Balligand J. L., Loscalzo J., Smith T. W. & Colucci W. S., Role of nitric oxide in parasympathetic modulation of beta-adrenergic myocardial contractility in normal dogs. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95, 360-366.
66. Hartzell H. C., Regulation of cardiac ion channels by catecholamines., acetylcholine and 2nd messenger systems. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 1988, 52, 165-247.
67. Hartzell H. C. & Fischmeister R., Opposite effects of cyclic GMP and cyclic AMP on Ca²⁺ current in single heart cells. *Nature (Lond.)*, 1986, 323, 273-275.
68. Hartzell H. C. & Fischmeister R., Effect of forskolin and acetylcholine on calcium current in single isolated cardiac myocytes. *Mol. Pharmacol.*, 1987, 32, 639-645.
69. Hartzell H. C. & Fischmeister R., Direct regulation of cardiac Ca²⁺ channels by G-proteins - Neither proven nor necessary? *Trends Pharmacol. Sci.*, 1992, 13, 380-385.
70. Hartzell H. C., Méry P-F., Fischmeister R & Szabo G., Sympathetic regulation of cardiac calcium current is due exclusively to cAMP-dependent phosphorylation. *Nature (Lond.)*, 1991, 351, 573-576.
71. Hassall C. J., Saffrey M. J., Belai A. *et al.*, Nitric oxide synthase immunoreactivity and NADPH-diaphorase activity in a subpopulation of intrinsic neurones of the guinea-pig heart. *Neurosci. Lett.*, 1992, 143, 65-68.
72. Hatem S. N. & Morad M., Regulation of the calcium channel and contraction by brain natriuretic peptide in rat ventricular myocytes. *Biophys. J.*, 1992, 61, A394.
73. Heil W. G., Landgraf W. & Hofmann F., A catalytically active fragment of cGMP-dependent protein kinase. *Eur. J. Biochem.*, 1987, 168, 117-121.
74. Hescheler J., Kameyama M. & Trautwein W., On the mechanism of muscarinic inhibition of the cardiac Ca current. *Pflügers Arch.*, 1986, 407, 182-189.
75. Hescheler J., Tang M., Jastorff B. & Trautwein W., On the mechanism of histamine induced enhancement of the cardiac Ca²⁺ current. *Pflügers Arch.*, 1987, 410, 23-29.
76. Hofmann F., Nastainczyk W., Röhrkasten A., Schneider T. & Sieber M., Regulation of the L-type calcium channel. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1987, 8, 393-398.
77. Huggins J. P., Cook E. A., Piggott J. R., Mattinsley T. J. & England P. J., Phospholamban is a good substrate for cyclic GMP-dependent protein kinase *in vitro* but not in intact cardiac or smooth muscle. *Biochem. J.*, 1989, 260, 829-835.
78. Hui J., Tabatabaei A. & Macleod K. M., L- NMMA blocks carbachol-induced increases in cGMP levels but not decreases in tension in the presence of forskolin in rabbit papillary muscles. *Cardiovasc. Res.*, 1995, 30, 372-376.
79. Ishibashi T., Hamaguchi M., Kato K. *et al.*, Relationship between myoglobin contents and increases in cyclic GMP produced by glycerol trinitrate and nitric oxide in rabbit aorta., right atrium and papillary muscle. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1993, 347, 553-561.
80. Ishikawa T., Hume J. R. & Keef K. D., Regulation of calcium channels by cAMP and cGMP in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 1993, 73, 1128-1137.

81. Jahn H., Nastainczyk W., Röhrkasten A., Schneider T. & Hofmann F., Site-specific phosphorylation of the purified receptor for calcium channel blockers by cAMP- and cGMP-dependent protein kinases, protein kinase C, calmodulin-dependent protein kinase II and casein kinase II. *Eur. J. Biochem.*, 1988, 178, 535-542.
82. Jurevicius J. & Fischmeister R., Acetylcholine inhibits Ca current by acting exclusively at a site proximal to adenylyl cyclase in frog cardiac myocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1996, (sous presse).
83. Kameyama M., Hescheler J., Hofmann F. & Trautwein W., Modulation of Ca current during the phosphorylation cycle in the guinea pig heart. *Pflügers Arch.*, 1986, 407, 123-128.
84. Kameyama M., Hofmann F. & Trautwein W., On the mechanism of β -adrenergic regulation of the Ca channel in the guinea-pig heart. *Pflügers Arch.*, 1985, 405, 285-293.
85. Katsuki S., Arnold W. P. & Murad F., Effects of sodium nitroprusside, nitroglycerin and sodium azide on levels of cyclic nucleotides and mechanical activity in various tissues. *J. Cyclic Nucleot. Res.*, 1977, 3, 239-247.
86. Kaupp U. B., The cyclic nucleotide-gated channels of vertebrate photoreceptors and olfactory epithelium. *Trends Neurosci.*, 1991, 14, 150-157.
87. Kelm M. & Shrader J., Nitric oxide release from the isolated guinea-pig heart. *Eur. J. Pharmacol.*, 1988, 155, 317-321.
88. Kilter H., Lenz O., Larose K., Flesch M., Schwinger R. H. G., Madge M., Kuhnregnier F. & Böhm M., Evidence against a role of nitric oxide in the indirect negative inotropic effect of M-cholinoceptor stimulation in human ventricular myocardium. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1995, 352, 308-312.
89. Kirstein M., Rivet-Bastide M., Hatem S., Benardeau A., Mercadier J. J. & Fischmeister R., Nitric oxide regulates the calcium current in isolated human atrial myocytes. *J. Clin. Invest.*, 1995, 95, 794-802.
90. Klabunde R. E., Kimber N. D., Kuk J. E., Helgren M. C. & Förstermann U., N^G-methyl-L-arginine decreases contractility, cGMP and cAMP in isoproterenol-stimulated rat hearts in vitro. *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, 223, 1-7.
91. Klimaschewski L., Kummer W., Mayer B. *et al.*, Nitric oxide synthase in cardiac nerve fibers and neurons of rat and guinea-pig heart. *Circ. Res.*, 1992, 71, 1533-1537.
92. Kohlhardt M. & Haap K., 8-Bromo-guanosine 3',5'-monophosphate mimics the effect of acetylcholine on slow response action potential and contractile force in mammalian atrial myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1978, 10, 573-586.
93. Komasa N., Le Bec A., Stoclet J.-C. & Lugnier C., Cardiac cGMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase : effects of cGMP analogues and drugs. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991, 206, 5-13.
94. Kontos H. A. & Wei E. P., Hydroxyl radical dependent inactivation of guanylate cyclase in cerebral arterioles by methylene blue and by LY83583. *Stroke*, 1993, 24, 427-434.
95. Kunzelmann K., Kubitz R., Grolig M., Warth R. & Greger R., Small-conductance chloride channels in HT(29) cells - Activation by Ca²⁺, hypotonic cell swelling and 8-Br-cGMP. *Pflügers Arch.*, 1992, 421, 238-246.

96. Kurachi Y., G-protein control of cardiac potassium channels. *Trends Cardiovasc. Med.*, 1994, 4, 64-69.
97. Lacampagne A. & Argibay J. A., Alteration in L-type calcium current by chemical modification of sulphhydryl groups in guinea-pig isolated cardiocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1993, 467, 357P.
98. Lamontagne D., Pohl U. & Busse R., N^G-nitro-L-arginine antagonizes endothelium-dependent dilator responses by inhibiting endothelium-derived relaxing factor release in the isolated rabbit heart. *Pflügers Arch.*, 1991, 418, 266-270.
99. Latorre R., Bacigalupo J., Delgado R. & Labarca P., Four cases of direct ion channel gating by cyclic nucleotides. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 1991, 23, 577-597.
100. Lee M. A., West R. E. Jr. & Moss J., Atrial natriuretic factor reduces cyclic adenosine monophosphate content of human fibroblasts by enhancing phosphodiesterase activity. *J. Clin. Invest.*, 1988, 82, 388-393.
101. Legrand B., Deroubaix E., Couetil J.-P. & Coraboeuf E., Effects of atrionatriuretic factor on Ca²⁺ current and Ca_i-independent transient outward K⁺ current in human atrial cells. *Pflügers Arch.*, 1992, 421, 486-491.
102. Levi R. C. & Alloatti G., Histamine modulates calcium current in guinea-pig ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1988, 246, 377-383.
103. Levi R. C., Alloatti G. & Fischmeister R., Cyclic GMP regulates the Ca-channel current in guinea pig ventricular myocytes. *Pflügers Arch.*, 1989, 413, 685-687.
104. Levi R. C., Alloatti G., Penna C. & Gallo M. P., Guanylate-cyclase-mediated inhibition of cardiac I_{Ca} by carbachol and sodium nitroprusside. *Pflügers Arch.*, 1994, 426, 419-426.
105. Li K., Rouleau J. L., Andries L. J. & Brutsaert D. L., Effect of dysfunctionnal vascular endothelium on myocardial performances in isolated papillary muscles. *Circ. Res.*, 1993, 72, 768-777.
106. Light D. B., Corbin J. D. & Stanton B. A., Dual ion-channel regulation by cyclic GMP and cyclic GMP-dependent protein kinase. *Nature (Lond.)*, 1990, 344, 336-339.
107. Lin M. Q., Nairn A. C. & Guggino S. E., cGMP-dependent protein kinase regulation of a chloride channel in T84 cells. *Am. J. Physiol.*, 1992, 262, C1304-C1312.
108. Lincoln T. M. & Corbin J. D., Purified cyclic GMP-dependent protein kinase catalyzes the phosphorylation of cardiac troponin inhibitory subunit (TN-I). *J. Biol. Chem.*, 1978, 253, 337-339.
109. Lincoln T. M. & Cornwell T. L., Intracellular cyclic GMP receptor proteins. *FASEB J.*, 1993, 7, 328-338.
110. Lohmann S. M., Fischmeister R. & Walter U., Signal transduction by cGMP in heart. *Basic Res. Cardiol.*, 1991, 86, 503-514.
111. Lohmann S. M., Walter U., Miller P. E., Greengard P. & DeCamilli P., Immunohistochemical localization of cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 653-657.

112. Lugnier C., Gauthier C., Le Bec A. & Soustre H., Cyclic nucleotide phosphodiesterases from frog atrial fibers - isolation and drug sensitivities. *Am. J. Physiol.*, 1992, 262, H654-H660.
113. L  ond R. M., McKie J. H., Douglas K. T., A direct link between LY83583, a selective repressor of cyclic GMP formation, and glutathione metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 1993, 45, 2547-2549.
114. MacFarland R. T., Zelus B. D. & Beavo J. A., High concentrations of a cGMP-stimulated phosphodiesterase mediate ANP-induced decreases in cAMP and steroidogenesis in adrenal glomerulosa cells. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 136-142.
115. Marczin N., Ryan U. S. & Catravas J. D., Methylene blue inhibits nitrovasodilator-derived and endothelium-derived relaxing factor-induced cyclic GMP accumulation in cultured pulmonary arterial smooth muscle cells via generation of superoxide anion. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1992, 263, 170-179.
116. Martins T. J., Mumby M. C. & Beavo J. A., Purification and characterization of a cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase from bovine tissues. *J. Biol. Chem.*, 1982, 257, 1973-1979.
117. Mayer B., Brunner F. & Schmidt K., Inhibition of nitric oxide synthesis by methylene blue. *Biochem. Pharmacol.*, 1993, 45, 367-374.
118. McCall D. & Fried T. A., Effect of atriopeptin II on Ca influx, contractile behavior and cyclic nucleotide content of cultured neonatal rat myocardial cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1990, 22, 201-212.
119. McClellan G., Weisberg A., Lin L. E., Rose D., Ramaciotti C. & Winegrad S., Endothelial cells are required for the cAMP regulation of cardiac contractile proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 2885-2889.
120. McDonald T.F., Pelzer S., Trautwein W. & Pelzer D.J., Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal, and smooth muscle cells. *Physiol. Rev.*, 1994, 74, 365-507.
121. Mehegan J. P., Muir W. W., Unverferth D. V., Fertel R. H. & McGuirk S. M., Electrophysiological effects of cyclic GMP on canine cardiac Purkinje fibers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1985, 7, 30-35.
122. Meriney S. D., Gray D. B. & Pilar G. R., Somatostatin-induced inhibition of calcium current modulated by cGMP-dependent protein kinase. *Nature (Lond.)*, 1994, 369, 336-339.
123. M  ry P.-F., Brechler V., Pavoine C., Pecker F. & Fischmeister R., Glucagon stimulates the cardiac Ca²⁺ current by activation of adenylyl cyclase and inhibition of phosphodiesterase. *Nature (Lond.)*, 1990, 345, 158-161.
124. M  ry P.-F., Fischmeister R., Podzuweit T. & M  ller A., Cyclic GMP inhibition of Ca current in frog ventricular myocytes is reversed by MEP1, a selective inhibitor of the cGMP-stimulated phosphodiesterase. *J. Physiol. (Lond.)*, 1993, 459, 421P.
125. M  ry P.-F., Hove-Madsen L., Chesnais J.-M., Hartzell H. C. & Fischmeister R., Nitric oxide synthase does not participate in the negative inotropic effect of acetylcholine in the frog heart. *Am. J. Physiol. Heart & Circul. Physiol.*, 1996, (sous presse).

126. Méry P.-F., Lohmann S. M., Walter U. & Fischmeister R., Ca²⁺ current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 1197-1201.
127. Méry P.-F., Pavoine C., Belhassen L., Pecker F. & Fischmeister R., Nitric oxide regulates cardiac Ca²⁺ current - Involvement of cGMP-inhibited and cGMP-stimulated phosphodiesterases through guanylyl cyclase activation. *J. Biol. Chem.*, 1993, 268, 26286-26295.
128. Méry P.-F., Pavoine C., Pecker F. & Fischmeister R., Erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine inhibits cyclic GMP-stimulated phosphodiesterase in isolated cardiac myocytes. *Mol. Pharmacol.*, 1995, 48, 121-130.
129. Meulemans A. L., Sipido K. R., Sys S. U. & Brutsaert D. L., Atriopeptin III induces early relaxation of isolated mammalian papillary muscle. *Circ. Res.*, 1988, 62, 1171-1174.
130. Mikami A., Imoto K., Tanabe T., Niidome T., Mori Y., Takeshima H., Narumiya S. & Numa S., Primary structure and functional expression of the cardiac dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Nature (Lond.)*, 1989, 340, 230-233.
131. Moncada S., Palmer R. M. J. & Higgs E. A., Nitric oxide - Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43, 109-142.
132. Mubagwa K., Shirayama T., Moreau M. & Pappano A. J., Effects of PDE inhibitors and carbachol on the L-type Ca current in guinea pig ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.*, 1993, 265, H1353-H1363.
133. Müller B., Komasa N., Keravis T. & Lugnier C., Cyclic nucleotide phosphodiesterases. *MS - Médecine Sci.*, 1993, 9, 1335-1341.
134. Mulsch A., Busse R., Liebay S. & Förstermann U., LY 83583 interferes with the release of endothelium-derived relaxing factor and inhibits soluble guanylate cyclase. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1988, 247, 283-288.
135. Nakamura T. & Gold G. H., A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature (Lond.)*, 1987, 325, 442-444.
136. Nargeot J., Nerbonne J. M., Engels J. & Lester H. A., Time course of the increase in the myocardial slow inward current after a photochemically generated concentration jump of intracellular cAMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983, 80, 2395-2399.
137. Nawrath H., Does cyclic GMP mediate the negative inotropic effect of acetylcholine in the heart? *Nature (Lond.)*, 1977, 267, 72-74.
138. Neyses L. & Vetter H., Action of atrial natriuretic peptide and angiotensin II on the myocardium: studies in isolated rat ventricular cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1989, 163, 1435-1443.
139. Nicholson C. D., Challis R. A. J. & Shahid M., Differential modulation of tissue function and therapeutic potential of selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1991, 12, 19-27.
140. Nishimura T., Akasu T. & Krier J., Guanosine 3',5'-cyclic monophosphate regulates calcium channels in neurones of rabbit vesical pelvic ganglia. *J. Physiol. (Lond.)*, 1992, 457, 559-574.

141. Ogrady S. M., Cooper K. E. & Rae J. L., Cyclic GMP regulation of a voltage-activated K-channel in dissociated enterocytes. *J. Membr. Biol.*, 1991, 124, 159-167.
142. Ono K., Nakashima Y. & Shioya T., The enhancement of catecholamine-induced Cl⁻ current by cyclic GMP revealed using photolabile caged compounds in guinea-pig ventricular cells. *Pflügers Arch.*, 1993, 424, 546-548.
143. Ono K., Tareen F. M., Yoshida A. & Noma A., Synergistic action of cyclic GMP on catecholamine-induced chloride current in guinea-pig ventricular cells. *J. Physiol. (Lond.)*, 1992, 453, 647-661.
144. Ono K. & Trautwein W., Potentiation by cyclic GMP of β -adrenergic effect on calcium current in guinea-pig ventricular cells. *J. Physiol. (Lond.)*, 1991, 443, 387-404.
145. Oustershout J. M. & Sperelakis N., Cyclic nucleotides depress action potentials in cultured aortic smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 1987, 144, 7-14.
146. Paupardin-Tritsch D., Hammond C., Gerschenfeld H. M., Nairn A. C. & Greengard P., cGMP-dependent protein kinase enhances Ca²⁺ current and potentiates the serotonin-induced Ca²⁺ current increase in snail neurones. *Nature (Lond.)*, 1986, 323, 812-814.
147. Pfitzer G., Rüegg J. C., Flockerzi V. & Hofmann F., cGMP-dependent protein kinase decreases calcium sensitivity of skinned cardiac fibers. *FEBS Lett.*, 1982, 149, 171-175.
148. Podzuweit T., Nennstiel P. & Müller A., Isozyme selective inhibition of cGMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases by erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine. *Cell. Signal.*, 1995, 7, 733-738.
149. Raeymaekers L., Hofmann F. & Casteels R., Cyclic GMP-dependent protein kinase phosphorylates phospholamban in isolated sarcoplasmic reticulum from cardiac and smooth muscle. *Biochem. J.*, 1988, 252, 269-273.
150. Ramaciotti C., McClellan G., Sharkey A., Rose D., Weisberg A. & Winegrad S., Cardiac endothelial cells modulate contractility of rat heart in response to oxygen tension and coronary flow. *Circ. Res.*, 1993, 72, 1044-1064.
151. Ramaciotti C., Sharkey A., McClellan G. & Winegrad S., Endothelial cells regulate cardiac contractility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89, 4033-4036.
152. Reeves M. L., England P. J., Cardiac phosphodiesterases and the functional effects of selective inhibition. In: Beavo J A., Houslay M., eds. Cyclic nucleotide phosphodiesterases : structure., regulation and drug action. John Wiley & sons Ltd., 1990, 2, 299-316.
153. Reeves M. L., Leigh B. K. & England P. J., The identification of a new cyclic nucleotide phosphodiesterase activity in human and guinea-pig cardiac ventricle. Implications for the mechanism of action of selective phosphodiesterase inhibitors. *Biochem. J.*, 1987, 241, 535-541.
154. Richard S., Nerbonne J. M., Nargeot J. & Lester H. A., Photochemically produced intracellular concentration jumps of cAMP mimic the effects of catecholamines on excitation-contraction coupling in frog atrial fibers. *Pflügers Arch.*, 1985, 403, 312-317.
155. Rosenblum W. I., Endothelium-derived relaxing factor in brain blood vessels is not nitric oxide. *Stroke*, 1992, 23, 1527-1532.

156. Rozanski G. J. & Witt R. C., Interleukin-1 enhances β -responsiveness of L-type calcium current during acidosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1993, 25(III), S45.
157. Rugg E. L., Aiton J. F. & Cramb G., Atrial natriuretic peptide receptors and activation of guanylate cyclase in rat cardiac sarcolemma. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 1989, 162, 1339-1345.
158. Ruth P., Wang G. X., Boekhoff I. *et al.*, Transfected cGMP-dependent protein kinase suppresses calcium transients by inhibition of inositol 1.,4.,5-trisphosphate production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 2623-2627.
159. Sabine B., Willenbrock R., Haase H., Karczewski P., Wallukat G., Dietz R. & Krause E. G., Cyclic GMP- mediated phospholamban phosphorylation in intact cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1995, 214, 75-80.
160. Sakuta H., Okamoto K. & Watanabe Y., Modification by cGMP of glibenclamide- sensitive K^+ currents in *Xenopus* oocytes. *Jap. J. Pharmacol.*, 1993, 61, 259-262.
161. Salter M., Knowles R. G. & Moncada S., Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca-dependent and Ca-independent nitric oxide synthases. *FEBS Lett.*, 1991, 291, 145-149.
162. Schmidt H. H. H. W., NO, CO and OH: Endogenous soluble guanylyl cyclase- activating factors. *FEBS Lett.*, 1992, 307, 102-107.
163. Schmidt H. H. H. W., Gagne G. D., Nakane M., Pollock J. S., Miller M. F. & Murad F., Mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggests frequent co-localization with NADPH diaphorase but not with soluble guanylyl cyclase, and novel paraneural functions for nitrinergic signal transduction. *J. Histochem. Cytochem.*, 1992, 40, 1439-1456.
164. Schmidt H. H. H. W., Lohmann S. M. & Walter U., The nitric oxide and cGMP signal transduction system: regulation and mechanism of action. *Bioch. Biophys. Acta*, 1993, 1178, 153-175.
165. Schulz R. & Moncada S., Nitric oxide synthase in cultured endocardial cells of the pig. *Brit. J. Pharmacol.*, 1991, 104, 21-24.
166. Schulz R., Nava E. & Moncada S., Induction and potential biological relevance of a Ca^{2+} - independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 105, 575-580.
167. Shah A. M., Nitric oxide synthase activities in human myocardium. *Lancet*, 1993, 341, 448.
168. Shah A. M. & Lewis M. J., Endothelial modulation of myocardial contraction - mechanisms and potential relevance in cardiac disease. *Basic Res. Cardiol.*, 1992, 87, 59-70.
169. Shah A. M. & Lewis M. J., Modulation of myocardial contraction by endocardial and coronary vascular endothelium. *Trends Cardiovasc. Med.*, 1993, 3, 98-103.
170. Shah A. M., Lewis M. J. & Henderson A. H., Effects of 8-Bromo-cyclic GMP on contraction and on inotropic response of ferret cardiac muscle. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1991, 23, 55-64.
171. Shah A. M., Smith J. A. & Lewis M. J., Role of endocardium in the modulation of contraction of isolated papillary muscles of the ferret. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1991, 17 (Suppl. 3), S251-S257.

172. Shah A. M., Spurgeon H. A., Sollott S. J., Talo A. & Lakatta E. G., 8-Bromo-cGMP reduces the myofilament response to Ca²⁺ in intact cardiac myocytes. *Circ. Res.*, 1994, 74, 970-978.
173. Simmons M. A. & Hartzell H. C., Role of phosphodiesterase in regulation of calcium current in isolated cardiac myocytes. *Mol. Pharmacol.*, 1988, 33, 664-671.
174. Singh J. & Flitney F. W., Inotropic responses of the frog ventricle to dibutyryl cyclic AMP and 8-bromo-cyclic GMP and related changes in endogenous cyclic nucleotide levels. *Biochem. Pharmacol.*, 1981, 30, 1475-1481.
175. Smith J. A., Radomski M. W., Schulz R., Moncada S. & Lewis M. J., Porcine ventricular endocardial cells in culture express the inducible form of nitric oxide synthase. *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 108, 1107-1110.
176. Smith J. A., Shah A. M. & Lewis M. J., Factors released from endocardium of the ferret and pig modulate myocardial contraction. *J. Physiol. (Lond.)*, 1991, 439, 1-14.
177. Sorbera L. A. & Morad M., Atrionatriuretic peptide transforms cardiac sodium channels into calcium-conducting channels. *Science*, 1990, 247, 969-973.
178. Sorbera L. A. & Morad M., The effect of natriuretic peptides on sodium and calcium channels of mammalian cardiac myocytes. *Biophys. J.*, 1992, 61, A394.
179. Stamler J. S., Singel D. J. & Loscalzo J., Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, 1992, 258, 1898-1902.
180. Stein B., Drogemuller A., Mulsch A., Schmitz W. & Scholz H., Ca⁺⁺-dependent constitutive nitric oxide synthase is not involved in the cyclic GMP-increasing effects of carbachol in ventricular cardiomyocytes. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1993, 266, 919-925.
181. Sumii K. & Sperelakis N., cGMP-dependent protein kinase regulation of the L-type Ca²⁺ current in rat ventricular myocytes. *Circ. Res.*, 1995, 77, 803-812.
182. Szabo G. & Otero A. S., G-Protein mediated regulation of K⁺ channels in heart. *Ann. Rev. Physiol.*, 1990, 52, 293-305.
183. Takasago T., Imagawa T., Furukawa K., Ogurusu T. & Shigekawa M., Regulation of the cardiac ryanodine receptor by protein kinase dependent phosphorylation. *J. Biochem.*, 1991, 109, 163-170.
184. Tanaka K., Hassall C. J. & Burnstock G., Distribution of intracardiac neurones and nerve terminals that contain a marker for nitric oxide, NADPH-diaphorase, in the guinea-pig heart. *Cell Tissue Res.*, 1993, 273, 293-300.
185. Taniguchi J., Furukawa K. & Shigekawa M., Maxi K⁺ channels are stimulated by cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase in canine coronary artery smooth muscle cells. *Pflügers Arch.*, 1993, 423, 167-172.
186. Tei M., Horie M., Makita T., Suzuki H., Hazama A., Okada Y. & Kawai C., Atrial natriuretic peptide reduces the basal level of cytosolic free Ca²⁺ in guinea pig cardiac myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1990, 167, 413-418.
187. Thakkar J., Tang S.-B., Sperelakis N. & Wahler G. M., Inhibition of cardiac slow action potentials by 8-bromo-cyclic GMP occurs independent of changes in cyclic AMP levels. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1988, 66, 1092-1095.

188. Thelen K. I., Dembinska-Kiéc A., Pallapies D., Simmet Th. & Peskar B. A., Effect of 3-morpholinonydnonimine (SIN-1) and N^G-nitro-L-arginine on isolated perfused anaphylactic guinea-pig hearts. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1992, 345, 93-99.
189. Tohse N., Nakaya H., Takeda Y. & Kanno M., Cyclic GMP-mediated inhibition of L-type Ca²⁺ channel activity by human natriuretic peptide in rabbit heart cells. *Br. J. Pharmacol.*, 1995, 114, 1076-1082.
190. Tohse N. & Sperelakis N., cGMP inhibits the activity of single calcium channels in embryonic chick heart cells. *Circ. Res.*, 1991, 69, 325-331.
191. Trautwein W., Taniguchi J. & Noma A., The effect of intracellular cyclic nucleotides and calcium on the action potential and acetylcholine response of isolated cardiac cells. *Pflügers Arch.*, 1982, 392, 307-314.
192. Trautwein W. & Trube G., Negative inotropic effect of cyclic GMP in cardiac fiber fragments. *Pflügers Arch.*, 1976, 366, 293-295.
193. Traylor T. G. & Sharma V. S., Why NO ? *Biochemistry*, 1992, 31, 2847-2849.
194. Tremblay J., Gerzer R. & Hamet P., Cyclic GMP and cell function. *Adv. Sec. Messenger Phosphoprot. Res.*, 1988, 22, 319-383.
195. Tsai A. L., How does NO activate heme proteins? *FEBS Lett.*, 1994, 341, 141-145.
196. Tsien R. W., Bean B. P., Hess P., Lansman J. B., Nilius B. & Nowycky M., Mechanisms of calcium channel modulation by β -adrenergic agents and dihydropyridine calcium agonists. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1986, 18, 691-710.
197. Tuganowski W. & Kopec P., The effect of cGMP in rabbit auricle as studied by a cut-end method. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1978, 304, 211-213.
198. Ungureanu-Longrois D., Balligand J. L., Kelly R. A. & Smith T. W., Myocardial contractile dysfunction in the systemic inflammatory response syndrome: Role of a cytokine- inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1995, 27, 155-167.
199. Ungureanu-Longrois D., Balligand J. L., Okada I., Simmons W. W., Kobzik L., Lowenstein C. J., Kunkel S. L., Michel T., Kelly R. A. & Smith T. W., Contractile responsiveness of ventricular myocytes to isoproterenol is regulated by induction of nitric oxide synthase activity in cardiac microvascular endothelial cells in heterotypic primary culture. *Circ. Res.*, 1995, 77, 486-493.
200. Ungureanu-Longrois D., Balligand J. L., Simmons W. W., Okada I., Kobzik L., Lowenstein C. J., Kunkel S. L., Michel T., Kelly R. A. & Smith T. W., Induction of nitric oxide synthase activity by cytokines in ventricular myocytes is necessary but not sufficient to decrease contractile responsiveness to beta-adrenergic agonists. *Circ. Res.*, 1995, 77, 494-502.
201. Ursell P. C. & Mayes M., The majority of nitric oxide synthase in pig heart is vascular and not neural. *Cardiovasc. Res.*, 1993, 27, 1920-1924.
202. Wahler G. M. & Dollinger S. J., Nitric oxide donor SIN-1 inhibits mammalian cardiac calcium current through cGMP-dependent protein kinase. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.*, 1995, 37, C45-C54.

203. Wahler G. M., Rusch N. J & Sperelakis N., 8-Bromo-cyclic GMP inhibits the calcium channel current in embryonic chick ventricular myocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1990, 68, 531-534.
204. Wahler G. M. & Sperelakis N., Intracellular injection of cyclic GMP depresses cardiac slow action potentials. *J. Cyclic Nucleot. Prot. Phosphoryl. Res.*, 1985, 10, 83-95.
205. Waldman S. A. & Murad F., Cyclic GMP synthesis and function. *Pharmacol. Rev.*, 1987, 39, 163-196.
206. Walter U., Cyclic GMP-regulated enzymes and their possible physiological functions. *Adv. Cycl. Nucl. Prot. Phosph. Res.*, 1984, 17, 249-258.
207. Walter U., Physiological role of cGMP and cGMP-dependent protein kinase in the cardiovascular system. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 1989, 113, 42-88.
208. Wang Y.-X. & Pang C. C. Y., Possible dependence of pressor and heart rate effects of N^G-nitro-L-arginine on autonomic nerve activity. *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 103, 2004-2008.
209. Weber K. T., Cardiac interstitium: extracellular space of the myocardium. In: The Heart and Cardiovascular System, Fozzard HA., Haber E., Jennings RB., Katz AM., Morgan HE (Eds)., Raven Press., New York., 1991, pp. 1465-1480.
210. Weishaar R. E., Kobylarz-Singer D. C., Steffen R. P. & Kaplan H. R., Subclasses of cyclic AMP-specific phosphodiesterase in left ventricular muscle and their involvement in regulating myocardial contractility. *Circ. Res.*, 1987, 61, 539-547.
211. Whalin M. E., Scammel J. G., Strada S. J. & Thompson W. J., Phosphodiesterase II., the cGMP-activatable cyclic nucleotide phosphodiesterase., regulates cyclic AMP metabolism in PC12 cells. *Mol. Pharmacol.*, 1991, 39, 711-717.
212. White D. G., Drew G. M., Gurden J. M., Penny D. M., Roach A. G. & Watts I. S., The effect of N^G-nitro-L-arginine methyl ester upon basal blood flow and endothelium-dependent vasodilatation in the dog hindlimb. *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 108, 763-768.
213. White R. E., Lee A. B., Shcherbatko A. D., Lincoln T. M., Schonbrunn A. & Armstrong D. L., Potassium channel stimulation by natriuretic peptides through cGMP-dependent dephosphorylation. *Nature (Lond.)*, 1993, 361, 263-266.
214. Widdop R. E., Gardiner S. M., Kemp P. A. & Bennett T., The influence of atropine and atenolol on the cardiac haemodynamic effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester in conscious, Long Evans rats. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 105, 653-656.
215. Wilkerson R. D., Paddock R. J. & George W. J., Effects of derivatives of cyclic AMP and cyclic GMP on contraction force of cat papillary muscles. *Eur. J. Pharmacol.* 1976, 36, 247-251.
216. Wrenn R. W. & Kuo J. F., Cyclic GMP-dependent phosphorylation of an endogenous protein from rat heart. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1981, 101, 1274-1280.
217. Yamazaki J., Fujita N. & Nagao T., N^G-monomethyl-L-arginine-induced pressor response at developmental and established stages in spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1991, 259, 52-57.
218. Yau K. W., Cyclic nucleotide-gated channels - an expanding new family of ion channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1994, 91, 3481-3483.

219. Yokoyama T., Vaca L., Rossen R. D., Durante W., Hazarika P. & Mann D. L., Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in the adult mammalian heart. *J. Clin. Invest.*, 1993, 92, 2303-2312.
220. Yuen P. S. T. & Garbers D. L., Guanylyl cyclase-linked receptors. *Ann. Rev. Neurosci.*, 1992, 15, 193-225.
221. Zhuo M., Hu Y., Schultz C., Kandel E. R. & Hawkins R. D., Role of guanylyl cyclase and cGMP-dependent protein kinase in long term potentiation. *Nature (Lond.)*, 1994, 368, 635-639.