

## résumés des communications / Sciences fondamentales

### L'INSULINE RÉDUIT L'EXPRESSION DE L'ANGIOTENSINOGENÈ ET PRÉVIENT L'HYPERTENSION CHEZ LES SOURIS AKITA DIABÉTIQUES VIA L'EXPRESSION DE HNRNP F ET K

Abdo S\_1, Lo C S1, Chénier I1, Zhang S L , Filep J G2, Ingelfinger J R3 et Chan J S D1. 1CRCHUM-Hotel-Dieu, Montréal, QC, Canada; 2Centre de recherche, Hop. Maisonneuve-Rosemont, Montréal, QC, Canada et 3Pediater Nephrol Unit, Mass Gen Hosp., Boston, MA, United States.

**Introduction:** La ribonucléoprotéine hétérogène nucléaire F et K (hnRNP F et K) se lie à l'élément de réponse à l'insuline du promoteur de l'angiotensinogène du rat et inhibe la transcription de l'angiotensinogène (Agt) *in vitro*. Nous avons tenté de déterminer si l'insuline peut stimuler l'expression de hnRNP F et K dans les cellules de tubules proximaux rénaux (RPTC), inhiber l'expression de l'Agt et prévenir l'hypertension systémique (HTN) chez les souris Akita diabétiques de type 1.

**Méthodes:** Des souris Akita males âgées de 12 semaines ont été traitées avec ou sans implants d'insuline pour 4 semaines. Des souris non-Akita ont servi de contrôle. La glycémie sanguine, albuminurie et pression systolique ont été mesurées à chaque semaine. Les reins ont été traités pour l'histologie. L'expression de l'ARNm et des protéines Agt, hnRNP F et K des RPTC ont été évalués par PCR quantitatif en temps réel et western blot, respectivement. Les niveaux urinaires d'Agt et angiotensine II (Ang II) ont été quantifiés par ELISA. Nous avons également étudiés des cellules RPTC immortalisées (IRPTC) transfectées avec le plasmide pGL4 contenant le promoteur de l'Agt couplé au gène rapporteur de la luciférase *in vitro*.

**Résultats:** Les souris Akita développent une HTN ( $\sim 136 \pm 3.8$  mm Hg vs  $\sim 108 \pm 0.7$  mm Hg pour les souris non-Akita) et présentent de l'hypertrophie rénale. Le traitement avec l'insuline normalise la glycémie sanguine et l'HTN, atténue l'hypertrophie rénale et réduit le ratio albumine/créatinine urinaire, ainsi que les niveaux urinaires d'Agt et Ang II chez les souris Akita. De plus, l'expression d'Agt des RPTC était augmentée, tandis que hnRNP F et K étaient fortement diminués chez les souris Akita, et ces changements sont normalisés par le traitement avec l'insuline. *In vitro*, le glucose (25mM D-glucose) stimule l'activité du promoteur Agt et inhibe l'expression de hnRNP F et K dans les IRPTC. L'insuline reverse ces effets et son action est réduite dans les IRPTC transfectés avec un si ARN pour hnRNP F et K.

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent que l'insuline prévient l'HTN et les dommages aux RPTC dans le diabète, au moins en partie via la suppression de l'expression d'Agt intrarénal par hnRNP F et K.

### LA RÉDUCTION DE L'INFLAMMATION MACROPHAGE-DÉPENDANTE CONTRECARRÉ LE DOMMAGE VASCULAIRE INDUIT PAR L'ENDOTHÉLINE-1

Barhouni T<sup>1</sup>, Javeshghani D<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en hypertension artérielle et en biologie vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction:** L'immunité innée est impliquée dans le développement de l'hypertension et du dommage vasculaire induit par l'angiotensine II et l'aldostérone. Nous avons observé que les souris transgéniques surexprimant la prépro-endothéline (ET)-1 humaine dans l'endothélium (eET-1) présentaient une dysfonction endothéliale, du remodelage vasculaire, une augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation. Cependant, il n'est pas clair si l'inflammation médie les effets néfastes de l'ET-1. Nous avons émis l'hypothèse que le dommage vasculaire induit par l'ET-1 est diminué chez des souris ayant une réduction de l'inflammation dépendante des macrophages, tel que les souris hétérozygotes pour la mutation ostéopérotique (Op) dans le gène du facteur de stimulation des colonies de macrophage 1 (*csf1*).

**Méthodes:** Des souris sauvages (WT), *csf1*<sup>Op/+</sup> et eET-1/*csf1*<sup>Op/+</sup> de 4 à 6 mois ont été utilisées. La pression artérielle systolique a été mesurée avec un brassard au niveau de la queue. La fonction endothéliale et le remodelage des artères mésentériques ont été déterminés avec des myographes pressurisés, la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) avec le dihydroéthidium et l'infiltration des macrophages par immunofluorescence.

**Résultats:** La pression artérielle systolique n'était pas différente entre les groupes. La relaxation endothélium-dépendante à l'acétylcholine n'était pas affectée par l'ET-1 et la réduction en Csf1. Cependant, en présence de L-NAME, le degré de relaxation NO-indépendante était 1.8 fois plus grand chez les eET-1/*csf1*<sup>Op/+</sup> comparé aux eET-1 ( $P < 0.001$ ). Le ratio média sur lumière et la surface transverse de la média à une pression de 45 mmHg étaient  $\geq 1.6$  fois plus élevés chez les eET-1 que les WT ( $P < 0.05$ ) et inchangés chez les eET-1/*csf1*<sup>Op/+</sup>. La production aortique de DRO était 4 fois plus élevée chez les eET-1 que WT ( $P < 0.01$ ) et inchangée chez les eET-1/*csf1*<sup>Op/+</sup>. L'infiltration aortique des macrophages était augmentée de 2.6 fois chez les eET-1 ( $P < 0.01$ ) et inchangée chez les eET-1/*csf1*<sup>Op/+</sup> par rapport au WT.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que les macrophages et l'immunité innée jouent un rôle important dans le dommage vasculaire induit par l'ET-1.

## REMODELAGE CARDIAQUE PRÉCOCE SUITE À UNE EXPOSITION NÉONATALE À L'O<sub>2</sub> MENANT À UNE DYSFONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE CHEZ LE RAT JEUNE

Bertagnolli M, Huyard F, Fallaha C, Cloutier A, Paradis P, Schiffrin E, deBlois D, Nuyt A-M. Centre de Recherche CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** L'exposition à l'oxygène (O<sub>2</sub>) chez les rats nouveau-nés à des conséquences vasculaires à l'âge adulte, comme une hypertension artérielle et une dysfonction vasculaire. Notre groupe a récemment montré une importante dysfonction ventriculaire gauche (VG) chez les rats jeunes adultes exposés à l'O<sub>2</sub> accompagnée de l'augmentation de la tension artérielle (TA). Nous allons ici étudier l'altération structurale myocardique ainsi que le système rénine-angiotensine (SRA) immédiatement après l'exposition à l'O<sub>2</sub> (P10) et à l'âge jeune (4 semaines de vie, 4w).

**Méthodes:** Les rats Sprague-Dawley en présence de leur mère sont exposés à 80% d'O<sub>2</sub> (H, n=7) ou à 21% d'O<sub>2</sub> (Ctrl, n=7) du 3 au 10<sup>e</sup> jours de vie. À P10, l'hypertrophie cardiaque (HC) (coloration HE) et la prolifération cellulaire (immunomarquage du Ki-67) ont été déterminées. Les composants du SRA (récepteurs AT1a, AT1b, AT2 et Mas) ont été évalués par RT-PCR. À 4w des échocardiographies ont été effectuées pour évaluer *in vivo* l'HC et les fonctions du VG.

**Résultats:** À P10, nous observons une hypertrophie myocardique par augmentation de surface des cardiomyocytes ( $4.88 \pm 0.2$  vs  $2.9 \pm 0.1$   $\mu$ m) dans le groupe H vs Ctrl. Cette HC est accompagnée par une diminution de la prolifération cellulaire dans le même groupe ( $60 \pm 5$  vs  $100 \pm 14\%$  pixels). Seulement les expressions des ARNm des récepteurs AT1a ( $0.67 \pm 0.14$  vs  $0.29 \pm 0.07$ ) et AT2 ( $0.69 \pm 0.16$  vs  $0.29 \pm 0.09$ ) sont différentes et augmentées dans le groupe H vs Ctrl. À 4w, les rats exposés à l'O<sub>2</sub> ont une augmentation du diamètre interne de la cavité du VG ( $3.6 \pm 0.2$  vs  $3.0 \pm 0.1$  mm) et une dysfonction systolique caractérisée par une diminution de la fraction de raccourcissement ( $39 \pm 2$  vs  $47 \pm 2$  %) comparé au groupe Ctrl.

**Conclusion:** L'exposition à l'O<sub>2</sub> chez les rats nouveau-nés (P10) conduit à une HC prématurée immédiatement après l'exposition et avant l'augmentation de la TA. Cette HC est accompagnée par la diminution de la prolifération cellulaire et une augmentation de l'expression des récepteurs de l'angiotensine II. À 4w, l'HC progresse rapidement vers une dysfonction systolique chez les rats exposés à l'O<sub>2</sub>. L'exposition à l'O<sub>2</sub> en période néonatale mène à des changements précoces au niveau cardiaque induisant un remodelage cardiaque accompagné d'une dysfonction du VG chez le jeune rat.

## DÉCOUVERTE DE NOUVEAUX RÉSEAUX ÉPISTATIQUES ORGANISANT DES LOCI À TRAITS QUANTITATIFS POUR LA PRESSION ARTÉRIELLE

Crespo K, Chauvet C, Ménard A, DeBlois D, Aguila B, Laporte S, Roy J, Deng A, Centre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Technopôle Angus, Montréal, Québec

**Introduction:** Notre compréhension des mécanismes génétiques à l'origine de l'hypertension peut être facilitée par l'étude de Loci à Trait Quantitatifs pour la Tension artérielle (QTLs) et leur interaction. Ces QTLs, soit des régions contenant un ou plusieurs gènes à l'origine de la régulation de la pression artérielle, peuvent être analysés via des souches congéniques ; où seulement un segment d'un chromosome spécifique d'une souche receveuse est remplacé par son homologue provenant de la souche donneuse.

**Méthodes:** L'analyse de l'interaction entre QTLs est réalisable via la construction de doubles combinaisons de congéniques basées sur le modèle de rat hypertendu Dahl Salt-Sensitive (DSS).

**Résultats:** Un total de 27 combinaisons ont été obtenu et tous les QTLs ont été assemblés selon leurs relations épistatiques versus additives, qui nous a menés à caractériser trois Modules Epistatique fonctionnels (EM) : EM1, EM2 et EM3 ; où chaque membre d'un EM peut contribuer à la pression de façon additive à celle d'un autre EM mais pas à celle d'un membre du même EM. 31% des gènes humains dont la fonction pourrait jouer un rôle dans la régulation de la pression artérielle et qui sont compris dans 28 QTLs connus, sont inclus dans 8 de nos souches congéniques. Leurs homologues chez le rat appartiennent à EM1 ou EM2. D'après nos résultats, ces 13 gènes humains devraient fonctionner via ces 2 modules épistatiques affectant la tension. L'analyse de ces 13 gènes chez notre modèle de rat nous a menés à éliminer quelques gènes comme candidats positifs et d'autres représentants des candidats potentiellement positifs restent à étudier. Cette étude a montré que ce n'est pas l'addition de divers QTLs qui régule la pression artérielle, mais leur interaction épistatique.

**Conclusion:** La découverte de nouveaux réseaux d'interaction de QTLs devrait nous mener à une meilleure compréhension de la régulation de la tension et devrait nous permettre d'élaborer des combinaisons de drogues anti hypertensives qui cibleraient ces différents modules.

**IMPLICATION DES VOIES PKC $\beta$  ET ERK 1/2 DANS L'ALTÉRATION DE L'EXPRESSION DE LA  $\gamma$ -CARBOXYLASE ASSOCIÉE AU DIABÈTE DE TYPE 1**

Doyon M, Mathieu P, Moreau P. Faculté de pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Objectif:** L'hypertension systolique isolée et l'augmentation de la pression pulsée sont deux conséquences de l'augmentation de la rigidité vasculaire observée chez près de la moitié des personnes âgées de plus de 60 ans. La rigidité artérielle, causée en partie par la calcification médiale des artères de conductance, est accélérée de 15 ans chez les diabétiques. La  $\gamma$ -carboxylase est une enzyme qui assure l'activation de la *matrix Gla protein* (MGP), une protéine anti-calcifiante, par une modification *post*-translationnelle. L'expression aortique de la  $\gamma$ -carboxylase est diminuée de façon marquée chez les rats diabétiques de type 1. L'objectif de ce projet de recherche était d'étudier les voies de signalisation impliquées dans la modulation de l'expression de la  $\gamma$ -carboxylase en condition d'hyperglycémie.

**Méthodes:** Des segments d'aortes de rats Wistar sains âgés de 7 semaines ont été incubés durant 24 heures avec une concentration normale (5 mmol/L) ou élevée (25 mmol/L) de glucose. Des inhibiteurs de voies de signalisation ont été ajoutés au milieu de culture. L'expression protéique de la  $\gamma$ -carboxylase a été mesurée par *Western blot*.

**Résultats:** Dans le modèle de culture *ex vivo*, l'expression de la  $\gamma$ -carboxylase est diminuée significativement par rapport à son expression en condition normoglycémique (-36%), tel qu'observé *in vivo*. L'ajout de LY333531, un inhibiteur de la voie PKC $\beta$ , à la condition hyperglycémique prévient la diminution de l'expression de la  $\gamma$ -carboxylase. Il en est de même lors de l'ajout de PD98059, un inhibiteur de la voie MAP kinase ERK 1/2.

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent que les voies de signalisation PKC $\beta$  et ERK 1/2 pourraient être impliquées dans la diminution de l'expression de la  $\gamma$ -carboxylase en condition hyperglycémique. Cette activation des voies PKC $\beta$  et ERK 1/2 pourrait passer par la stimulation de la synthèse de novo de diacylglycérol en présence d'hyperglycémie.

**L'angiotensine II directement impliquée dans les dysfonctions cognitive, la neurodégénérescence et la formation de plaques beta-amyloïdes.**

Duchemin S, Bélanger E, Sadekova N, Monteiro daSilva K C, Vallerand D, Buck H, Ferland G, Girouard H, Département de pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

L'hypertension est un facteur de risque important dans le développement des maladies cérébrovasculaires et neurodégénératives. Une protéine impliquée dans le développement de l'hypertension est l'angiotensine II (angII) qui a pour effet de modifier la réactivité vasculaire et d'augmenter le stress oxydant dans le cerveau. Dans cette étude notre objectif est de déterminer si l'administration chronique d'angII modifie certaines structures et fonctions cérébrales indépendamment de son effet sur la pression artérielle.

Des souris C57BL6 mâles ont été perfusées chroniquement avec une concentration hypertensive (1000 ng/kg/min) ou subpressive (200 ng/kg/min) d'angII par le biais de pompes osmotiques. Le test de la piscine de Morris a été utilisé pour déterminer les capacités d'apprentissage spatial chez la souris perfusée pendant 14 et 21 jours (n=10/groupe). Dans les régions impliquées dans la mémoire nous avons déterminé la présence de neurodégénérescence et d'indicateurs de plaques amyloïdes par immunofluorescence avec les marqueurs suivants : Fluoro-Jade B, 6E10 et thioflavine-S.

Le test de la piscine de Morris démontre que l'angII induit un déficit cognitif après 21 jours de perfusion avec 1000 et 200 ng/kg/mn. Les tests avec plateforme visible ou absente n'ont montré aucune différence entre les souris perfusées et les contrôles dans leurs habiletés motrices et visuelles. Les deux groupes perfusés à l'angII montraient des neurones marqués positivement pour le Fluoro-Jade B dans l'hippocampe. De plus, un marquage au 6E10 sans thioflavine-S indique la présence de plaques nouvellement formées.

En conclusion ces résultats démontrent que l'angII peut induire le développement de plaques beta-amyloïdes et mener à une neurodégénérescence indépendamment de son effet sur la pression artérielle. Ces résultats suggèrent que l'angII pourrait être un facteur déterminant pour le développement de certaines pathologies neurodégénératives.

**ANTISENS OLIGODÉSOXYNUCLÉOTIDE CIBLANT LES PROTÉINES GIA2 ET GIA3 : UNE NOUVELLE APPROCHE ATTÉNUANT LE DÉVELOPPEMENT DE L'HYPERTENSION CHEZ LES RATS SPONTANÉMENT HYPERTENDUS**

El-Basyuni Y, Anand-Srivastava M. Département de physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal

**Introduction:** Dans notre LABO, une attention spéciale a été consacrée au rôle des protéines Gia2 et Gia3 dans le développement de l'hypertension (HTN). Des études précédentes ont montré que des protéines Gia2 et Gia3 ont augmenté chez les rats spontanément hypertendus (SHR) avant l'apparition de l'HTN. De même, l'inhibiteur de l'ACE est aussi associé à une diminution des Gia2 et Gia3. En plus, l'injection de la toxine de pertussis a désactivé les Gia2 et Gia3 et empêché le développement de l'HTN. Cependant, la contribution spécifique des protéines Gia2 et Gia3 dans le développement de l'HTN reste encore inconnue.

**Méthodes:** L'antisens Gia2 et Gia3 (1mg/Kg *b.w.*) sont encapsulés dans des liposomes et ont été administrés par une seule injection à des pré-hypertendus SHR et rats Wistar Kyoto (WKY) qui sont âgés de 3 semaines. Les groupes contrôle de WKY et SHR ont reçu du PBS, des liposomes vides ou sens. Les pressions artérielles (PA) sont mesurées chaque semaine en utilisant la technique de *tail-cuff*. Le Cœur et l'aorte ont été utilisés pour l'étude de l'expression des protéines Gi par la technique de *western blot*.

**Résultats:** Le *knockdown* de la protéine Gia2 par Gia2As a empêché le développement de l'HTN dans le groupe SHR jusqu'à l'âge de 6 semaines, en suite le PA a augmenté rapidement pour atteindre le même niveau des groupes SHR de contrôle à l'âge de 9 semaines. À l'âge de six semaines, les SHR-Gia2As, WKY-Gia2As, WKY-Gia3As et WKY-CTL avaient une PA normale au moment où les SHR-PBS, les liposomes vides, les Gi2sens et les Gi3sens avaient une PA élevée. D'autre part, la PA du groupe SHR-Gia3As a commencé d'augmenter à l'âge de 4 semaines. À l'âge de 6 semaines, les SHR-Gia3 ont noté une PA haute mais qui est inférieure à celle des SHR-CTL. Le cœur et l'aorte obtenus des groupes SHR-Gia2As et Gia3As à l'âge de 6 semaines, avaient une diminution significative d'expression des protéines Gia2 et Gia3 respectivement. Les WKY Gia2As et Gia3As ont diminué dans l'expression des protéines Gia2 et Gia3 respectivement sans aucun changement de PA par comparaison aux CTL WKY. À l'âge de 9 semaines, les SHR Gia2As et Gia3As ont la même PA et les mêmes l'expression des protéines Gi que le groupe SHR-CTL.

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent que les deux protéines Gia2 et Gia3 sont impliquées dans le développement de l'HTN et que Gia2 mais pas Gia3 joue un rôle primordial dans le développement de l'HTN.

**EFFETS SANITAIRES DES CONTAMINANTS DU NORD ET DE LA CONSOMMATION D'ALCOOL CHEZ UN MODÈLE DE RONGEUR DES MALADIES MÉTABOLIQUES ET CARDIOVASCULAIRES**

Florian M<sup>1,2</sup>, Yan J<sup>1</sup>, Petrov I<sup>1</sup>, Caldwell D<sup>1</sup>, Coughlan M<sup>1</sup>, Mahemuti L<sup>1</sup>, Li N<sup>3</sup>, Willmore W<sup>2</sup>, et Jin XD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division de la recherche toxicologique, <sup>3</sup> Division de l'établissement des dangers, Santé Canada, <sup>2</sup> Département de biologie, Université Carleton; Ottawa (ON)

**Introduction:** Au cours des dernières décennies, les populations des régions nordiques ont été exposées à des concentrations élevées de contaminants du Nord (CN) comme les biphényles polychlorés et les métaux lourds, principalement par la consommation de poissons et de mammifères marins contaminés. Parallèlement, on a observé une augmentation de la prévalence de l'obésité, de l'hypertension, du diabète et des maladies cardiovasculaires. Notre hypothèse, soit la consommation d'alcool peut moduler les effets des CN, a été étudiée à l'aide d'un modèle de rongeur enclin aux maladies métaboliques et cardiovasculaires.

**Méthode:** On a acclimaté des rats JCR/LA mâles, obèses et minces, âgés de huit semaines à un régime AIN93G purifié. Les animaux ont été traités soit par l'ajout d'alcool à 10% à l'eau potable, soit par de l'eau uniquement, pendant six semaines. Les animaux ont reçu par voie orale un mélange de 23 CN (MCN) à 0, 1,6 ou 16 mg/kg du poids corporel par jour, pendant quatre semaines. On a effectué une analyse des échantillons de tissu afin de mesurer les taux sanguins et sériques de MCN, de glucose, d'insuline et d'éthanol, ainsi que les marqueurs biochimiques cliniques.

**Résultats:** Les taux sériques de MCN augmentaient avec la dose de MCN et correspondaient aux taux de MCN observés dans le sang des Inuits. Les taux sériques de MCN étaient plus faibles chez les rats traités avec de l'alcool que chez les autres. Le MCN à 16 mg/kg a entraîné une diminution du gain pondéral et de la consommation d'eau et de nourriture, en particulier chez les rats qui n'ont pas reçu d'alcool. Qu'il y ait eu ou non consommation d'alcool, cette dose de MCN a eu pour effet d'augmenter le poids absolu et le poids relatif du foie, le poids relatif des reins et les taux sériques d'éthanol et de la protéine C-réactive. Le MCN a aussi provoqué une baisse des taux sériques d'insuline, de cholestérol, de triglycérides, de HDL, de LDL et de paraoxonase-1.

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent que le MCN chez le JCR/LA rats, à la concentration utilisée dans cette étude, peut entraîner les dommages au foie et causer la stéatose non alcoolique ainsi qu'imposer une menace pour la santé métabolique et cardiovasculaire.

*Étude subventionnée par l'IRSC, le CRNSG et l'AADNC.*

### IMPLICATION DU COTRANSPORTEUR K<sup>+</sup>-CL<sup>-</sup> DE TYPE 3 (KCC3) DANS LA RÉGULATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE SYSTÉMIQUE

Gameau A, Noël M, Larivière L, Isenring P. Groupe de recherche en néphrologie, Centre de recherche L'Hôtel-Dieu de Québec du CHU, Université Laval, Québec, Québec

**Introduction:** KCC3 fait partie des cotransporteurs cation-Cl<sup>-</sup> (CCC), des protéines dont le rôle est de coupler le transport du Cl<sup>-</sup> avec celui du Na<sup>+</sup> et/ou du K<sup>+</sup> à la surface des cellules. Il serait impliqué dans la régulation de la pression artérielle (PA), au même titre qu'un autre membre de la famille appelé cotransporteur Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> de type 1 (NKCC1), tel que le suggèrent une tendance à l'hypertension chez la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>*, une tendance à l'hypotension chez la souris *Nkcc1<sup>-/-</sup>* et l'effet d'inhibiteurs des CCC sur la réactivité vasculaire.

**Méthodes:** Pour déterminer de quelle manière les CCC contrôlent la PA, nous avons exploité la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>* comme modèle en caractérisant son phénotype cardiovasculaire. Plus spécifiquement, nous avons eu recours à des analyses macro- et microscopiques du système cardiovasculaire, des mesures de PA par sphygmomanométrie, des épreuves de réactivité vasculaire *in vitro* et des dosages de facteurs sanguins ou urinaires impliqués dans le contrôle de la PA, notamment la rénine, l'aldostérone, les catécholamines et le facteur natriurétique.

**Résultats:** Nos résultats ont montré que chez la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>*, la PA pulsée et la fréquence cardiaque sont toutes deux plus basses que chez la souris type sauvage, alors que la PA diastolique est plus élevée. De manière intéressante, l'aorte thoracique de la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>* est aussi moins réactive à la contraction causée par une stimulation adrénergique  $\alpha_1$ , mais ne se comporte pas différemment lors de relaxations induites. À ces observations s'ajoutent une augmentation de la masse cardiaque dont l'étiologie demeure imprécise et des désordres neurologiques divers, alors que des dosages sanguins ou urinaires sont en cours.

**Conclusion:** Nos données suggèrent donc que le phénotype de la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>* est causé en partie par l'absence de KCC3 dans la paroi vasculaire, ce qui aurait pour effet d'augmenter la résistance périphérique et d'altérer la distensibilité aortique de même que la fréquence cardiaque. À ce stade-ci, toutefois, il n'est pas possible d'exclure la contribution des troubles neurologiques observés au développement du phénotype cardiovasculaire. Quoi qu'il en soit, le comportement de la souris *Kcc3<sup>-/-</sup>* et les données cumulées laissent déjà entrevoir l'intérêt que devraient susciter les CCC comme cibles dans le traitement de l'hypertension artérielle.

### RÔLE DU REMODELAGE VASCULAIRE ASSOCIÉ À LA CALCIFICATION DE LA MÉDIA DANS LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE ET L'HYPERTENSION EN INSUFFISANCE RÉNALE

Gauthier-Bastien A, Larivière R, Lebel M, Agharazii M

Centre de recherche du CHU de Québec, L'Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval

**Introduction:** En insuffisance rénale chronique (IRC), les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité. La rigidité et la calcification artérielle sont des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires en IRC et peuvent être associées à des changements structurels comme la dégradation de l'élastine et la différenciation des cellules musculaires lisses. Cette étude a donc pour but de déterminer l'implication de ces changements dans l'augmentation de la rigidité artérielle et de l'hypertension observées en IRC.

**Méthodes:** L'IRC est induite chez le rat par néphrectomie subtotale suivie de l'administration d'une diète riche en Ca/P et de doses physiologiques de vitamine D (Ca/P/VitD). Des animaux normaux sont utilisés pour comparaison. Après 3 à 6 semaines, les paramètres hémodynamiques et la vélocité de l'onde de pouls carotido-fémorale (VOP) sont déterminés. L'aorte thoracique est prélevée pour effectuer des analyses histologiques de la calcification (Von Kossa) et des analyses en immunofluorescence de la quantité d'actine de muscle lisse ( $\alpha$ -SMA) et d'élastine, ainsi que de l'expression de l'ostéocalcine. Les données sont analysées par ANOVA, suivie de tests de Student avec correction de Bonferroni et par corrélation de Spearman.

**Résultats:** Le traitement des animaux normaux avec Ca/P/VitD n'entraîne pas de calcification vasculaire ni de changement de la pression artérielle et de la VOP. Par contre, le traitement avec Ca/P/VitD cause une calcification de la média des artères chez les rats en IRC accompagnée d'une augmentation de la pression artérielle pulsée et de la VOP ( $p < 0,01$ ). La calcification est associée à une diminution des lames élastiques et à la différenciation des cellules musculaires lisses en ostéoblastes ( $p < 0,01$ ). Il y a une corrélation positive entre la VOP et le taux de calcification ainsi que l'expression d'ostéocalcine ( $r = 0,721$ ,  $p < 0,01$  et  $r = 0,692$ ,  $p < 0,01$ ), mais elle est négative avec la quantité d'élastine et d' $\alpha$ -SMA ( $r = -0,655$ ,  $p < 0,01$  et  $r = -0,741$ ,  $p < 0,01$ ).

**Conclusion:** Ces résultats démontrent qu'un déséquilibre phosphocalcique entraîne le développement de calcification et s'accompagne de la dégradation des lames élastiques et de la différenciation des cellules musculaires lisses. Ces changements structurels sont responsables, du moins en partie, de l'augmentation de la rigidité et de la pression artérielle en IRC.

**SIGNALISATION PROTECTRICE DE L'OCYTOCINE DANS UN MODÈLE *IN VITRO* D'ISCHÉMIE DE CARDIOMYOCYTES**

Gonzalez Reyes A, Gutkowska J, Jankowski M

Laboratoire de biochimie cardiovasculaire CRCHUM Hôtel - Dieu, Montréal, QC

**Introduction:** la mort des cardiomyocytes suite à une attaque ischémique contribue substantiellement à une diminution de la fonction cardiaque. Nous avons démontré que l'ocytocine (OT) réduit la taille de l'infarctus de façon significative chez les cœurs de rats. Notre hypothèse est donc que l'OT déclenche une signalisation protectrice directement dans les cardiomyocytes.

**Méthodes:** la lignée cellulaire H9c2 fut utilisée comme modèle de cardiomyocytes. L'ischémie fut simulée en remplaçant le milieu de culture avec un tampon ischémique et en cultivant les cellules dans une chambre anoxique (5% CO<sub>2</sub> + 95% N<sub>2</sub>) pendant 2h suivi par différentes durées de ré-oxygénation. L'activité mitochondriale fut évalué par production de formazan, et la mortalité cellulaire par fragmentation d'ADN. Les voies de signalisation impliquées ont été étudiées avec l'utilisation d'inhibiteurs de kinases et du ARN d'interférence ainsi que des études d'immunofluorescence avec microscopie confocale.

**Résultats:** Le modèle expérimental d'ischémie dans les cellules H9c2 fut caractérisé par une diminution dans la production de formazan (50-70% du contrôle,  $p < 0.001$ ) et par l'augmentation du nombre de noyaux morts ( $11.7 \pm 4.5$  vs.  $1.3 \pm 0.7\%$  dans le contrôle normoxique,  $p < 0.001$ ). L'addition de l'OT ( $10^{-7}$  à  $10^{-9}$  M) au début de la ré-oxygénation a renversé ces effets. L'effet protecteur de l'OT fut abrogé totalement 1) par un antagoniste de l'OT (l'OTA); 2) par le *knockdown* du récepteur à l'OT; 3) par l'inhibiteur de la kinase GMPc-dépendante (PKG) KT5823. L'inhibiteur des guanylate cyclases (GC) solubles, l'ODQ, et l'antagoniste des GC membranaires, l'IA71915, ont partiellement supprimé les effets de l'OT. L'analyse confocale des cellules traitées avec l'OT a démontré la co-localisation de la forme phosphorylée de la kinase Akt (p-Akt, Thr 308) avec la protéine mitochondriale Cox IV dans une structure annulaire autour des noyaux des cellules traitées. La synthase endothéliale du monoxyde d'azote phosphorylée (p-eNOS, Sér1177) fut détectée dans les noyaux des cellules suite à 30 minutes de traitement avec l'OT.

**Conclusion:** L'OT favorise directement la survie des cardiomyocytes si administrée au début de la ré-oxygénation en déclenchant la signalisation à travers la phosphorylation d'Akt et de eNOS. L'importance du positionnement intracellulaire du p-Akt et du p-eNOS observé suite au traitement avec l'OT reste à clarifier. La protection induite par l'OT implique aussi la production du GMPc.

**BRIS ET RÉPARATION À L'ADN INDIQUANT DES DOMMAGES À L'ADN PERSISTANT DES CELLULES VASCULAIRES APRÈS UNE HYPEROXIE NÉONATALE CHEZ LE RAT**

Huyard F, Bertagnolli M, Fallaha C, Nuyt AM, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Québec, Canada.

**Introduction:** Les prématurés sont exposés à la naissance à des concentrations élevées en oxygène (O<sub>2</sub>). Nous avons montré qu'une hyperoxie néonatale chez le rat conduit immédiatement après l'exposition à une diminution de la capacité proliférative au niveau aortique et à l'âge adulte à de l'hypertension artérielle, une dysfonction endothéliale et une rigidité artérielle, qui sont des caractéristiques de vieillissement. Notre objectif est d'élucider les mécanismes intervenant dans ces changements vasculaires en étudiant des indices de sénescence comme la présence de dommages et d'éléments de réparation à l'ADN.

**Méthodes:** Des rats Sprague-Dawley ont été exposés à 80% O<sub>2</sub> (H) vs air ambiant (AA) du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour de vie (P10). Des aortes ont été prélevées (n=5-10) pour étudier l'intégrité de l'ADN par le test des comètes et les éléments de réparation à l'ADN via la présence du suppresseur de tumeur p53 se liant à la protéine 1 (53BP1) par IF, à P10, 4 semaines (4W) et à 16 semaines (16W). Les expressions protéiques de Bax et Bcl2 (marqueurs apoptotiques) ont également été évalués à P10 et à 4 W.

**Résultats:** La présence de comètes, traduisant des dommages à l'ADN est retrouvée à tous les âges chez les rats H. À P10, 4W et 16W, les rats H vs. AA présentent au niveau aortique une augmentation des foci nucléaires de 53BP1 ( $21.5 \pm 0.9$  vs.  $11.8 \pm 0.7$  unité arbitraire de fluorescence,  $p < 0.0001$ ,  $19.3 \pm 0.8$  vs.  $10.5 \pm 1.1$ ,  $p < 0.0001$ ,  $23.9 \pm 3.8$  vs.  $14.2 \pm 0.9$ ,  $p < 0.05$ , respectivement). À P10, les expressions protéiques de Bax (pro-apoptotique), Bcl2 (anti-apoptotique) et le ratio Bax/Bcl2 sont inchangés entre les groupes ( $0.67 \pm 0.14$  vs.  $0.58 \pm 0.13$ ,  $1.85 \pm 0.33$  vs.  $1.46 \pm 0.21$ ,  $0.35 \pm 0.03$  vs.  $0.37 \pm 0.05$  respectivement). À 4W, l'expression de Bax et le ratio Bax/Bcl2 sont inchangés entre les groupes ( $2 \pm 0.2$  vs.  $1.6 \pm 0.1$ ,  $1.4 \pm 0.1$  vs.  $1.2 \pm 0.1$ , respectivement). Bcl2 est significativement diminuée chez les H vs. AA ( $1.6 \pm 0.03$  vs.  $1.3 \pm 0.07$ ,  $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** L'exposition néonatale à l'O<sub>2</sub> augmente la présence de bris à l'ADN et d'éléments de réparations persistant chez l'adulte, traduisant la présence de dommages au-delà de la période néonatale. La présence de bris à l'ADN n'évoque pas des phénomènes d'apoptose et peut être attribuée à un état de sénescence cellulaire, renforcé par la présence d'éléments de réparation. Ces changements précèdent l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et pourraient donc y contribuer.

## L'ENDOTHÉLINE-1 INDUIT LE DÉVELOPPEMENT D'ANÉVRYSMES CHEZ DES SOURIS APOLIPOPROTÉINE E NULL VIA L'INDUCTION DE STRESS OXYDATIF ET L'INFILTRATION DE CELLULES INFLAMMATOIRES

<sup>1</sup>Li MW, <sup>1</sup>Paradis P, <sup>1,2</sup>Schiffrin EL

<sup>1</sup>Unité de recherche en hypertension artérielle et en biologie vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction:** L'endothéline (ET)-1 a été impliquée dans la pathogenèse de l'athérosclérose. Les niveaux plasmatiques et tissulaires de l'ET-1 sont accrus chez les humains et animaux présentant de l'athérosclérose. La surexpression de l'ET-1 exagère le développement de l'athérosclérose chez les souris déficientes en apolipoprotéine E (*apoE*<sup>-/-</sup>) nourries avec une diète riche en gras (DRG). Le développement d'anévrismes abdominaux aortiques (AAA) est associé à l'athérosclérose. Nous avons émis l'hypothèse que l'induction de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et l'inflammation induite par l'ET-1 pourraient contribuer à accroître le taux de développement d'AAA chez des souris *apoE*<sup>-/-</sup> nourries avec une DRO.

**Méthodes:** Des souris de 8 semaines mâles sauvages (WT), des souris transgéniques surexprimant la prépro-ET-1 humaine dans l'endothélium (eET-1), des souris *apoE*<sup>-/-</sup> et eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup> ont été nourries avec une DRG. La circonférence de l'aorte supradrénale a été mesurée à l'aide de sections aortiques colorées à l'huile rouge O. La production de DRO par coloration avec le dihydroéthidium et l'infiltration de monocytes/macrophages et de lymphocytes T ont été déterminées par immunofluorescence dans le gras périvasculaire (PVAT), la média et les plaques dans des sections de l'aorte supradrénale.

**Résultats:** Des AAA ont été observés dans 6 de 15 souris eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup> comparé à aucun chez 15 souris *apoE*<sup>-/-</sup> ( $P < 0.05$ ). La circonférence aortique était 2.5 fois plus grande chez les souris eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup> possédant un AAA que chez les souris *apoE*<sup>-/-</sup> ( $P < 0.01$ ). La production de DRO était augmentée respectivement de 2.8 et 3.8 fois dans le PVAT et la média des souris eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup> comparé aux souris *apoE*<sup>-/-</sup> ( $P < 0.05$ ). L'infiltration de monocytes/macrophages était accrue de 2.6 fois dans le PVAT des souris eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup> comparé aux souris *apoE*<sup>-/-</sup> ( $P < 0.01$ ). L'infiltration de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> a été observée dans les plaques athérosclérotiques de 4 des 6 souris eET-1/*apoE*<sup>-/-</sup>.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que l'ET-1 joue un rôle important dans le développement des AAA en augmentant le stress oxydatif et l'infiltration de monocytes/macrophages et de lymphocytes T dans la paroi de l'aorte.

## EFFETS D'UNE DÉNUTRITION MATERNELLE PRÉNATALE SUR LA RÉGULATION DE L'HOMÉOSTASIE ÉNERGÉTIQUE CHEZ LA DESCENDANCE MÂLE ADULTE

Lukaszewski MA <sup>1,2</sup>, Mayeur S <sup>1,2</sup>, Moitrot E <sup>1</sup>, Delahaye F <sup>1</sup>, Dutriez-Casteloot I <sup>1</sup>, Montel V <sup>1</sup>, Dickes-Coopman A <sup>1</sup>, Laborie C <sup>1</sup>, Lesage J <sup>1</sup>, Vieau D <sup>1</sup> and Breton C <sup>1</sup> UPRES-EA 4489 Équipe de Dénutritions Maternelles Périnatales, USTL, Villeneuve d'Ascq, France <sup>2</sup> CHU Sainte-Justine Centre de recherche, Montréal, Québec, Canada

**Introduction:** Des études montrent qu'une dénutrition maternelle périnatale (DMP) induit un retard de croissance intra-utérin et prédispose la descendance au développement d'un syndrome métabolique (SM) : diabète de type 2, hypertension, obésité à l'âge adulte. Afin de comprendre les mécanismes impliqués, nous avons développé un modèle de programmation fœtale chez le rat par DMP de 70 % durant les 3 semaines de gestation : le modèle FR30. À 4 mois, nos animaux présentent une hypertension artérielle modérée, une hypercorticotéronémie ainsi qu'une hyperleptinémie sans phénotype d'obésité associée à une augmentation de l'expression de la leptine dans le tissu adipeux (TA).

**But:** Identifier les mécanismes programmés par la DMP induisant des pathologies du SM.

**Méthodes:** L'étude porte sur la descendance mâle de 4 mois. Dans le but d'exacerber les perturbations métaboliques observées et/ou silencieuses sous régime standard (S), nous avons placé les rats FR30 sous régime hyperlipidique (HF) dès le sevrage. Grâce à la technique de RT-qPCR, nous avons analysé le profil d'expression du TA de gènes impliqués dans la lipogenèse/adipogenèse et dans la régulation du système glucocorticoïde.

**Résultats:** Les rats FR30S montrent une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la lipogenèse, mais pas de modulation du système glucocorticoïde. Sous régime HF, l'expression de gènes impliqués dans l'adipogenèse est augmentée chez les animaux FR30. Nous avons également observé une augmentation de l'expression du récepteur MR et de la 11- $\beta$ HSD2 (qui inactive la corticostérone), ce qui protégerait d'une expansion du TA.

**Conclusion:** Cette étude montre donc que la DMP programme l'axe corticotrope et module la sensibilité aux glucocorticoïdes dans le TA sous régime HF. Ces données suggèrent l'existence d'un lien entre l'hypertension, l'hypercorticotéronémie qui lui est associée et le développement du TA. Ces différents acteurs se contrebalanceraient pour conserver l'équilibre du métabolisme énergétique de l'individu.



## LA DESVENLAFAXINE RÉDUIT LES SYMPTÔMES DE LA DÉPRESSION ET PRÉVIENT UN DÉFICIT D'APPRENTISSAGE APRÈS UN INFARCTUS DU MYOCARDE CHEZ LE RAT

Malick M, Gilbert K, Godbout R, Rousseau G, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Montréal, Québec, Canada

**Introduction :** L'infarctus du myocarde (IM) est associé à une augmentation de la mort par apoptose dans certaines régions du cerveau avant qu'il ne soit possible de détecter des comportements apparentés à la dépression chez l'humain. Certains inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine diminuent l'apoptose dans le système limbique en plus d'atténuer les symptômes de dépression post-IM chez le rat. Cette étude a pour objectif de déterminer si l'antidépresseur desvenlafaxine (Desv), un inhibiteur de la recapture de la noradrénaline et peut diminuer l'apoptose dans le système limbique, atténuer les symptômes de dépression à court et moyen terme ainsi que le déficit d'apprentissage à plus long terme.

**Méthodes :** L'infarctus du myocarde est induit par l'occlusion de l'artère coronaire gauche descendante antérieure sous anesthésie pendant 40 minutes chez des rats Sprague-Dawley mâles adultes. Des rats témoins ont subi la même intervention chirurgicale sans occlusion. Cinq minutes après le début de la reperfusion, les animaux étaient traités avec la Desv (3 mg/kg) ou avec le véhicule (saline) pendant 3 jours. L'apoptose a été évaluée par l'activité de la caspase-3 et 8 par spectrofluorométrie. Le dosage de certaines cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4) dans le plasma a été mesuré par ELISA. Dans une autre sous étude, le comportement dépressif a été évalué chez des animaux à 14 jours puis à 4 mois de reperfusion par différents tests comportementaux (socialisation et évitement passif, test de nage forcée). Enfin, l'apprentissage 4 mois après l'IM a été évalué par le test de la piscine de Morris.

**Résultats :** Le traitement à la Desv diminue la taille de l'infarctus. L'augmentation de l'apoptose (caspase-3 et -8) que l'on retrouve dans l'amygdale chez le groupe IM, est significativement atténuée par la desvenlafaxine. La desvenlafaxine augmente De même, les résultats des tests comportementaux nous indiquent que la Desv renverse les symptômes de dépression à court et long terme induits par l'IM. Enfin, la desvenlafaxine prévient un déficit cognitif qui survient à la suite d'un IM chez le rat.

**Conclusion :** Ces résultats indiquent que la Desv est efficace à réduire les symptômes de dépression à court et long terme ainsi que les problèmes d'apprentissages après un infarctus du myocarde par un mécanisme qui pourrait impliquer un effet antiapoptotique.

## LES LYMPHOCYTES T RÉGULATEURS ANTAGONISENT L'INDUCTION DU REMODELAGE VASCULAIRE PAR L'ANGIOTENSINE II

Mian MOR<sup>1</sup>, Barhoumi T<sup>1</sup>, Briet M<sup>1</sup>, Ene AC<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup> and Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en hypertension artérielle et en biologie vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction:** Les lymphocytes T participant dans la réponse inflammatoire impliquée dans le dommage vasculaire associé à l'hypertension. Les effets hypertenseur et négatif sur la fonction endothéliale de l'angiotensine (Ang) II sont absents chez les souris déficientes en lymphocytes T et B (*rag1<sup>-/-</sup>*) et sont rétablis par le transfert adoptif de lymphocytes T, mais pas B. Nous avons émis l'hypothèse que le dommage vasculaire induit par l'Ang II sera exagéré chez des souris *rag1<sup>-/-</sup>* avec transfert adoptif de lymphocytes T déficients en cellules T régulatrices Foxp3<sup>+</sup> (Scurfy) comparé à des cellules T sauvages.

**Méthodes:** Des souris *rag1<sup>-/-</sup>* mâles de 11 semaines ont été injectées IV avec du tampon phosphate salin contenant 2% de sérum fœtal bovin (véhicule) ou 10 x 10<sup>6</sup> lymphocytes T sauvages ou Scurfy (n=4-8). Deux semaines plus tard, les souris ont été traitées ou non avec l'Ang II (490 ng/kg/min, SC) à l'aide de mini-pompe osmotique pendant 2 semaines. Les pressions artérielles systolique (PAS) et diastolique (PAD) ont été mesurées par télémetrie et la fonction endothéliale et la structure des artères mésentériques (AM) de second ordre par myographe pressurisé.

**Résultats:** L'Ang II a induit une élévation similaire de 40 mmHg de PAS dans tous les groupes de souris *rag1<sup>-/-</sup>* ( $P < 0.01$ ). L'Ang a accru la PAD de ~20 mmHg chez les souris injectées avec les cellules T sauvages et Scurfy ( $P < 0.01$ ), mais pas chez les souris injectée avec le véhicule. L'Ang II a réduit de 30% la relaxation maximale endothélium-dépendante à l'acétylcholine des AM des souris injectées avec les deux types de cellules comparées au véhicule ( $P < 0.01$ ). L'Ang II a induit un remodelage hypertrophique des AM des souris injectées avec le véhicule et les cellules T Scurfy (le ratio média sur lumière et la surface transverse de la média à une pression de 45 mmHg étaient accrue de ~1.5 fois,  $P < 0.01$ ), mais pas sauvage. L'Ang II a causé un durcissement des AM des souris injectées avec le véhicule et les cellules T Scurfy ( $P < 0.01$ ), mais pas sauvage, démontrée par un déplacement vers la gauche des courbes de «stress-strain».

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que les cellules T régulatrices Foxp3<sup>+</sup> (Scurfy) ont un effet protecteur contrant l'action néfaste de l'Ang II sur la paroi des artères de résistance.



## EFFET DE L'OCYTOCINE SUR LA RÉGULATION GLYCÉMIQUE DANS UN MODÈLE DE RAT DIABÉTIQUE

Plante E, Jankowski M, Gutkowska J. CRCHUM, Université de Montréal.

**Introduction:** L'ocytocine (OT) est une hormone connue, en condition normale, pour stimuler une légère élévation de la glycémie par son action au niveau pancréatique. Toutefois, des cellules adipeuses et musculaires en culture répondent à un traitement avec de l'OT par une augmentation de l'incorporation du glucose. Nous avons donc testé l'hypothèse qu'un traitement in vivo avec de l'OT dans un modèle animal diabétique peut atténuer l'hyperglycémie.

**Méthodes:** Un état diabétique expérimental a été induit sur des rats Wistar suite à une injection unique de streptozotocine (STZ, 65 mg/kg) alors que des rats contrôles non diabétiques (Ctrl) ont reçu une injection de solution saline (0,9% NaCl). Des traitements intramusculaires aigus avec de l'OT (10 µg/kg) ou d'un véhicule salin (Veh) ont été administrés à tous les rats et les fluctuations de la glycémie ont été évaluées sur une période de 2 heures. L'effet de l'OT sur la tolérance au glucose et la résistance à l'insuline a été déterminé en évaluant les fluctuations de glycémie en combinant les traitements OT et Veh à l'administration de dextrose (2 g/kg) et d'insuline (0,5 U/kg).

**Résultats:** La STZ a induit une sévère hyperglycémie (>20 mmol/L). Suite à 2h de traitement avec l'OT, la glycémie a diminué de 21% ( $p < 0,001$ ; OT vs Veh) chez les rats STZ et a inversement augmenté de 30% ( $p < 0,01$ ; OT vs Veh) chez les rats contrôles. Lors de coadministration avec du dextrose, l'OT n'a pas influencé la dynamique de fluctuation de la glycémie chez les rats contrôles. Chez les rats STZ, l'administration de dextrose a induit une augmentation glycémique supérieure que chez les rats Ctrl ( $24 \pm 2$  vs  $16 \pm 1$  mmol/L,  $p < 0,001$ ), demeurant aussi plus élevée sur une période prolongée. La coadministration de l'OT au dextrose chez les rats STZ a atténué de 33% la hausse glycémique ( $p < 0,001$ ; OT vs Veh) atteignant des concentrations comparables à celles correspondantes aux rats Ctrl recevant du dextrose. Lors de coadministration avec l'insuline, l'OT a significativement potentialisé de 38% ( $p < 0,05$ ; OT vs Veh) la baisse glycémique associée à l'insuline.

**Conclusion:** Ces résultats indiquent une action directe et efficace de l'OT à diminuer la glycémie en présence de hautes concentrations de glucose plasmatique et une action antidiabétique indirecte en améliorant la sensibilité à l'insuline.

## HYPERTENSION-RELATED, CALCIUM-REGULATED GENE (HcARG/COMMD5) EST UN FACTEUR RELIANT L'HYPERTENSION À L'INSUFFISANCE RÉNALE ET LE CANCER

Portelance SG<sup>1,2</sup>, Matsuda H<sup>1,2</sup>, Cosette S<sup>1</sup>, Hamet P<sup>1,2</sup>, Tremblay J<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, CRCHUM-Technopôle Angus, Montréal, Qc, Canada

<sup>2</sup>Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada

**Introduction:** *Hypertension-related, calcium-regulated gene/copper metabolism gene/MURR5 domain* (HcARG/COMMD5) est une petite protéine de 225 AA dont l'expression dans les cellules rénales, est négativement régulée par une carence en calcium extracellulaire. Nous avons testé l'hypothèse que l'hypertension, par l'entremise du gène HcARG, serait liée avec l'insuffisance rénale et le cancer du rein. L'objectif est de démontrer que ce gène nous protège des dommages rénaux causés par l'ischémie-reperfusion ou par les adénocarcinomes rénaux.

**Méthodes:** la lignée cellulaire rénale MDCK-C7, HEK293 ainsi que les cellules Renca (cellule cancéreuse rénale) ont été transfectées avec un plasmide contenant HcARG ou le contrôle (Neo). Par FACS, nous avons recherché dans quelle phase du cycle cellulaire, les cellules exprimant HcARG étaient ralenties dans leur division mitotique. La différenciation des cellules a été inspectée par des marqueurs cellulaires. La viabilité des cellules transfectées ou non avec HcARG a été mesurée sous condition d'hypoxie. Ensuite, nous avons vérifié si le taux de survie après une ischémie-reperfusion de 50 minutes du rein est amélioré chez les souris Tg-HcARG. Et finalement, nous avons mesuré la croissance d'une tumeur chez les souris Tg-HcARG ou non où l'on a injecté des cellules Renca ( $1 \times 10^6$  cellules/souris).

**Résultats:** Nos résultats montrent que HcARG diminue la prolifération des cellules MDCK-C7, HEK293 et Renca  $P=0,01$ . HcARG bloque la progression du cycle cellulaire à la phase G<sub>2</sub>/M. Les cellules transfectées avec HcARG se différencient par l'expression de E-cadherine mais aussi par la perte d' $\alpha$ SMA. Les cellules transfectées avec HcARG ont un taux de viabilité supérieur après un choc hypoxique ( $P < 0,005$ ). Les souris Tg-HcARG ont un niveau de survie significativement supérieur à leur contrôle après l'ischémie-reperfusion  $P=0,0249$ . De plus, la croissance de tumeur est diminuée dans les souris Tg-HcARG  $P=0,05$ .

**Conclusion:** Le gène HcARG possède un effet protecteur et sa déficience chez les patients hypertendus peut être impliquée dans le développement d'insuffisance rénale et d'adénocarcinome rénal.

**LA TRANSGLUTAMINASE 2 RÉGULE L'ACTIVATION D'ERK 1/2 PAR L'ANGIOTENSINE II DANS LES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES.**Rautureau Y<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherche en hypertension artérielle et en biologie vasculaire, Institut de recherches médicales Lady Davis et <sup>2</sup>Département de médecine, Hôpital général juif Sir Mortimer B. Davis, Université McGill, Montréal, Québec, Canada.

**Introduction:** Au cours de l'hypertension, l'angiotensine (Ang) II induit un remodelage artériel dépendant de l'activation d'ERK 1/2 dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). La réticulation des protéines induite par l'activité transamidase de la transglutaminase 2 (TG2) est aussi impliquée dans le remodelage artériel. En plus de son activité transamidase, TG2 est une protéine multifonctionnelle ayant une activité GTPase et donc pouvant avoir un rôle dans la signalisation cellulaire. Nous avons émis l'hypothèse que, durant le remodelage artériel, l'activation d'ERK 1/2 par l'Ang II est dépendante de TG2.

**Méthodes et Résultats:** Afin de déterminer le rôle de TG2 au cours de la signalisation activée par le récepteur de l'Ang II de type 1 (AT<sub>1</sub>R), nous avons surexprimé TG2 marquée avec 6 His (His<sub>6</sub>-TG2) dans des cellules embryonnaires rénales humaines 293 surexprimant de façon stable AT<sub>1</sub>R marqué avec hémagglutinine (HA-AT<sub>1</sub>R). Les niveaux de phosphorylation et d'expression des protéines étaient évalués par Western blot. Pour des stimulations comprises entre 2 et 60 min, la surexpression de TG2 potentialisait la phosphorylation d'ERK 1/2 en réponse à 100 nM d'Ang II par rapport à des cellules surexprimant la protéine fluorescente verte contrôle, ( $P < 0.05$ ,  $n=4$ ). La potentialisation maximale était observée après 2 min de stimulation où les cellules TG2 avaient une réponse ERK 1/2 augmentée de 64%. Dans la lignée de CMLV de souris (MOVAS), l'inactivation de l'expression de TG2 avec des siRNA (diminution de l'expression de 83±5% comparée au siRNA ctrl) ne modifiait pas la viabilité des MOVAS ( $n=3$ ). En présence de 1 nM et 100 nM d'Ang II, la phosphorylation d'ERK 1/2 était augmentée de 38±18% et 60±29%, respectivement, et cela était inhibé par le siRNA TG2 ( $P < 0.05$ ,  $n=4$ ). La surexpression de His<sub>6</sub>-TG2 entraînait l'augmentation de l'expression de la forme dimérique d'HA-AT<sub>1</sub>R comparée aux conditions où GFP était surexprimée.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que TG2 est impliquée dans l'activation de la voie de signalisation ERK 1/2 en réponse à l'Ang II. L'activation d'ERK 1/2 par TG2 pourrait impliquer la dimérisation d'AT<sub>1</sub>R. TG2 pourrait être impliqué dans le remodelage artériel via l'activation d'ERK 1/2 par l'Ang II.

**UTILISATION DE RATS CONGÉNIQUES POUR CARTOGRAPHIER LES RÉGIONS DU CHROMOSOME 2 LIÉES À L'INFLAMMATION VASCULAIRE**Rehman A, <sup>1</sup>Yamamoto N, <sup>1</sup>Mian MOR, <sup>1</sup>Barhoumi T, <sup>3</sup>Kwitek AE, <sup>1</sup>Paradis P, <sup>1,2</sup>Schiffrin EL

<sup>1</sup>Institut Lady Davis de recherches médicales, <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, QC, Canada et <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, University of Iowa, IA, USA.

**Introduction:** Nous avons démontré l'implication du chromosome (Chr)2 dans la réponse immunitaire adaptative via les lymphocytes T régulateurs (Treg) chez le rat hypertendu Dahl sensible au sel (SS). Les rats consomiques (SB2) ayant le génome du SS et le Chr2 du rat normotendu Brown Norway (BN) présentent une diminution de l'inflammation vasculaire et une meilleure fonction des Treg par comparaison aux SS. Les gènes liés à l'inflammation vasculaire contenus dans le Chr2 pourraient être cartographiés à l'aide de rats congéniques ayant des portions BN de Chr2 sur un fond génétique SS.

**Méthodes:** Des rats mâles BN, SS, SB2, congéniques (SB)A, SBB et SBE de 4 semaines ont été nourris avec une diète normale pendant 8 semaines. La tension artérielle (TA) a été mesurée par télémétrie. Les Treg (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>) et les cellules T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup> ont été isolées de la rate par cytométrie en flux avec un trieur de cellules et cultivées à une densité de 10<sup>5</sup> cellules/puit de plaque de 96 puits pendant 48h en présence d'anticorps anti-CD3. Le facteur de croissance transformant (TGF)- $\beta$ , le facteur de nécrose tumorale (TNF)- $\alpha$  et les interleukines (IL)-10, -17 et -6 sécrétés ont été mesurés par immunoessai de microbilles multiplexées. Le contenu en collagène aortique a été déterminé par coloration des coupes histologiques avec le rouge de Sirius.

**Résultats:** Les SS, SB2 et SBE présentaient une TA systolique 50 mmHg plus élevée comparée aux BN, SBA et SBB ( $P < 0.05$ ). Le % de CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup> était 30% plus haut chez les SS, SB2 et SBE que BN, SBA et SBB ( $P < 0.05$ ). Le % de Treg était 50% plus bas chez les SBA que les SS et SB2 ( $P < 0.05$ ). La sécrétion de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  et IL-6 par les CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup> des SS et SBB était inférieure de  $\geq 12\%$  ( $P < 0.05$ ) et inchangée chez les SB2 et SBE comparées aux BN. La sécrétion d'IL-10 et IL-17 des Tregs était augmentée ~4 fois chez les SB2 et les SS et SB2, respectivement ( $P < 0.05$ ), et inchangée chez les congéniques comparée aux BN. Le collagène aortique était 3 fois plus élevé chez les SS et 1.7 fois chez les SB2 et SBB ( $P < 0.05$ ), et inchangé chez les SBA et SBE comparé aux BN.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que quelques gènes régulant la réponse inflammatoire vasculaire sont contenus dans le fragment BN du Chr2 présent chez les rats SBE.

## LA CALCIFICATION DES CAROTIDES ALTÈRE L'HOMÉOSTASIE CÉRÉBRALE CHEZ LA SOURIS

Sadekova N., Vallerand D., Guevara E., Lesage F. et Girouard H., Département de pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** La rigidité artérielle a été reconnue tout récemment comme un facteur déterminant pour le déclin cognitif chez l'humain. Toutefois, son effet sur l'homéostasie cérébrale est peu connu. Ainsi, l'hypothèse de l'étude est que l'augmentation de la rigidité artérielle, induite par une calcification des carotides, résulte en une augmentation de la pulsativité du flux sanguin cérébral et du stress oxydatif induisant ainsi une inflammation cérébrale et des dommages neuronaux.

**Méthodes:** Les carotides des souris C57BL/6 ont été badigeonnées avec différentes concentrations de  $\text{CaCl}_2$ . La rigidité artérielle a été caractérisée par des dépôts de calcium (Von Kossa) et de collagène (Trichrome de Masson), l'infiltration de macrophages (MOMA-2) et par les mesures de compliance sur les carotides isolés et pressurisés. Les effets cérébraux ont été évalués au niveau de l'hippocampe et du cortex, des régions impliquées dans les fonctions cognitives. L'inflammation cérébrale a été évaluée en fonction de l'augmentation des marqueurs microgliaux (Iba-1, CD68) et astrocytaires ( $\text{s100}\beta$ ) et le stress oxydatif par l'augmentation de la production de l'anion superoxyde (dihydroéthidium). Les dommages neuronaux ont été évalués par des mesures de neurodégénérescence (Fluoro-Jade B) et de la viabilité neuronale (propidium iodide/NeuN). La pulsativité du flux sanguin a été mesurée à l'aide de la tomographie à cohérence optique.

**Résultats:** Le badigeonnage des carotides avec  $\text{CaCl}_2$  induit un dépôt de calcium, de collagène et une infiltration de macrophages caractéristiques d'une rigidité artérielle, sans toutefois augmenter la pression artérielle. Au niveau de l'hippocampe, la calcification des carotides induit une activation de la microglie (augmentation de CD68) et une astrogliose (augmentation de  $\text{s100}\beta$ ), également présente au niveau du cortex ( $n=3$ ,  $p<0,05$ ). De plus, la calcification des carotides induit, dans l'hippocampe, une augmentation de la production de l'anion superoxyde ( $n=3$ ,  $p<0,05$ ) ainsi que la dégénérescence ( $n=4$ ).

**Conclusion:** Les résultats de cette étude démontrent que la calcification des carotides active la glie et augmente la production de radicaux libres supposant une altération de l'homéostasie cérébrale. Cette étude suggère que la rigidité artérielle joue un rôle important dans la pathogénèse des maladies neurodégénératives et mérite d'être étudiée plus en détail afin d'établir de nouvelles cibles pour protéger le cerveau.

## RÔLE DU RÉCEPTEUR À LA RÉNINE DANS L'EXPRESSION GÉNIQUE DANS LES GRAS ET LA RÉSISTANCE À L'INSULINE DANS UN MODÈLE D'OBÉSITÉ MURIN

Shamansurova Z, Tan P, Michel C, Nguyen TMD, Schiller PW, Gutkowska J, Lavoie JL  
CRCHUM, Montréal, Québec

**Introduction:** Le système rénine-angiotensine (SRA) a été impliqué dans la pathogénèse de l'obésité. Toutefois, peu est connu à cet égard concernant un de ces nouveaux membres, le récepteur de la rénine/prorénine [(P)RR]. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer son implication dans l'obésité et dans l'homéostasie du glucose.

**Méthodes:** Le rôle du (P)RR a été étudié en administrant le bloqueur du (P)RR ou une solution saline, à des souris nourries un régime riche en graisses et en sucres (HF/HC) ou une diète standard (ND) pendant 10 semaines. Le poids corporel fut enregistré hebdomadairement et la composition corporelle a été évaluée par l'écho-MRI. À la fin du traitement, les souris ont été euthanasiées pour collecter des échantillons sanguins et les tissus adipeux blancs (WAT) qui ont également été pesés et surgelés pour des analyses futures. Les concentrations circulantes de glucose, d'insuline, d'acides gras libres (FFA) ont été mesurées par des méthodes enzymatiques. De plus, l'expression génique a été mesurée par PCR en temps réel.

**Résultats:** L'obésité a amené une diminution de l'expression de l'angiotensinogène (Agt) et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) dans le WAT, alors que l'expression de la rénine et du (P)RR a été augmentée. Par contre, le bloqueur du (P)RR a diminué uniquement l'expression du (P)RR dans le gras sous-cutané avec aucun effet sur les autres composantes du SRA. L'augmentation de l'expression de GLUT1 dans le WAT des souris obèses est en ligne avec l'augmentation de la glycémie, de l'insuline et de la FFA ainsi que du ratio glucose/insuline. Toutefois, le bloqueur du (P)RR semble avoir amélioré la sensibilité à l'insuline compte tenu de la diminution du ratio glucose/insuline circulant observé. Ceci est sûrement dû entre autres par la réduction de l'expression de GLUT1 et 4 dans le gras sous-cutané et de l'augmentation de GLUT4 produite par le bloqueur.

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent donc un rôle important du (P)RR dans la pathogénèse de l'obésité et de l'insulino-résistance.

## ÉTUDE DE LA CROISSANCE DES CAPILLAIRES GLOMÉRULAIRES DANS LE REIN DE L'AGNEAU PRÉMATURÉ

Sutherland MR<sup>1,2</sup>, Vojisavljevic D<sup>1</sup>, Dahl MJ<sup>3</sup>, Albertine KH<sup>3</sup>, and Black MJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy and Developmental Biology, Monash University, Victoria, Australia <sup>2</sup>CHU Sainte-Justine Centre de Recherche, Montréal, Québec, Canada <sup>3</sup>Department of Pediatrics, University of Utah, Utah, USA

**Introduction:** Les prématurés naissent alors que la néphrogenèse n'est pas encore achevée. La prématurité et l'augmentation de la pression partielle en oxygène sanguin qui en résulte perturbent le développement vasculaire dans plusieurs organes (yeux, poumons) résultant en pathologies comme la dysplasie bronchopulmonaire et la rétinopathie du prématuré. Cependant, aucune donnée n'indique si le rein est touché.

**But:** Étudier les effets de la naissance prématurée et de la ventilation sur la croissance des capillaires glomérulaires du rein.

**Méthodes:** 4 groupes : 1) agneaux prématurés nés à 130 jours (j) (terme à 147 j) et étudiés après 3 j de ventilation : APV 2) agneaux prématurés nés à 133 j : AP 3) les contrôles nés à terme : CT 4) agneaux nés à terme et ventilés durant 3 j : CTV. La longueur totale des capillaires et leur aire par corpuscules rénaux sont calculées par la technique stéréologique. Le nombre de néphrons (NN) est évalué par dissection/fractionnement sur des sections glycolméthacrylate et l'aire de filtration rénale totale (AFRT) calculée pour chaque rein.

**Résultats:** Le NN est identique dans chaque groupe. Les APV ont une longueur, une aire des capillaires et une AFRT augmentées par rapport aux AP non ventilés. Cependant les AP ont une longueur capillaire, et une AFRT diminuées par rapport aux CT, mais une aire capillaire équivalente, ce qui semble indiquer une dilatation des capillaires. Il est important de noter que la longueur et l'aire capillaire, et l'AFRT des CTV sont diminuées de manières significatives comparées aux CT.

**Conclusion:** Ces données montrent que la ventilation perturbe la croissance des capillaires glomérulaires indépendamment de la prématurité. La dilatation capillaire dans le rein du prématuré pourrait prédisposer au développement de la glomérosclérose, pathologie liée à l'hypertension, ce qui ajoute un risque de complication rénale et vasculaire chez le prématuré

## IMPLICATION POTENTIELLE DES ADIPOKINES DANS LES EFFETS D'UN BLOQUEUR DU RÉCEPTEUR À LA PRORÉNINGINE/RÉNINGINE SUR LE GAIN DE POIDS

Tan P, Shamansurova Z, Michel C, Nguyen TMD, Schiller PW, Gutkowska J, Lavoie JL  
CRCHUM, Montréal, Québec

**Introduction:** La régulation dans le tissu adipeux de la rénine et du récepteur de la prorénine/rénine [(P)RR] est très peu connue. L'objectif de cette étude était d'élucider la régulation et le rôle de ce récepteur dans un modèle de souris obèse.

**Méthodes:** Les souris ont été placées sur une diète normale ou riche en gras et en sucre (HF/HC) pour 10 semaines puis ont été sacrifiées pour collecter le tissu adipeux (sous-cutané, péri-rénal, péri-gonadal et brun). Pour évaluer le rôle du (P)RR dans l'obésité, 2 groupes ont reçu le bloqueur du (P)RR en plus des diètes. L'expression génique a été mesurée par PCR en temps réel, les protéines par Western Blot et les adipokines circulantes par microarray.

**Résultats:** Nous avons trouvé que la diète HF/HC augmentait l'expression du (P)RR dans le gras péri-rénal, sous-cutané et brun uniquement, alors que celle de la rénine était augmentée dans tous les sites. De plus, le bloqueur a eu aucun effet sur l'expression de la rénine alors qu'il diminuait celui du (P)RR dans le gras sous-cutané. Nous avons trouvé que la protéine du (P)RR était augmentée avec l'obésité, mais in affecté par le bloqueur dans le gras sous-cutané et péri-rénal. Une tendance similaire était observée dans le gras péri-gonadal. Les souris recevant le bloqueur ont prises moins de poids que celles recevant la saline, indépendamment de la diète. Comme attendu, l'expression de la leptine était significativement augmentée par la diète HF/HC dans tous les tissus adipeux blancs et cet effet était complètement aboli par le bloqueur. Des effets similaires ont été observés pour la résistine et l'adiponectine dans le gras sous-cutané et brun. Toutefois, celles-ci étaient diminuées par la diète HF/HC dans le gras péri-gonadal et péri-rénal alors que le bloqueur avait peu d'effet sur les gras viscéraux. La leptine circulante était modifiée de façon similaire à son expression d'ARNm. Contrairement, la résistine et l'adiponectine circulante étaient augmentées et tendaient à diminuer avec l'obésité.

**Conclusion:** Le bloqueur du (P)RR semble avoir un effet très prononcé sur le tissu adipeux. De plus, une différence régionale, similaire à ce qui a été rapporté dans la littérature, a été notée dans l'expression des adipokines. D'après nous, ceci est la première démonstration d'une implication du (P)RR dans l'obésité et qui pourrait ainsi être une nouvelle cible thérapeutique.