

résumés des communications / Sciences fondamentales

INFLAMMATION ET STRESS OXYDANT DANS LA CALCIFICATION VASCULAIRE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

Agharazii M, St-Louis R, Gauthier-Bastien A, Ung R-V, Mokas S, Larivière R, Richard DE
CRCHU de Québec, L'Hôtel Dieu de Québec, Faculté de Médecine, Université Laval, Québec, Québec

Introduction: La calcification vasculaire en insuffisance rénale chronique (IRC) s'accompagne de la différenciation des cellules musculaires lisses (CML) en des cellules *osteoblast-like*. Ceci est un processus hautement régulé, et possiblement accéléré par des cytokines pro-inflammatoires. Dans cette étude, nous avons examiné le rôle des cytokines inflammatoires et la génération des espèces réactives d'oxygène (ERO) dans la calcification vasculaire en IRC.

Méthodes: IRC est induite chez les rats Wistar par l'ablation de la masse rénale. La calcification vasculaire est induite par une diète riche en calcium et phosphate, et des suppléments de vitamine D (Ca/P/VitD). Après une période de 3-6 semaines, les paramètres hémodynamiques ont été mesurés et l'aorte thoracique a été examinée pour la calcification, infiltration des macrophages, l'expression des cytokines et activation des voies de signalisation ERO-dépendantes.

Résultats: Les rats IRC traités avec Ca/P/VitD ont développé de la calcification médiale accompagnée de l'augmentation de la pression pulsée et de la vélocité de l'onde de pouls. La différenciation des CML a été confirmée par l'augmentation de l'expression de BMP-2 et de l'ostéocalcine et par la réduction de l'expression de α -SMA. L'expression de IL-1 β , IL-6 et TNF était augmentée. Il y a une augmentation de l'expression des sous-unité de NADPH oxydase p22^{phox} et p47^{phox} ainsi qu'une réduction de l'expression des enzymes antioxydant (SOD1, SOD2, Gpx1 et Prdx1). Le taux de peroxiredoxine oxydée, un senseur de génération des ERO, était augmenté avec une activation des voies de signalisation ERO-dépendantes.

Conclusion: Cette étude démontre la relation entre l'inflammation/ERO et la calcification vasculaire en IRC et permet de contribuer à la compréhension des mécanismes complexes impliqués dans la calcification vasculaire des patients atteints d'IRC.

MODULATION MITOCHONDRIALE DES DYNAMIQUES CALCIFIQUES LOCALES DE L'ENDOTHÉLIUM NATIF

Béziau D, Toussaint F, Charbel C, Blanchette A, Mayer G, Ledoux J
Centre de recherche, Institut de Cardiologie de Montréal - Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les patients affectés par l'hypertension artérielle présentent généralement une dysfonction endothéliale. De par sa position stratégique, l'endothélium joue un rôle essentiel dans les régulations physiologiques telles que la vasomotricité ou la perméabilité vasculaire. L'homéostasie calcique est une composante essentielle des mécanismes responsables des fonctions endothéliales. Parmi les dynamiques calciques, les pulsars calciques consistent en une libération spontanée de Ca²⁺ par les récepteurs à l'IP₃ au niveau des jonctions myoendothéliales (JME), afin d'influencer l'état contractile des cellules musculaires lisses vasculaires. Toutefois, les mécanismes régulateurs des pulsars calciques restent à élucider. Il a été démontré que les mitochondries étaient impliquées dans la régulation des réserves en Ca²⁺ du réticulum endoplasmique de plusieurs types cellulaires. Les mitochondries pourraient ainsi être un modulateur majeur des pulsars calciques dans l'endothélium natif.

Méthodes: Pour tester cette hypothèse, les expériences ont été réalisées sur des artères mésentériques de résistance de souris. La distribution mitochondriale dans l'endothélium natif a été déterminée par microscopie électronique à transmission. Puis, l'impact fonctionnel de l'interaction mitochondrie-pulsars calciques a été étudié par microscopie confocale à haute vitesse.

Résultats: Une augmentation significative de la surface occupée par les mitochondries autour de la JME par rapport à la cellule entière est observée en microscopie électronique. D'autre part, les résultats en microscopie confocale en temps réel montrent que le FCCP et la CCCP, découpleurs mitochondriaux, augmentent le nombre de sites de pulsars calciques observés dans l'endothélium natif de souris. Par ailleurs, le Ru360, inhibiteur du transporteur mitochondrial calcique mCU, diminue la fréquence des pulsars calciques.

Conclusion: Ces résultats appuient fortement notre hypothèse puisqu'ils suggèrent que les mitochondries sont disposées autour de la JME et peuvent ainsi moduler l'apparition des pulsars calciques. Les mitochondries de l'endothélium pourraient donc être une composante majeure des mécanismes impliqués dans la fonction endothéliale, notamment dans le contrôle du tonus vasculaire et de la pression artérielle.

HCARG: UN ACTEUR CLÉ DANS LA RÉGULATION DE L'ACTIVATION D'EGFR SUITE À UNE LÉSION RÉNALE

Campion CG, Matsuda H, Tremblay J

Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: L'insuffisance rénale représente un enjeu majeur de santé publique. Plus de deux millions de Canadiens souffrent d'insuffisance rénale et la prévalence des facteurs de risque affectant la fonction rénale, comme le diabète et l'hypertension, ne cessent d'augmenter. En raison du diagnostic tardif, les dommages aux reins sont souvent irréversibles. L'équipe du Dre Tremblay a identifié un gène, *HCaRG* (*Hypertension-related, Calcium-Regulated Gene*) dont la surexpression dans les tubules proximaux rénaux de souris transgéniques a permis un recouvrement accéléré de l'intégrité tissulaire et des fonctions physiologiques rénales, ainsi qu'une réduction significative de l'expression de gènes pro-inflammatoires. Par ailleurs, la surexpression de HCaRG dans un modèle *in vivo* de carcinome rénal inhibe la croissance des tumeurs en ralentissant le cycle cellulaire et en facilitant la redifférenciation des cellules épithéliales. Dans ce modèle, HCaRG a inhibé l'activation des récepteurs EGFR/ErbB et des facteurs des voies de signalisation sous-jacentes. Les récepteurs EGFR/ErbB sont des médiateurs cruciaux de la réparation tissulaire rénale suite à une lésion. L'activation prolongée de ces récepteurs est de plus en plus impliquée dans la pathogénèse des maladies rénales. HCaRG, aussi appelé COMMD5, appartient aux protéines COMMD (*Copper metabolism MURR1 Domain*) qui possèdent un domaine C-terminal hautement conservé leur permettant d'interagir avec d'autres protéines.

Notre hypothèse est que HCaRG module l'activation des récepteurs EGFR/ErbB après une lésion rénale, favorisant la réparation de l'épithélium.

Méthodes: L'activation d'EGFR sera analysée en utilisant des siRNA contre HCaRG dans des cellules rénales traitées avec de l'EGF ou du TGF α . L'imagerie confocale sera utilisée pour étudier la localisation de HCaRG et d'EGFR.

Résultats: Nos résultats révèlent que: a) L'inhibition de l'expression de HCaRG, dans des lignées cellulaires rénales traitées à l'EGF ou au TGF α , inhibe la phosphorylation d'EGFR; b) La surexpression du gène *HCaRG* augmente les niveaux de phosphorylation d'EGFR après 5 min de traitement à l'EGF; c) Cette phosphorylation d'EGFR est plus rapidement régulée à la baisse lorsque HCaRG est surexprimé.

Conclusion: Les résultats issus de ce projet permettront d'éclaircir certains mécanismes de régulation des récepteurs EGFR/ErbB, mais aussi d'envisager HCaRG comme une nouvelle cible thérapeutique dans les mécanismes de réparation tissulaire liés à l'insuffisance rénale.

L'INDUCTION DE LA SUREXPRESSION ENDOTHÉLIALE DE L'ENDOTHÉLINE-1 HUMAINE AUGMENTE LA PRESSION ARTÉRIELLE DE MANIÈRE DÉPENDANTE DU RÉCEPTEUR DE L'ENDOTHÉLINE DE TYPE ACoelho SC¹, Rautureau Y¹, Offermanns S³, Paradis P¹, Schiffrin EL^{1,2}¹ Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec² Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec³ Département de Pharmacologie, *Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research*, Bad Nauheim, Germany

Introduction: L'endothéline (ET)-1, un peptide vasoconstricteur dérivé des cellules endothéliales (CE), est impliquée dans l'hypertension. Des souris surexprimant l'ET-1 humaine dans les CE présentaient des dommages vasculaires, mais pas de changement de pression artérielle (PA), qui pourrait être dû à une adaptation à une vie entière d'exposition à de hauts niveaux d'ET-1. Pour mieux comprendre le rôle de l'ET-1 dans l'hypertension, nous avons développé un modèle de souris présentant une surexpression de l'ET-1 inductible et endothéliale spécifique (ieET-1).

Méthodes: Deux lignées de souris (C134 et C170) exprimant le chloramphénicol acétyltransférase flanqué par des sites LoxP puis l'ET-1 humaine respectivement avant et après l'excision médiée par Cre recombinase, dans toutes les cellules, ont été croisées avec des souris exprimant une protéine Cre recombinase inductible par le tamoxifène (TAM) dans les CE (ieCre) pour générer les souris ieET-1. Les souris ont été traitées ou non avec TAM (1 mg/jour, SC.) pendant 5 j, avec ou sans 10 mg/kg/j PO d'antagoniste du récepteur de l'ET de type A, atrasentan, à partir du jour 9 et sacrifiées 7 j plus tard. La PA systolique a été déterminée par télémétrie. L'excrétion de sodium a été mesurée dans l'urine collectée dans des cages métaboliques. Les niveaux d'ET-1 plasmatique étaient mesurés par ÉLISA.

Résultats: TAM augmentait de 10 et 13 fois les niveaux plasmatiques d'ET-1 chez les souris ieET-1-C134 et C170, respectivement ($P < 0.01$). La PA systolique nocturne était accrue de 20 mmHg chez les souris ieET-1-C134 ($P < 0.001$) et C170 ($P < 0.05$) et non altérée chez les souris ieCre par TAM. Atrasentan a renversé l'accroissement de la PA systolique dans les souris ieET-1-C134 ($P < 0.01$). L'excrétion de sodium dans l'urine n'était pas altérée par la surexpression de l'ET-1 dans les souris ieET-1-C134 par comparaison aux souris témoins.

Conclusion: Ces résultats démontrent que ce nouveau modèle de surexpression EC spécifique et inductible chez la souris présente une élévation de la PA ET-1 dépendante médiée par le récepteur de l'ET de type A.

CARACTÉRISATION DES PROCESSUS MOLÉCULAIRES COUPLANT LA E3 UBIQUITINE LIGASE TRAF6 À L'ACTIVATION D'IKK β PAR L'ANG II DANS LES CMLV

Doyon P, Servant MJ

Faculté de pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: L'angiotensine II (Ang II), suivant sa liaison au récepteur AT1 exprimé par les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV), est impliquée dans plusieurs processus contribuant au remodelage vasculaire, dont l'hypertrophie et l'inflammation. La caractérisation des effecteurs moléculaires couplant l'Ang II à ces derniers événements est donc nécessaire pour l'identification de protéines dont la modulation de l'activité pourrait diminuer les risques de dommages aux organes cibles. Nous avons précédemment établi que le principal effecteur des réponses inflammatoires et hypertrophiques induites par l'Ang II dans les CMLV est la kinase IKK α -IKK β dont l'activation est dépendante de sa phosphorylation par la protéine TGF β -activating kinase. Également, il a été démontré qu'en plus de la phosphorylation, le mécanisme de poly-ubiquitination en lysine 63 (K63) est essentiel à l'activation d'IKK β dans les CMLV exposées à l'Ang II ce qui concorde avec nos observations selon lesquelles la E3 ubiquitine ligase TRAF6 (TRAF6) est impliquée dans l'activation de cette même kinase. Or, les processus moléculaires associant l'ubiquitination et l'activité ubiquitine ligase de TRAF6 à l'activation d'IKK β en réponse à l'Ang II sont inconnus d'où l'objectif de les démystifier.

Méthodes: Immunoprécipitations, immunobuvardages, ARN interférants, essais de synthèse protéique et de migration. Modèles cellulaires: CMLV et fibroblastes embryonnaires de souris TRAF6 $-/-$. Agonistes: Ang II, thrombine, acide lysophosphatidique (LPA).

Résultats: Afin d'activer IKK β en réponse à l'Ang II dans les CMLV, TRAF6 induit la poly-ubiquitination en K63 de la sous-unité régulatrice de cette kinase. Par contre, contrairement au dogme selon lequel les chaînes de poly-ubiquitines en K63 sont liées de manière covalente à la sous-unité régulatrice d'IKK β , nous observons que ce sont plutôt des chaînes libres produites par TRAF6 qui s'y associent. Qui plus est, deux autres agonistes des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG), soit la thrombine et l'acide lysophosphatidique, empruntent le même mécanisme pour l'activation d'IKK β .

Conclusion: Puisque TRAF6 est impliquée dans l'activation d'IKK β , il est un effecteur majeur des processus inflammatoires et hypertrophiques causés par l'Ang II, donc une cible thérapeutique potentielle. De plus, à la suite de nos observations, nous proposons les chaînes libres de poly-ubiquitines en K63 en tant que nouveau second messager pour les RCPG.

RÔLE DE L'INFLAMMATION DANS L'INDUCTION DES DYSFONCTIONS NEUROVASCULAIRES PAR L'ANGIOTENSINE IIDuchemin S¹, Barhoumi T², Vallerand D¹, Paradis P², Schiffrin EL², Girouard H¹¹Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec²Institut Lady Davis de recherches médicales, Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur dans le développement des démences d'origine vasculaire. L'inflammation des artères et l'augmentation de l'activité de la NADPH oxydase suite à l'activation des récepteurs de type 1 de l'angiotensine II (AT1) affectent le couplage neurovasculaire (CNV) ainsi que la fonction endothéliale dans le cerveau. Dans les artères mésentériques de souris perfusées à l'angiotensine II (ANG), la réactivité vasculaire et l'activité de la NADPH oxydase sont rétablies par une injection de lymphocytes T régulateurs (Treg) ou un traitement à l'interleukine-10 (IL-10). Ces résultats suggèrent que l'inflammation aurait un rôle à jouer dans les dysfonctions vasculaires induites par l'ANG.

Méthodes: Des souris C57BL6 perfusées pendant 14 jours avec 1000 ng/kg/min d'ANG ont reçu soit 2 injections de 300 000 cellules Treg, soit 1000 ng d'IL-10 par pompe osmotique. Le débit sanguin cérébral a été mesuré par débitmétrie à l'aide d'une sonde laser Doppler pendant la stimulation des vibrisses, ainsi qu'une superfusion d'acétylcholine (ACh) ou de sodium nitroprussiate (SNP) sur la surface du cortex afin d'évaluer l'intégrité du CNV, de la réactivité du muscle vasculaire lisse et des fonctions endothéliales.

Résultats: L'administration d'ANG pendant deux semaines maintient la pression artérielle élevée de façon stable à partir du troisième jour et altère la réponse vasculaire à la stimulation des moustaches et à l'ACh sans altérer la réponse au SNP. Les Treg rétablissent la réponse à la stimulation des moustaches ainsi qu'à l'ACh sans diminuer la pression artérielle (n= 4-6; p<0.05). La dose d'IL-10 utilisée normalise la réponse aux stimulations de moustache (n= 6-8; p<0.05).

Conclusion: Ces résultats démontrent que les Treg jouent un rôle dans les dysfonctions neurovasculaires induites par l'ANG et suggèrent que cet effet est médié par l'IL-10 libérée des Treg.

RÔLE DU COTRANSPORTEUR POTASSIUM-CHLORURE DE TYPE 3 DANS LA PHYSIOLOGIE CARDIOMÉTABOLIQUE CHEZ LA SOURIS

Garneau A, Noël M, Drolet M-C, Couet J, Larivière R, Lavoie JL, Isenring P
Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Le cotransporteur K^+-Cl^- (KCC3) est une protéine de transport membranaire qui permet l'efflux de K^+ et de Cl^- dans différents types cellulaires, notamment les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLv) et les cardiomyocytes. Différentes équipes ont rapporté que l'inactivation de *Kcc3* s'accompagne d'une hypertension artérielle (HTA) et de différents désordres neurologiques, sans toutefois établir un lien clair ou convaincant entre la fonction du transporteur et la régulation de la pression artérielle (PA).

Méthodes: Afin d'approfondir le rôle de KCC3 dans la physiopathologie de l'HTA, nous avons caractérisé le phénotype d'une souris inactivée constitutivement pour *Kcc3*. Nous avons mesuré la fonction cardiovasculaire par sphymomanométrie, échocardiographie et réactivité aortique *in vitro*. Les niveaux de différents marqueurs moléculaires et de médiateurs vasoactifs ont aussi été évalués par PCR quantitative et ELISA, respectivement. Nous avons complété ces analyses par une surcharge diététique en sel, des dosages biochimiques, des analyses histologiques, des bilans ingesta-excreta en cage métabolique et des tests neurologiques.

Résultats: Nous avons trouvé que l'inactivation de *Kcc3* s'accompagne d'une baisse de la PA pulsée, de la fréquence cardiaque et de la réponse aortique à une stimulation adrénergique ainsi que d'une hausse de la PA diastolique, de la masse cardiaque et de l'aldostéronémie. De façon intéressante, notre modèle murin, présente également une diminution marquée de la masse adipeuse corporelle sans diminution de l'apport calorique.

Conclusion: Les anomalies phénotypiques observées suggèrent que les désordres hémodynamiques sont causés au moins en partie par l'absence de KCC3 dans le tissu cardiovasculaire et qu'ils seraient cohérents avec une augmentation de la résistance vasculaire périphérique, de la distensibilité aortique et du volume des cardiomyocytes. La maigreur des souris inactivées pour *Kcc3* devra faire l'objet d'études métaboliques plus approfondies pour en connaître le mécanisme sous-jacent. Enfin, ces résultats laissent entrevoir l'intérêt de KCC3 comme cible dans le traitement de l'HTA et de l'obésité.

LA RÉSVOLVINE D1 EST UNE MOLÉCULE CLÉ DANS L'EFFET CARDIOPROTECTEUR DES ACIDES GRAS OMÉGA-3

Gilbert K^{1,2}, Malick M^{1,2}, Madingou N^{1,2}, Prud'homme-Touchette C^{1,2}, Bourque-Riel V^{1,2}, Rousseau G^{1,2}

¹Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, Montréal, Québec

²Département de Pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Il est démontré que les acides gras oméga-3 (AG- Ω 3) ont un impact positif sur le plan cardiovasculaire et qu'ils peuvent diminuer la taille de l'infarctus du myocarde. Les oméga-3 peuvent être métabolisés en des molécules impliquées dans la phase de résolution de l'inflammation, comme la résolvine D1 (RvD1), molécules qui ont des effets cardioprotecteurs importants. Le but de cette étude est de démontrer si l'effet cardioprotecteur des AG- Ω 3 est préservé lorsqu'on inhibe la formation de RvD1.

Méthodes: Des rats mâles Sprague-Dawley reçoivent une diète riche en AG- Ω 3 pendant 10 jours. Deux jours précédents l'infarctus du myocarde, ils reçoivent quotidiennement un inhibiteur de la COX-2 (meloxicam), un inhibiteur de la 15-LOX (PD146176), la combinaison des deux inhibiteurs ou un véhicule (saline). Les animaux sont ensuite soumis à une ischémie de 40 minutes induite par l'occlusion de l'artère coronaire gauche descendante, suivie d'une reperfusion. La taille de l'infarctus et les taux plasmatiques de RvD1 sont évalués après 24 heures de reperfusion. Dans un sous-groupe d'animaux, l'activité des caspases-3 et -8 ainsi que les niveaux d'activation d'Akt, une kinase prosurvie, sont mesurées dans la région ischémique à 30 minutes.

Résultats: Les animaux recevant les inhibiteurs seuls ou en combinaison présentent une taille de l'infarctus plus élevée que celle observée avec le groupe véhicule. Comme attendu, les niveaux plasmatiques de RvD1 sont significativement plus bas en présence d'inhibiteurs. L'activité des caspases-3 et -8 est augmentée en présence des inhibiteurs dans les régions ischémiques. Par contre, il y a une diminution significative de l'activité d'Akt dans ces régions avec les inhibiteurs versus le groupe témoin.

Conclusion: Les résultats de cette étude nous démontrent que l'inhibition du métabolisme des acides gras oméga-3 atténue leur effet cardioprotecteur. La Résolvine D1 semble être un médiateur majeur dans l'effet cardioprotecteur des acides gras oméga-3.

L'INDUCTION DES DOMMAGES VASCULAIRES PAR L'ANGIOTENSINE II EST ASSOCIÉE À UN CHANGEMENT DE L'EXPRESSION D'ARN NON CODANTS RÉGULATEURS

Huo K¹, Barhoumi T¹, Richer C³, Sinnett D^{3,4}, Paradis P¹, Schiffrin EL^{1,2}

¹ Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

² Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

³ Département d'Hématologie-Oncologie, Centre de recherche, CHU Ste-Justine, Montréal, Québec

⁴ Département de Pédiatrie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les microARN (miARN) et les ARN longs non codants (lncARN) jouent un rôle dans les maladies cardiovasculaires. Cependant, le rôle de ces ARN dans le contrôle des changements d'expression des ARN messagers (mARN) liés aux lésions vasculaires dans l'hypertension est méconnu. Nous avons émis l'hypothèse que les miARN et les lncARN induisent des changements d'expression des mRNA impliqués dans les lésions vasculaires. Cette hypothèse sera validée par la détermination du profil d'expression des miARN, lncARN et mRNA dans les artères mésentériques (AM) de souris hypertensive à l'aide de séquençage haut débit.

Méthodes: Des souris C57BL/6 mâles de 12 sem ont été infusées ou non avec l'angiotensine II (Ang II, 1µg/kg/min, SC) pour 7 ou 14 j. La pression artérielle systolique (PAS) a été mesurée par télémétrie. L'ARN total a été extrait des AM et utilisé pour le séquençage haut débit de l'ARN total et des miARN sur la plateforme Illumina HiSeq2500. miRDeep2 a été utilisé pour faire le profil des miRNA connues ou non et edgeR pour l'analyse des changements d'expression avec un seuil de changement de 1.5 fois et un taux de faux positif de 0.05.

Résultats: La PAS était accrue de ~40 mmHg après les traitements avec l'Ang II ($P < 0.001$). Le séquençage préliminaire des miARN a permis d'obtenir ~2.7x10⁶ séquences unidirectionnelles de 51bp par AM contenant ~2.3x10⁶ séquences cartographiées au génome et ~2.1x10⁶ séquences aux miARN matures. Seize nouveaux miARN ont été identifiés. Le séquençage de l'ARN total a généré ~3.5x10⁷ séquences paires de 101bp par AM contenant ~3.1x10⁷ séquences cartographiées au génome. 7 j d'Ang II augmentaient l'expression de 105 mRNA et 2 lncARN et diminuaient celle de 14 mARN et 1 lncARN. Le traitement de 14 j avec l'Ang II augmentait l'expression de 433 mRNA et 9 lncARN et diminuait celle de 207 mARN et 8 lncARN.

Conclusion: Ces résultats préliminaires de séquençage à haut débit démontrent la faisabilité de la détermination du profil d'expression des miARN connus et nouveaux et des lncRNA dans les AM. 7 et 14 j d'Ang II ont induit des changements différents d'expression des mARN et lncARN dans les AM.

L'ENDOTHÉLINE-1 PROTÈGE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE CHEZ LES SOURIS PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION VASCULAIRE DE PPAR_γ

Idris-Khodja N¹, Ouerd S¹, Barhoumi T¹, Trindade M¹, Gornitsky J¹, Rehman A¹, Paradis P¹, Schiffrin EL^{1,2}

¹ Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

² Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: Les agonistes des PPAR_γ (récepteurs γ activés par les proliférateurs de peroxysomes) réduisent l'hypertension artérielle et les dommages vasculaires. L'inactivation spécifique de *Ppar_γ* dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) exagère la dysfonction endothéliale et le remodelage vasculaire induits par l'angiotensine II. Les souris transgéniques surexprimant l'endothéline (ET)-1 humaine dans l'endothélium (eET-1) présentent une dysfonction endothéliale, du remodelage vasculaire, du stress oxydatif et de l'inflammation. Nous avons émis l'hypothèse que l'inactivation du gène *Ppar_γ* dans les CMLV (*cmlvPpar_γ^{-/-}*) exagérerait les dommages vasculaires chez les souris eET-1.

Méthodes: Des souris mâles sauvages (SVG), eET-1, *cmlvPpar_γ^{-/-}* et eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* de 11 semaines ont été utilisées. La pression artérielle systolique (PAS) par télémétrie, la réactivité vasculaire des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée, la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) avec le dihydroéthidium et les marqueurs d'inflammation par immunofluorescence ont été évalués.

Résultats: En comparaison avec les SVG, la PAS était plus élevée de 10 à 20 mmHg dans les eET-1 et eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$), la réponse vasodilatatrice des AM était diminuée de 37% dans les *cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$) mais pas dans les eET-1 et eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}*. Le ratio média/lumière était augmenté de 20% seulement dans les eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$). Un durcissement vasculaire indiqué par un déplacement vers la gauche des courbes de déformation contrainte était observé dans tous les groupes ($P < 0.05$). La formation des DRO était augmentée respectivement de 1.7, 2.2, de 2.8 fois dans les eET-1, *cmlvPpar_γ^{-/-}* et eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$). L'expression de la protéine chimioattractante monocyttaire-1 était de 1.7 fois plus élevée dans les *cmlvPpar_γ^{-/-}* et eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$). L'infiltration des monocytes/macrophages dans la graisse périvasculaire était doublée dans les eET-1 et *cmlvPpar_γ^{-/-}* et quadruplée dans les eET-1/*cmlvPpar_γ^{-/-}* ($P < 0.05$).

Conclusion: Nos résultats suggèrent que la surexpression de l'ET-1 préserve paradoxalement la fonction endothéliale dans les souris ayant une inactivation CMLV spécifique de *Ppar_γ* et ce malgré une exagération du stress oxydant et de l'inflammation au niveau vasculaire.

IMPLICATION DE L'ANGIOTENSINE (1-7) ET DES ENZYMES ANTI-OXYDANTES DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA PRÉÉCLAMPSIE CHEZ LA SOURIS HYPERTENDUSKasaei Roodsari A^{1,2}, Genest DS¹, Falcao S¹, Michel C¹, Kajla S¹, Lavoie JL^{1,2}¹ Centre de recherche du centre hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec² Département de kinésiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les maladies hypertensives gestationnelles, telle la prééclampsie, affectent 6% à 8% de toutes les grossesses en Amérique du Nord. Les femmes souffrant d'hypertension ont un risque accru (15% à 25%) de développer la prééclampsie.

Méthodes: Nous avons utilisé des souris femelles surexprimant l'angiotensinogène humaine et la rénine humaine (R+A+) comme modèle animal de la prééclampsie superposée à de l'hypertension chronique. Comme nous avons démontré précédemment que l'exercice réduit les symptômes associés à la prééclampsie dans ce modèle de souris, afin d'évaluer le rôle fonctionnel des différents paramètres étudiés, nous avons entraîné des souris en les plaçant dans des cages avec un accès à une roue d'exercice 4 semaines avant et pendant la grossesse. À la fin de la gestation, les souris ont été sacrifiées afin de récolter et peser les fœtus, les placentas et les reins.

Résultats: Nous avons constaté une réduction du récepteur Mas dans le rein chez les souris transgéniques sédentaires enceintes par rapport aux souris de contrôle et que cela a été significativement augmenté avec l'entraînement. L'entraînement physique peut augmenter des effets de l'angiotensine (1-7) qui peuvent contrer les effets négatifs de l'angiotensine II. Nous avons également trouvé une augmentation rénale de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II de type 2 (ACE2) chez des souris transgéniques entraînées par rapport aux souris sédentaires. Pour soutenir la contribution fonctionnelle de cette modulation, nous avons constaté que la plupart des caractéristiques pathologiques observées chez les souris transgéniques sédentaires ont été réduites chez les souris entraînées, par exemple l'augmentation de la pression artérielle et la protéinurie. De plus, nous avons observé une réduction du niveau de l'anti-oxydant enzymes dans le placenta de souris transgéniques sédentaires en comparaison avec le groupe entraîné. Aussi, nous avons constaté une diminution de ces enzymes dans les souris transgéniques par rapport à celles non transgéniques.

Conclusion: Cette étude montre que la modulation de l'axe de l'angiotensine (1-7) semble être un mécanisme essentiel dans le développement de la prééclampsie superposée à de l'hypertension chronique.

L'ANGIOTENSINE II RENVERSE LA POLARITÉ DE LA RÉACTIVITÉ VASCULAIRE ET POTENTIALISE LA RÉPONSE CALCIQUE ASTROCYTAIRELi L^{1,2}, Boily M^{1,2}, Trudeau L-É¹, Girouard H^{1,2}¹ Département de Pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Groupe de Recherche sur le système nerveux central, Montréal, Québec² Centre de Recherche de l'Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Le couplage neurovasculaire (CNV) est affecté par l'angiotensine II (Ang II), une hormone synthétisée et libérée dans la circulation systémique ou produite en partie par les astrocytes dans le cerveau. Les astrocytes possèdent des récepteurs AT1 à l'Ang II et sont responsables d'intégrer les messages provenant des neurones pour les traduire en réponses vasculaires. L'objectif de ce projet est de tester l'hypothèse selon laquelle l'Ang II perturberait le CNV par son action sur la mobilisation calcique dans les astrocytes.

Méthodes: En utilisant des approches telles la débitmétrie par laser Doppler et la microscopie multi-photons sur tranche de cerveau et culture d'astrocytes, cette question a été abordée à partir de l'unité neurovasculaire *in vivo* à la cellule.

Résultats: L'utilisation du laser Doppler nous a permis de démontrer que l'Ang II diminue de 32% le débit sanguin cérébral (DSC) activé par les récepteurs glutamatergiques métabotropes de groupe I (mGluRI) ($p < 0.05$). De plus, l'Ang II réduit l'augmentation du DSC induit par la stimulation de la moustache (-40%, $p < 0.05$). Sur des tranches fraîches de cerveau, l'Ang II favorise une vasoconstriction en réponse à l'activation des mGluRI dans les artères parenchymateuses du cortex. Parallèlement, l'Ang II le Ca^{2+} astrocytaire au repos ainsi qu'en réponse à une activation des mGluRI de 192% et 318% par rapport aux tranches exposées au véhicule seulement ($p < 0.05$). Ces effets de l'Ang II ont tous été bloqués en présence de candesartan, un antagoniste des récepteurs AT1.

Conclusion: Nos résultats suggèrent que l'Ang II via son récepteur AT1 potentialise la réponse calcique astrocytaire à un niveau qui favorise une vasoconstriction plutôt qu'une vasodilatation ce qui altère l'augmentation du DSC en réponse à l'activité neuronale.

HYPEROXIE NÉONATALE ET RÉGULATION CIRCADIENNE DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE CHEZ LE RAT MÂLE ADULTE

Lukaszewski M-A, Sutherland MR, Bertagnolli M, Yin A, Cloutier A, Nuyt AM
Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les adultes nés prématurément ont un risque élevé d'hypertension et de résistance à l'insuline, caractéristiques du syndrome métabolique (SM). Les prématurés font face à un environnement riche en O₂ *versus* le milieu intra-utérin, résultant en un stress oxydatif (SO). Or, de nombreuses études mettent en lien le SO et des altérations métaboliques mais également les rythmes circadiens (RC) et SM.

Notre but est de déterminer, chez le rat, si une hyperoxie néonatale transitoire altère le RC du métabolisme énergétique du jeune adulte.

Méthodes: Des rats Sprague-Dawley et leur mère sont exposés à 80 % d'O₂ (groupe hyperoxié H *versus* contrôles air ambiant C) entre le 3^{ème} et le 10^{ème} jour de vie. La prise de poids et alimentaire hebdomadaires sont suivies jusqu'au sacrifice. À 4 mois, des hyperglycémies orales provoquées (HGPO) sont réalisées à 8 h et 20 h. La locomotion et les concentrations de lipides sont évaluées toutes les 4 h sur 24 h (6 points par 24 h).

Résultats: Les rats H ont une prise alimentaire et de poids plus importante que les C (2way ANOVA respectivement $p < 0,05$ et $p < 0,001$). Le poids du foie, du cœur et des dépôts adipeux épидидymaux et périrénaux rapportés à la taille du fémur sont plus élevés chez le groupe H (augmentation respective de 17% ; 20% ; 17% ; 30%). À 4 mois, nous n'avons pas observé de différences de la réponse glycémique ni de la concentration d'insuline à 8h, entre les groupes C et H. À 20h, les rats H ont une intolérance au glucose comparée aux C (2way ANOVA $p < 0,05$) sans perturbation de l'insulinémie, associée à une augmentation de l'HOMA-IR de 43% (moyenne $\pm$ SEM : C 1.99 ± 0.43 vs H 2.85 ± 0.77). Dans l'ensemble, les concentrations en triglycérides et HDL sont plus élevées sur 24 h chez les rats H (2way ANOVA $p < 0,01$ et $p < 0,05$ respectivement) mais sans perturbation de leur RC.

Conclusion: Cette étude montre que l'exposition néonatale à l'O₂ induit des altérations du rythme circadien des métabolismes énergétique chez l'adulte, avec tout particulièrement une sensibilité jour/nuit à l'insuline perturbée. Ces changements métaboliques pourraient contribuer au maintien de l'hypertension observée dans ce modèle.

LES ACIDES GRAS OMÉGA-3 À LONGUE CHAÎNE PRIS INDIVIDUELLEMENT SONT EFFICACES POUR RÉDUIRE LA TAILLE DE L'INFARCTUS

Madingou N^{1,2}, Gilbert K^{1,2}, Tomaro L^{1,2}, Prud'homme-Touchette C^{1,2}, Moreau J^{1,2}, Trudeau F^{1,2}, Rousseau G^{1,2}

¹ Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Montréal, Québec

² Département de Pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Plusieurs études démontrent que les acides gras (AG) oméga-3 sont bénéfiques pour la santé cardiovasculaire. Une étude antérieure dans notre laboratoire a démontré que la prise d'AG oméga-3 réduisait la taille de l'infarctus du myocarde. Toutefois une question demeure à savoir si les deux principaux AG oméga-3 à longue chaîne, l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) sont aussi efficaces pour réduire la taille de l'infarctus. Le but de ce projet est de déterminer si l'un ou l'autre des AG oméga-3 possède des propriétés cardioprotectrices pour le myocarde.

Méthodes: Pour ce faire, des rats mâles adultes Sprague-Dawley sont nourris pendant 14 jours avec l'une des diètes comprenant: 1- aucun AG oméga-3 ; 2- 5mg de EPA /kg de nourriture; 3- 5 mg de DHA /kg de nourriture; 4- 2.5 mg de chaque AG oméga-3/kg de nourriture. Par la suite, les animaux sont soumis à une ischémie de 40 minutes, provoquée par l'occlusion de l'artère coronaire descendante gauche. À 24 heures de reperfusion, la taille de l'infarctus et l'accumulation des neutrophiles dans le myocarde ischémique sont déterminées. Dans un sous-groupe d'animaux, l'activité des caspases-3 et -8 ainsi que les niveaux d'activation d'Akt, une kinase pro-survie, sont mesurées dans la région ischémique à 30 minutes. Tous les animaux mangeaient une ration d'environ 25-30 g par jour.

Résultats: Les résultats nous indiquent que les diètes EPA ou DHA réduisent significativement la taille de l'infarctus comparativement à la diète sans AG oméga-3. La taille de l'infarctus obtenue dans le groupe nourri avec la combinaison des 2 AG oméga-3 ne démontrait pas de réduction de la taille de l'infarctus. L'activité des caspase-3 et -8 est significativement réduite en présence des différentes diètes par rapport au groupe sans AG oméga-3. De plus, l'accumulation des neutrophiles est réduite avec EPA et la combinaison EPA+DHA alors que l'activité d'AKT est augmentée avec toutes les diètes.

Conclusion: Les AG oméga-3 EPA ou DHA pris individuellement sont efficaces pour réduire la taille de l'infarctus alors que la combinaison, à cette concentration, ne l'est pas.

LES LYMPHOCYTES T RÉGULATEURS FOXP3⁺ ANTAGONISENT L'EFFET DE L'ANGIOTENSINE II SUR LE REMODELAGE VASCULAIRE

Mian MOR¹, Barhoumi T¹, Briet M¹, Ene AC¹, Paradis P¹, Schiffrin EL^{1,2}

¹ Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

² Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: Les cellules T participent au développement du dommage vasculaire dans l'hypertension. L'effet hypertenseur et la dysfonction endothéliale induits par l'angiotensine (Ang) II sont absents chez les souris déficientes en cellules T et B (*Rag1*^{-/-}) et sont rétablis par le transfert adoptif de cellules T, mais pas B. Nous avons émis l'hypothèse que le dommage vasculaire induit par l'Ang II sera exagéré chez des souris *Rag1*^{-/-} avec transfert adoptif de cellules T déficientes en cellules T régulatrices (Treg) *Foxp3*⁺ (Scurfy) comparé à des cellules T sauvages.

Méthodes: Des souris *Rag1*^{-/-} mâles de 11 semaines ont été injectées IV avec le véhicule (Véh) ou 10⁷ cellules T sauvages (SVG) ou Scurfy (Sf) ou 10⁶ Treg SVG avec Véh ou des cellules T Sf (n=3-8), et 2 semaines plus tard, ont été infusées ou non avec l'Ang II (490 ng/kg/min, SC) pendant 2 semaines. La pression artérielle (PA), la fonction endothéliale et la structure des artères mésentériques (AM) de second ordre, la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), l'expression de la fibronectine et de MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*) et l'infiltration de monocytes/macrophages et de cellules T dans les AM, le gras périvasculaire (GPV) ou le rein ont été déterminés.

Résultats: L'Ang II a accru la PA systolique dans tous les groupes et la PA diastolique seulement dans les groupes SVG et Sf (*P*<0.01). L'Ang II a réduit la relaxation maximale à l'acétylcholine des AM et accru la production de DRO dans le GPV des MA du groupe Ctrl (*P*<0.05), ce qui était exagéré dans le groupe Sf (*P*<0.01). L'Ang II a induit un remodelage et un durcissement vasculaire des AM (*P*<0.001) ainsi qu'une augmentation de l'expression de la fibronectine dans la paroi des AM dans les groupes Véh et Sf (*P*<0.05). L'Ang II a augmenté l'expression de MCP-1 dans la paroi et le GPV des MA et l'infiltration de monocytes/macrophages dans le GPV des MA et le cortex rénal et de cellules T dans le cortex rénal seulement dans le groupe Sf (*P*<0.05). La co-injection de Treg a prévenu ou réduit les effets de l'Ang II (*P*<0.05).

Conclusion: Les résultats démontrent que les Treg *Foxp3*⁺ protègent les petites artères des dommages induits par l'Ang II. Les résultats révèlent pour la première fois que l'Ang II cause du remodelage vasculaire en l'absence de cellules T, ce qui a été prévenu par le transfert adoptif de Treg.

LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE PERTURBE L'HOMÉOSTASIE ET LES FONCTIONS CÉRÉBRALES

Muhire G¹, Sadekova N¹, Vallerand D¹, Ferland G², Girouard H¹

¹ Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

² Département de nutrition, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: La rigidité artérielle est un facteur de risque important dans le déclin cognitif. Cependant, ses effets spécifiques sur l'homéostasie cérébrale sont inconnus. L'objectif de cette étude est d'étudier les effets de la rigidité artérielle sur le cerveau, en déterminant si elle augmente le stress oxydatif, induit l'inflammation, et altère les fonctions cérébrovasculaires et cognitives.

Méthodes: La rigidité artérielle a été induite par l'application du chlorure de calcium sur les artères carotides de souris mâles C57BL/6. Le groupe témoin a reçu du chlorure de sodium. L'inflammation cérébrale a été évaluée par la mesure de l'immunoréactivité des marqueurs de la microglie (Iba-1 et CD68) et des astrocytes (s100β). Le stress oxydatif a été déterminé avec le dihydroéthidium. Le débit sanguin cérébral a été suivi par débitmétrie avec laser-Doppler. La mémoire spatiale a été évaluée en utilisant le test de la piscine de Morris.

Résultats: La rigidité artérielle active la microglie, dans toutes les régions de l'hippocampe (n=6 ; *p*<0,05). L'augmentation d'immunoréactivité pour s100β indique une activation astrocytaire dans l'hippocampe et le cortex frontal. La production d'anion superoxyde est élevée dans l'hippocampe de souris avec rigidité artérielle (n=3 ; *p*<0,05). La rigidité artérielle atténue l'augmentation du débit sanguin cérébral produit par la stimulation mécanique de vibrisses (n=11 ; *p*<0,05). Les résultats montrent également un déficit de l'apprentissage dans le groupe avec rigidité artérielle (n=13 ; *p*<0,05) par rapport au groupe témoin (n=9 ; *p*<0,05).

Conclusion: La rigidité artérielle conduit à l'inflammation cérébrale et l'augmentation du stress oxydatif dans l'hippocampe. Elle altère également la régulation du débit sanguin cérébral et les fonctions cognitives. Elle devrait donc être considérée comme une cible thérapeutique dans la prévention des dysfonctions cérébrales chez la population âgée.

LA SUREXPRESSION DE L'ENDOTHELIN-1 EXAGÈRE LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE LIÉE AU DIABÈTE

Ouerd S¹, Idris-Khodja N¹, Mian MOR¹, Barhoumi T¹, Gornitsky J¹, Paradis P¹, Schiffrin EL^{1,2}

¹Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

²Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: Le diabète de type 1 induit une dysfonction endothéliale entraînant des complications vasculaires. L'endothéline (ET)-1 serait impliquée dans la génération de ces dommages. Nous avons émis l'hypothèse que la dysfonction endothéliale induite par le diabète sera exagérée par la surexpression de l'ET-1 dans les cellules endothéliales.

Méthodes: Le diabète a été induit par l'administration de streptozotocine (STZ, 55 mg/kg/jour, IP) pendant 5 jours à des souris mâles sauvages (SVG) et eET-1 (surexprimant l'ET-1 dans l'endothélium) âgées de 6 semaines. Le glucose sanguin, la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine (ACh) et le remodelage des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée et l'expression de la fibronectine aortique par immunofluorescence ont été évalués 14 semaines plus tard.

Résultats: L'induction du diabète a été confirmée par une élévation de la glycémie de 3 fois chez les SVG et les eET-1 ($P<0.001$). Le diabète a diminué la relaxation des AM de 25% chez les SVG ($P<0.05$) et de 40% dans les eET-1 ($P<0.001$). L'acide méclofénamique, un inhibiteur de la cyclooxygénase, a augmenté la relaxation maximale de 17% dans les eET-1 par rapport aux SVG ($P<0.01$), ce qui n'a pas été observé chez les souris diabétiques. La relaxation des AM était complètement bloquée par L-NAME (un inhibiteur du monoxyde d'azote synthétase) dans les SVG et eET-1 non-diabétiques et les souris SVG diabétiques, et était réduit de 45% dans les eET-1 diabétiques ($P<0.05$). L'Apamine plus Tram34, des inhibiteurs de l'hyperpolarisation dépendante de l'endothélium, a bloqué la relaxation dans les quatre groupes. La relaxation au nitroprussiate de sodium, un donneur de monoxyde d'azote, était similaire dans les quatre groupes. Le diabète a réduit le ratio média/lumière de 25% chez les SVG et les eET-1 ($P<0.05$). Le diabète a diminué l'expression aortique de la fibronectine de 38% chez les SVG ($P<0.05$) et de 55% dans les eET-1 ($P<0.05$).

Conclusion: Les résultats suggèrent que l'ET-1 induit des altérations des voies de signalisation contrôlant la relaxation dépendante de l'endothélium dans le diabète de type 1, entraînant une exagération de la dysfonction endothéliale.

UN TRAITEMENT AVEC DE L'OCYTOCINE PRÉVIENT LE DÉVELOPPEMENT DE LA CARDIOMYOPATHIE DIABÉTIQUE DANS UN MODÈLE DE SOURIS *db/db*

Plante E, Menaouar A, Yip D, Jankowski M, Gutkowska J

CRCHUM, Département de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Le diabète et l'obésité sont des facteurs de risque de développer des maladies cardiovasculaires. Ces désordres métaboliques s'accompagnent d'une déficience au niveau du système ocytocine (OT) cardiaque. L'OT est impliquée dans la régulation du métabolisme énergétique ainsi que dans l'activation de divers mécanismes cardioprotecteurs. Nous avons évalué l'efficacité d'un traitement avec de l'OT à prévenir les anomalies métaboliques, structurales et fonctionnelles du cœur associées au diabète et à l'obésité.

Méthodes: Des souris *db/db* (obèses et diabétiques) ont été traitées avec de l'OT (125 ng/kg/h) ou un véhicule salin pendant 12 semaines. Les effets de l'OT sur l'obésité et le diabète, ainsi que sur la structure et la fonction cardiaque ont été analysés.

Résultats: Le traitement OT a réduit l'accumulation de tissu adipeux (-19%; $p<0,001$), a diminué la glycémie à jeun (-23%; $p<0,001$), et a amélioré la tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline. Au niveau du cœur, l'OT a prévenu l'hypertrophie et l'apoptose des cardiomyocytes ainsi que la fibrose cardiaque, prévenant ainsi le développement de dysfonction cardiaque. En outre, l'OT a normalisé l'expression des récepteurs de l'OT et des peptides natriurétiques, a réduit le stress oxydatif et l'inflammation cardiaque, et a normalisé l'activité de l'AMPK.

Conclusion: Ces résultats indiquent qu'un traitement avec de l'OT améliore partiellement le métabolisme du glucose et des graisses, tout en ayant un effet direct sur le cœur pour le protéger du remodelage structural et de la dysfonction, pour ainsi prévenir le développement de la cardiomyopathie diabétique chez la souris *db/db*.

LE MÉTABOLISME DU GLUCOSE ET DES LIPIDES CHEZ DES SOURIS AVEC UNE SUPPRESSION DU GÈNE DU RÉCEPTEUR À LA RÉNINE/PRORÉNINE SPÉCIFIQUEMENT DANS LE TISSU ADIPEUX

Shamansurova Z^{1,2,4}, Ahmed BM-A¹, Kajla S^{1,4}, Michel C¹, Seda O¹, Lavoie JL^{1,3,4}

¹ Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal, Montréal, Québec

² Département de Physiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

³ Département de Kinésiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

⁴ Centre de Recherche du Diabète de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Le système rénine-angiotensine locale dans le tissu adipeux peut moduler la fonction de l'adipocyte et régule le métabolisme du glucose et des lipides. Toutefois, les effets du récepteur à la rénine/prorénine [(P)RR] n'ont pas encore été élucidés. Ainsi, nous avons étudié l'homéostasie du glucose et des lipides chez des souris avec une suppression, spécifiquement dans le tissu adipeux, du gène du (P)RR (KO).

Méthodes: Les souris KO ont été produites en utilisant la technologie cre-loxp. Les souris adultes mâles et femelles ont été nourries pendant 10 semaines avec une diète standard (N), ou à une diète riche en gras et en glucides (HF). Le poids corporel (BW) a été mesuré de façon hebdomadaire. L'homéostasie du glucose a été évaluée à l'aide d'un test de tolérance au glucose (OGTT). Nous avons également mesuré les niveaux d'insuline, d'adiponectine, de glycérol et des triglycérides (TG) dans le plasma. Les taux de glycérol et TG ont aussi été mesurés dans le foie et le muscle squelettique (MS). A la fin du protocole, les souris ont été euthanasiées. Le sang a été collecté et le plasma a été séparé. De plus, les différents dépôts adipeux (sous-cutané (SCF), péri-gonadal (PGF) et péri-rénal (PRF)), le foie et le MS ont été séparés, pesés et conservés à -80 °C.

Résultats: Les souris KO ont un plus petit BW et une masse adipeuse réduite. Quoiqu'aucune modification de la glycémie ait été observée lors de l'OGTT, les taux d'insuline étaient réduits chez les souris KO. Nous avons également observé que la concentration d'adiponectine circulante était plus élevée chez les souris KO ce qui pourrait contribuer à une meilleure sensibilité à l'insuline chez ces souris. Quand au métabolisme des lipides, le taux de glycérol circulant était augmenté chez les souris KO-femelle sur la N, alors que les TG étaient comparables. Fait intéressant, les TG hépatiques et musculaires étaient diminués chez les souris KO-mâle sur la N et chez les souris femelles sur la HF.

Conclusion: Nos résultats suggèrent que le (P)RR dans le tissu adipeux contribue à une augmentation du BW et de la masse adipeuse. Ceci est associé à une hausse des TG hépatiques et musculaires. De plus, le (P)RR semble contribuer à une réduction de la sensibilité à l'insuline par le biais, entre autre, de l'adiponectine.

L'EFFET PROLONGÉ D'UNE EXPOSITION TRANSITOIRE NÉONATALE À L'HYPEROXIE SUR LA FONCTION RÉNALE

Sutherland MR, Lukaszewski M-A, Cloutier A, Bertagnolli M, Nuyt AM

Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les nouveau-nés prématurés sont exposés, dès la naissance, à de fortes concentrations en oxygène (O₂) par rapport à l'environnement intra-utérin, alors que leur néphrogénèse est toujours en cours. Nous avons préalablement montré qu'une hyperoxie néonatale perturbe le développement du rein chez les rats, ayant pour conséquence une réduction du nombre de néphrons et une augmentation de la pression artérielle plus tard, chez l'adulte. Le but de cette étude est de déterminer l'effet à long terme d'une exposition néonatale à l'hyperoxie sur la fonction rénale.

Méthodes: Les rats Sprague-Dawley ont été exposés à 80 % d'O₂ de P3 à P10 (groupe H ; n=8 portées). Afin de prévenir des effets délétères de l'O₂ sur les mères, celles-ci sont interchangeées aux 12 heures avec une mère dont les rats sont maintenus à l'air ambiant. Les portées contrôles sont maintenues à l'air ambiant avec leur mère (groupe Ctrl, n=8 portées). À l'âge de 1, 5 et 11 mois (1 mâle et 1 femelle/portée/âge) les animaux sont placés dans des cages métaboliques où l'urine est collectée pendant 16 h durant la nuit. Le plasma et les reins sont prélevés le jour suivant.

Résultats: Nous n'avons pas observé de différence de poids corporel ou rénal entre les groupes. L'hyperoxie induit une diminution significative du volume d'urine et de clairance de la créatinine chez les rats à 5 mois, mais pas à 1 ou 11 mois; à 5 mois, on observe également une tendance à l'augmentation de l'excrétion du sodium fractionné. Le ratio albumine urinaire/créatinine augmente avec l'âge, mais n'est pas différent entre les groupes. Il n'y avait pas de différence liée au sexe.

Conclusion: Chez le jeune rat et le rat vieillissant (dont la demande de la fonction rénale est moindre), l'exposition néonatale à l'hyperoxie n'affecte pas significativement la fonction rénale. Toutefois, il est important de remarquer qu'elle a un effet négatif sur la clairance de la créatinine à 5 mois. De manière globale, ces résultats suggèrent que les individus exposés à un haut niveau d'oxygène durant leur développement, peuvent présenter une réduction de leur capacité rénale à l'âge adulte.

IMPLICATION DU RÉCEPTEUR À LA PRORÉNINE ET À LA RÉNINE DANS LA RÉGULATION DE LA LIPOGÉNÈSE ET DE L'HOMÉOSTASIE DU GLUCOSE

Tan P, Blais C, Michel C, Kajla S, Nguyen TM-D, Schiller PW, Gutkowska J, Lavoie JL
Unité cardiométabolique, Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Chez la souris nous avons démontré que le récepteur à la prorénine et à la rénine [(P)RR] est augmenté dans le tissu adipeux avec l'obésité. Les souris obèses qui ont été traitées avec le *handle region peptide* (HRP), un bloqueur du (P)RR, ont pris moins de poids et de gras viscéral. Une amélioration de l'homéostasie du glucose a aussi été observée. L'objectif de cette étude était d'élucider les mécanismes derrière ces effets bénéfiques.

Méthodes: Les souris ont été mises sur une diète normale ou riche en gras et en carbohydrates pour 10 semaines en concomitance avec de la saline ou le HRP. Le gras péri-gonadal (GPG), péri-rénal (GPR) et le sang ont été collectés à la fin du traitement. Nous avons évalué la régulation de la diglycérade acyltransférase 1 (DGAT1), une enzyme impliquée dans la synthèse des triglycérides, ainsi que la dipeptidyl peptidase-4 (DPP4), enzyme dégradant une hormone qui stimule la sécrétion d'insuline, le peptide-1 ressemblant au glucagon (GLP-1).

Résultats: L'expression de la DGAT1 a été diminuée de 60% et de 40% dans le GPG et le GPR respectivement chez les souris obèses traitées avec le HRP comparé aux souris obèses contrôles. La protéine DPP4 a été réduite de 50% dans le GPG et le GPR des souris obèses indépendamment du traitement. De plus, l'activité circulante de la DPP4 semblait augmenter chez les souris obèses alors que le HRP normalise ce paramètre.

Conclusion: Les résultats suggèrent que le HRP pourrait réduire la synthèse des triglycérides en diminuant les niveaux de la DGAT1 ce qui pourrait contribuer à la réduction de la masse adipeuse viscérale observée chez les souris obèses traitées. Une diminution de la protéine de DPP4 avec l'obésité dans le tissu adipeux soulève la possibilité que la protéine soit majoritairement sécrétée dans la circulation où elle dégrade le GLP-1. L'activité circulante de la DPP4 normalisée avec le HRP suggère que le traitement pourrait augmenter la demi-vie du GLP-1 circulante et ainsi améliorer l'homéostasie du glucose.