

résumés des communications / Sciences fondamentales

LA MOXONIDINE PROTÈGE LES CARDIOMYOCYTES MAIS INDUIT LA MORT DES FIBROBLASTES, PAR LES VOIES DE SIGNALISATION JNK ET INOS

Aceros H, Noiseux N, Mukaddam-Daher, S

Centre de Recherche du CHUM et Département de Médecine et Pharmacologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Nos études précédentes ont montré que la moxonidine, un antihypertensif d'action centrale et agoniste sélectif du récepteur aux imidazolines I1, améliore la fonction cardiaque, régresse l'hypertrophie du ventricule gauche et la fibrose cardiaque en doses non-hypotensives dans des rats hypertendus. Comme le récepteur I1 s'exprime aussi au niveau cardiaque, les effets cardioprotecteurs de la moxonidine peuvent inclure des effets directs. Donc, les effets de la moxonidine sur la survie/prolifération des cellules cardiaques en culture et les voies de signalisation impliquées ont été étudiés.

Méthodes: Des cardiomyocytes et fibroblastes isolés de cœurs de rats néonataux sont cultivés dans DMEM+10% FBS pendant 2 jours. Après privation de sérum (DMEM+0,1% FBS) les cellules sont incubées avec moxonidine (10-5 M) avec ou sans l'antagoniste au récepteur I1 (AGN192403, 10-5 M), ou les inhibiteurs suivants: ERK1/2 (PD98059, 10-5 M), JNK (SP600125, 10-5 M), p38 MAPK (SB203580, SB, 10-5 M), PI3K/Akt (wortmannin, 10-6 M), ou iNOS (s-Methylisothiourea sulfate, SMS, 10-6 M). L'apoptose cellulaire fut évaluée après 48h par cytométrie en flux, l'activité métabolique et l'intégrité de la membrane cellulaire par le kit Live/Dead et l'activité mitochondriale/proliférative par MTT.

Résultats: Dans les cardiomyocytes, la moxonidine réduit l'apoptose induite par la privation de sérum (50%, $p < 0,05$), par un mécanisme dépendant du récepteur I1, sans changer l'activité métabolique ou mitochondriale. La moxonidine induit une perte significative de l'intégrité de la membrane cellulaire en présence des inhibiteurs AGN (125±15%), SP (136±20%), et SMS (153±9%), ce qui montre que le récepteur aux imidazolines I1 et les voies JNK et iNOS sont impliqués dans la protection par la moxonidine. D'autre part, la moxonidine induit la mort (FACS PI +40%, $p < 0,05$) et diminue la prolifération (MTT, -20%, $p < 0,05$) des fibroblastes, avec une augmentation dans la perméabilité de la membrane cellulaire (+100% $p < 0,05$).

Conclusion: Les effets antiapoptotiques dans les cardiomyocytes et antiprolifératifs dans les fibroblastes sont compatibles avec les effets cardioprotecteurs de la moxonidine chez les rats hypertendus.

L'EXPOSITION NÉONATALE À UN TAUX ÉLEVÉ D'OXYGÈNE MÈNE À L'ACTIVATION DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE ET UNE DYSFONCTION CARDIAQUE CHEZ LE RAT

Bertagnolli M, Béland-Bonenfant S, Dios A, Huyard F, Cloutier A, Sutherland MR, Lukaszewski M-A, Paradis P, Schiffrin EL, deBlois D, Nuyt AM

Centre de Recherche du CHU Ste-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Une exposition néonatale à l'oxygène (O_2) résulte en une élévation de la pression artérielle et dysfonction vasculaire, médiées en partie par l'activation du système rénine-angiotensine (SRA). Les effets d'une telle exposition sur le développement cardiaque et l'expression du SRA demeurent inconnus. La présente étude a pour but l'évaluation de la fonction du myocarde et l'expression du SRA après une exposition transitoire à l' O_2 , en période néonatale, ainsi que l'effet d'un traitement au losartan (un bloqueur d' AT_1) afin de démontrer le rôle du SRA dans les anomalies cardiaques observées après l' O_2 .

Méthodes: Les rats Sprague-Dawley et leur mère sont exposés à 80 % d' O_2 (O_2 ; n=8) ou à air ambiant (Ctrl; n=8) du 3^{ème} au 10^{ème} jour de vie (P3-P10). Les cœurs sont prélevés à P3 (avant), P5 (pendant), P10 (après l'exposition), et à 4 semaines. Des rats additionnels ont été traités avec du losartan (20mg/Kg/jour; gavage) de P8-P10. Des échographies cardiaques ont été effectuées à 4 semaines.

Résultats: À P5 et P10, l'exposition à l' O_2 augmente le niveau d'ARNm (RT-PCR) d' AT_1a et d' $ACE2$. Les expressions d' AT_1b et d' AT_2 diminuent avec l'âge chez les Ctrl mais demeurent élevées chez le groupe exposé à l' O_2 . À P10, chez le groupe exposé à l' O_2 , l'aire de surface des cardiomyocytes est augmentée. À 4 semaines, les rats exposés à l' O_2 montrent une augmentation de la fibrose, de la dysfonction systolique évaluée par la fraction de raccourcissement, une augmentation d' AT_1b et d' AT_2 . Le traitement au losartan diminue le ratio poids du cœur/poids du corps et améliore la fraction de raccourcissement, chez les rats exposés à l' O_2 . Tous les résultats présentent des différences de $p < 0,05$.

Conclusion: Une exposition néonatale à l' O_2 active le SRA au niveau cardiaque en régulant positivement AT_1 à tous les âges étudiés, et AT_2 à P5 et P10. À 4 semaines un déséquilibre du ratio AT_1/AT_2 est présent, de même qu'une dysfonction du ventricule gauche, une augmentation de la fibrose et de l'hypertrophie cardiaque. Le traitement au losartan prévient l'hypertrophie du myocarde et son dysfonctionnement. L'activation du SRA, associée à l'exposition d' O_2 en période néonatale, peut causer des impacts significatifs au niveau du développement du myocarde et peut contribuer à une dysfonction cardiaque précoce chez le rat.

MODULATION MITOCHONDRIALE DES DYNAMIQUES CALCIFIQUES LOCALES DE L'ENDOTHÉLIUM NATIF

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

Introduction: Les maladies vasculaires telles que l'hypertension artérielle sont associées à une dysfonction endothéliale. L'homéostasie calcique est une composante essentielle des mécanismes responsables des fonctions endothéliales. Les pulsars calciques consistent en une libération spontanée de Ca^{2+} par les récepteurs à l' IP_3 au niveau des jonctions myoendothéliales (JME), lieu d'interaction privilégié avec le muscle lisse vasculaire sous-jacent. Toutefois, les mécanismes régulateurs des pulsars calciques demeurent à élucider. Il a été démontré que les mitochondries étaient impliquées dans la régulation des réserves en Ca^{2+} du réticulum endoplasmique de plusieurs types cellulaires. Les mitochondries pourraient ainsi être un modulateur majeur des pulsars calciques dans l'endothélium natif de souris.

Méthodes: Cette hypothèse fut évaluée sur des artères mésentériques de résistance de souris. La distribution mitochondriale dans l'endothélium natif a été déterminée par microscopie confocale à l'aide du *mitotracker red*, marqueur spécifique des mitochondries puis par microscopie électronique à transmission. L'impact fonctionnel de l'interaction mitochondrie-pulsars calciques, a été étudié par microscopie confocale à haut débit.

Résultats: Une augmentation significative de la surface occupée par les mitochondries autour de la JME par rapport à la cellule entière ($13.8 \pm 2.9\%$ et $4.1 \pm 1.0\%$ respectivement, $n=7$) est observée en microscopie structurale. D'autre part, les résultats en microscopie confocale en temps réel suggèrent que la mitochondrie module les pulsars calciques. En effet, le FCCP, un découpleur mitochondrial, augmente le nombre de sites de pulsars calciques ($+38 \pm 12\%$, $n=3$) observés dans l'endothélium natif de souris sans toutefois en modifier les paramètres cinétiques.

Conclusion: Ces résultats sont très excitants et appuient fortement notre hypothèse puisqu'ils suggèrent que les mitochondries sont disposées autour de la JME et peuvent ainsi former une barrière contrôlant 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.

L'INDUCTION DE LA SUREXPRESSON ENDOTHELIALE D'ENDOTHELIN-1 AUGMENTE LA PRESSION ARTERIELLE

Coelho SC¹, Rautureau Y¹, Rehman A¹, 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: L'endothéline-1 (ET-1), un puissant peptide vasoconstricteur dérivé de l'endothélium, est impliqué dans l'hypertension. L'utilisation de souris transgénique (TG) a été utile pour faire avancer les connaissances, mais certains changements pourraient être dus à la surexpression *in utero* de l'ET-1. Pour mieux comprendre le rôle de l'ET-1 dans l'hypertension, nous avons développé un modèle de souris TG présentant une surexpression de l'ET-1 inductible et endothéliale spécifique (ieET-1).

Méthodes: Des souris TG inductibles (*cat*-ET-1) exprimant le chloramphénicol acétyltransférase (*cat*) puis l'ET-1 humaine respectivement avant et après l'excision médiée par Cre recombinase, sous le contrôle du promoteur de l'actine β de poulet et d'éléments amplificateurs précoces immédiats du cytomégalo virus (CAG) ont été générées. Les souris ieET-1 ont été obtenues en croisant les souris *cat*-ET-1 avec des souris exprimant une protéine Cre fusionnée au domaine de liaison au ligand du récepteur de l'estrogène muté liant le tamoxifène (TAM, CreER^{T2}) sous le contrôle du récepteur endothélial spécifique *Tie2*. Les souris CreER^{T2} ont aussi été croisées avec des souris rapportrices *ROSA*^{mT-mG/mT-mG}, exprimant la protéine fluorescente verte ciblée à membrane (mG) puis le dimère tandem tomato ciblé à la membrane (mT) respectivement avant et après l'excision médiée par Cre. Les souris ont été traitées ou non avec TAM (1 mg/jour, s.c.) pendant 5 j et sacrifiées 14 j plus tard. Les niveaux d'ET-1 plasmatique étaient mesurés par ÉLISA et la pression artérielle systolique nocturne (PASn) par télémétrie.

Résultats: L'expression de mG était restreinte aux cellules endothéliales (CE) dans l'aorte, le cœur, le rein et le foie suite à l'induction de CreER^{T2} par TAM dans les souris rapportrices. L'efficacité de l'excision médiée par CreER^{T2} dans les CE des artères mésentériques était de $22 \pm 3\%$. Les souris *cat*-ET-1 présentaient des niveaux d'ET-1 plasmatiques similaires aux souris sauvages. Le TAM augmentait de 5.9 fois les niveaux plasmatiques d'ET-1 chez les souris ieET-1. La PASn était accrue de 20 mmHg chez les souris ieET-1 et non altérée chez les souris *cat*-ET-1 et CreER^{T2} par TAM.

Conclusion: Ces résultats montrent que ce nouveau modèle de surexpression endothéliale spécifique et inductible permettra l'étude du rôle de l'ET-1 dans l'hypertension indépendamment d'effet développemental.

OCYTOCINE-GLY-LYS-ARG STIMULE LA CARDIOMYOGÉNÈSE EN CIBLANT LES CELLULES « *SIDE POPULATION* » D'ORIGINE CARDIAQUE

Danalache BA, Gutkowska J, Jankowski M
CRCHUM, Département de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Le système ocytocine (OT) est exprimé et fonctionnellement présent dans le cœur des humains et des rongeurs. En outre, l'OT est un facteur cardiomyogénique stimulant la différenciation des cellules souches cardiaques en cardiomyocytes (CM) contractiles. L'objectif de cette étude était de caractériser l'expression des récepteurs de l'OT (OTR) de cellules souches de type SP (*side population*) et d'étudier la capacité des cellules SP à se différencier en CM suite à leur stimulation par l'OT-Gly-Lys-Arg (OT-GKR), une forme précurseur de l'OT biologique active et dominante lors du développement fœtal.

Méthodes: Des analyses immunohistochimiques ont été effectuées sur des cellules SP de cœurs embryonniques de rats prélevées à la mi-gestation (E11). Les cellules SP ont été isolées par cytométrie de flux et mises en culture en présence d'OT-GKR.

Résultats: Les colorations immunologiques ont révélées la co-présence des récepteurs de l'OTR et d'ABCG2 (*brcp1*), l'antigène marqueur du phénotype SP, dans les cœurs embryonniques. L'OTR était exprimé à la surface cellulaire dans $5,3 \pm 0,06$ % des cellules SP et dans $15,2 \pm 1,10$ % de la population de cellules souches principales. Parmi les sous-populations de cellules SP, l'OTR a été détecté dans les cellules exprimant CD29, CD31 et CD45, respectivement dans une proportion de 6,6 %, 4,7 % et 0,7 % de l'ensemble des cellules SP présentes. Les cellules SP-CD31 négatif prolifèrent en présence d'OT-GKR en formant de gros agrégats cellulaires. L'OT-GKR induit aussi l'apparition de colonies de cellules contractiles après 11 jours ($10 \pm 2,78$ %), augmentant en nombre jusqu'à 16 jours ($52 \pm 1,21$ %). Ces cellules exprimaient différents marqueurs du phénotype des CM tels la troponine, MLC2 et l'actinine. De plus, les cellules SP stimulées par OT-GKR induisent un phénotype endothélial.

Conclusion: Ces résultats suggèrent que la pro-hormone OT-GKR stimule la différenciation des cellules cardiaques SP-CD31 négatif et est impliquée dans la croissance cardiaque.

RÔLE DE LA PROTÉINE KINASE IKK β DANS LE DÉVELOPPEMENT DE L'ATHÉROSCLÉROSE ET DES ANÉVRISMES AORTIQUES

Dô F, Servant MJ
Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: L'inflammation vasculaire est liée au développement de l'athérosclérose et d'anévrismes aortiques. En réponse à divers stimuli, la protéine kinase IKK β est responsable de l'activation des facteurs de transcription de la famille NF- κ B et de la réponse inflammatoire. La croissance exagérée des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) ainsi que la synthèse de la matrice extracellulaire par ces dernières sont des processus cellulaires intimement liés au développement des maladies vasculaires inflammatoires. *In cellulo*, les résultats de notre groupe de recherche laissent entrevoir un rôle de cette kinase dans les réponses phénotypique et inflammatoire des CMLV exposées à l'angiotensine II (Ang II). Ainsi, nous émettons l'hypothèse que la protéine kinase IKK β est un joueur clé dans le développement de l'athérosclérose et des anévrismes aortiques induits par Ang II.

Méthodes: Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons développé un modèle de souris dans lequel le gène codant pour IKK β est inactivé (IkK $\beta^{\text{Flox/Flox}}$) dans le temps (Cre recombinase inducible au tamoxifène) et spécifiquement dans le tissu musculaire lisse (SMA-Cre), le tout dans un modèle *Apoe*^{-/-}. Ainsi, des mâles SMA-CreER^{T2}.IkK $\beta^{\text{Flox/Flox}}$.*Apoe*^{-/-}, pré-exposés à la tamoxifène, ont été utilisés dans un protocole permettant le développement d'anévrismes suprarénaux et d'athérosclérose (infusion d'Ang II à raison de 1000ng/kg/min sur 28 jours). Le développement de plaques athéromateuses au niveau de la crosse aortique, des aortes thoraciques et abdominales a été visualisé et quantifié par l'incorporation de Oil Red O. Le développement et la sévérité des anévrismes aortiques ont été observés lors d'évaluations macroscopiques et la mesure des diamètres *ex vivo* respectivement.

Résultats: La mise en culture des CMLV aortiques isolées des souris SMA-CreER^{T2}.IkK $\beta^{\text{Flox/Flox}}$.*Apoe*^{-/-} nous a permis de démontrer une perte de plus de 80% de l'expression de la kinase IKK β en réponse à l'exposition au tamoxifène, un effet se traduisant par une incapacité de l'Ang II à induire l'activation de voie de signalisation sous le contrôle de IKK β . Ces effets observés *in cellulo* se transposent *in vivo* où l'inactivation inducible du gène *IkK β* au niveau de la paroi vasculaire a grandement diminué la capacité de l'Ang II à induire le développement d'anévrismes suprarénaux ainsi que l'athérosclérose.

Conclusion: La protéine kinase IKK β se comporte comme une cible potentielle pour le traitement de maladies vasculaires inflammatoires.

RÔLE DE LA KINASE IKK β AU NIVEAU DES EFFETS HYPERTROPHIQUES INDUITS PAR L'ANGIOTENSINE II *IN VITRO* ET *IN VIVO*

Doyon P, van Zuylen WJ, Servant MJ
Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: L'angiotensine II (Ang II) est impliquée dans plusieurs processus contribuant au remodelage vasculaire, dont l'hypertrophie et l'inflammation. Nous avons précédemment établi que le principal effecteur de la réponse inflammatoire induite par l'Ang II est la kinase IKK β . Par ailleurs, il a été démontré qu'en réponse au TNF α cette même kinase a également la capacité de contrôler les mécanismes d'initiation de la traduction, via son rôle dans la voie de signalisation TSC1/2-mTORC1. Nous suggérons donc qu'IKK β pourrait être une cible thérapeutique de choix puisque son inhibition pourrait diminuer le remodelage vasculaire en affectant à la fois les réponses inflammatoires et hypertrophiques causées par l'Ang II.

Méthodes: Modèle *in vitro*: Cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) humaines et de rats. Modèle *in vivo*: Rats. Approches: Immunobuvardages, essais kinases *in vitro*, essais de synthèses protéiques suivant une stimulation à l'Ang II. Inhibition spécifique d'IKK β par le ML120B et diminution de l'expression de la kinase par des shARN

Résultats: Le traitement des CMLV avec l'Ang II induit une phosphorylation rapide et soutenue de TSC1 au niveau de son résidu sérine 511 (S511) parallèlement à l'activation des effecteurs de la voie mTORC1. De plus, nous démontrons que la S511 de TSC1 agit en tant que site de phosphorylation pour IKK β en réponse à l'Ang II. D'autre part, la diminution de l'expression d'IKK β réduit drastiquement la phosphorylation de TSC1, de S6K et de 4EBP1 ainsi que la synthèse protéique au niveau de CMLV stimulées à l'Ang II. Aussi, la surexpression d'un mutant de TSC1 dont la S511 a été modifiée par un résidu alanine et freine l'effet hypertrophique induit par l'Ang II. Finalement, le ML120B diminue de manière dose-dépendante la phosphorylation de TSC1 et des effecteurs de la voie mTORC1 induite par l'Ang II, avec pour conséquence l'inhibition de la synthèse protéique *in vitro* et *in vivo*.

Conclusion: Nos résultats démontrent que la kinase IKK β est impliquée dans les réponses inflammatoires et hypertrophiques provoquées par l'Ang II. Cette kinase est donc une cible thérapeutique potentielle pour le traitement des maladies cardiovasculaires.

MÉTABOLISME OSSEUX ET RIGIDITÉ ARTÉRIELLE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE: RÔLE DE LA SCLÉROSTINE

Gauthier-Bastien A, Ung R-V, Mac-Way F, Larivière R, Lebel M, Agharazii M
Axe endocrinologie et néphrologie, Centre de recherche du CHU de Québec, L'Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec, Québec

Introduction: En insuffisance rénale chronique (IRC), la calcification et la rigidité artérielle sont des facteurs de risques de maladies cardiovasculaires fréquents. La calcification vasculaire est un processus actif qui est intimement relié au métabolisme minéral osseux. La sclérostine, sécrétée par les ostéocytes, est une protéine inhibitrice de la formation osseuse par inhibition de la voie Wnt- β -caténine des ostéoblastes. L'objectif de cette étude est de déterminer l'association entre le métabolisme osseux, la sclérostine et la rigidité artérielle 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). Après 4 semaines, les paramètres hémodynamiques et la vitesse 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). La sclérostine plasmatique est déterminée par ÉLISA. La micro-architecture osseuse est évaluée par micro-CT et histomorphométrie osseuse. Les données sont analysées par test de Kruskal-Wallis, suivi de tests de Mann-Whitney U, et par corrélation de Spearman.

Résultats: Le traitement avec Ca/P/VitD induit une calcification de l'aorte chez les rats en IRC accompagnée d'une augmentation de la pression artérielle pulsée et de la VOP ($p < 0,01$). Ces animaux atteints de calcification vasculaire présentent aussi une augmentation de la concentration plasmatique de sclérostine ($p < 0,01$). Il y a une forte corrélation entre la concentration de sclérostine et la VOP ($r = 0,7013$, $p < 0,01$). Les analyses de la micro-architecture et l'histomorphométrie osseuse sont présentement en cours.

Conclusion: Les hauts taux de sclérostine, associés à la rigidité artérielle, suggèrent que l'inhibition de la formation osseuse est associée à la calcification vasculaire.

L'INVALIDITÉ GÉNÉTIQUE DE LA DUSP10 PRÉVIENT LE DÉVELOPPEMENT DE LA CARDIOMYOPATHIE DILATÉE CHEZ LES SOURIS DUSP1,4-KO

Giguère H, Auger-Messier M

Département de Médecine, Centre de Recherche Clinique Étienne-Le Bel, Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec

Introduction: La *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) p38 altère négativement la fonction cardiaque. Les *dual-specificity phosphatases* (DUSPs) déphosphorylant cette kinase (*i.e.* DUSP1, DUSP4 et DUSP10) sont susceptibles d'influencer la pathogenèse du myocarde. Nous avons démontré que l'inactivation génétique des DUSP1 et DUSP4 chez la souris (DUSP1,4-KO) mène au développement spontané d'une cardiomyopathie dilatée dépendante de la MAPK p38. Puisque la DUSP10 est aussi exprimée dans le coeur, nous avons voulu déterminer son rôle dans la pathogenèse du myocarde.

Méthodes: Nous avons généré les souris DUSP10-KO par recombinaison homologe et vérifié l'absence d'expression de la DUSP10 par RT-PCR et immunobuvardage. Nous avons évalué l'intégrité cardiaque des différents modèles de souris par échocardiographie et histologie. Nous avons mesuré la masse du myocarde par gravimétrie et les dimensions des cardiomyocytes isolés de souris adultes par microscopie. Nous avons déterminé le niveau de phosphorylation des MAPKs dans le myocarde par immunobuvardage.

Résultats: L'absence d'ARNm et de protéine DUSP10 dans le coeur de souris DUSP10-KO confirme l'expression basale de cette phosphatase dans le myocarde et l'efficacité de notre stratégie d'inactivation génétique. Aucune cardiomyopathie spontanée ne se manifeste chez les souris dépourvues de DUSP10 (*i.e.* DUSP10-KO, DUSP1,10-KO et DUSP4,10-KO). Contre toute attente, l'inactivation génétique simultanée des trois phosphatases chez les souris DUSP1,4,10-KO prévient même le développement spontané de la cardiomyopathie dilatée observée chez les souris DUSP1,4-KO. En fait, la fonction cardiaque, la masse du myocarde et les dimensions des cardiomyocytes isolés de souris DUSP1,4,10-KO adultes sont comparables à celles de souris de type sauvage. Le maintien de l'intégrité du myocarde en absence de DUSP10 coïncide avec la désensibilisation de la voie signalétique de la MAPK p38 observée chez les souris DUSP1,4,10-KO.

Conclusion: Nos résultats suggèrent que la DUSP10, contrairement aux DUSP1 et DUSP4, exacerbe la pathogenèse du myocarde.

LES OMÉGA-6 INHIBENT LA CARDIOPROTECTION CONFÉRÉE PAR UN MÉTABOLITE DES OMÉGA-3, LA RÉSOVINE D1

Gilbert K^{1,2}, Malick M^{1,2}, Mariani M^{1,2}, Rousseau G^{1,2}

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

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

Introduction: Les pays industrialisés consomment beaucoup plus d'acides gras oméga-6 que nos ancêtres. Cette surconsommation résulte en une diminution de l'effet bénéfique des acides gras oméga-3 sur le système cardiovasculaire. Il a été rapporté que les acides gras oméga-3 pouvaient être métabolisés en des molécules impliquées dans la phase de résolution de l'inflammation, comme la résolvine D1, et qui possèdent des effets cardioprotecteurs importants. Le but de cette étude est de démontrer si la résolvine D1 conserve son rôle cardioprotecteur en présence d'un acide gras oméga-6, l'acide linoléique.

Méthodes: Des rats mâles Sprague-Dawley reçoivent de la résolvine D1 seule ou avec 1.0, 5.0 ou 10.0 µg d'acide linoléique. Ils subissent ensuite une ischémie de 40 minutes induite par l'occlusion de l'artère coronaire gauche descendante, suivie d'une reperfusion de 30 minutes ou de 24 heures. La taille de l'infarctus est évaluée après 24 heures de reperfusion de même que l'accumulation des neutrophiles dans les régions ischémiques. L'activité des caspases, marqueurs de mort cellulaire, sera évaluée à 30 minutes de reperfusion dans le coeur ainsi qu'Akt, une kinase pro-survie, et de Nf-κB, un marqueur inflammatoire.

Résultats: En présence d'acide linoléique, la cardioprotection obtenue par la résolvine D1 est atténuée, résultant en des tailles d'infarctus significativement plus élevées. L'analyse des autres paramètres est en cours et devrait confirmer l'effet négatif de l'acide linoléique sur la résolvine D1.

Conclusion: En conclusion, des concentrations accrues d'acide linoléique préviennent l'effet cardioprotecteur observé avec la résolvine D1.

LA DÉFICIENCE EN MÉTALLOPROTÉASES MATRICIELLES 2 PRÉVIENT LES DOMMAGES VASCULAIRES INDUITS PAR L'ANGIOTENSINE II

Idris-Khodja N¹, Barhouni T¹, Mian MOR¹, Rehman A¹, 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: La métalloprotéase matricielle 2 (MMP2) est impliquée dans le remodelage vasculaire au cours de l'athérosclérose. Le rôle de MMP2 dans l'hypertension et les dommages vasculaires induits par l'angiotensine (Ang) II est inconnu. Nous avons émis l'hypothèse que de tels dommages vasculaires induits par l'Ang II seront réduits chez les souris déficientes en MMP2 (*Mmp2*^{-/-}).

Méthodes: Des souris mâles de 10-12 semaines sauvages (WT) et *Mmp2*^{-/-} ont été infusées avec de l'Ang II (1 µg/kg/min, s.c.) pendant 14 jours. La pression artérielle systolique (PAS) a été évaluée par télémétrie, la réactivité vasculaire des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée, l'activité de la NADPH oxydase avec la lucigénine et la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) avec le dihydroéthidium. Le contenu en molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1 (VCAM-1), en protéine chimioattractrice monocytaire-1 (MCP-1) ainsi que l'infiltration des monocytes/macrophages (MO/MA) dans l'aorte ont été déterminés par immunofluorescence. Le contenu splénique en cellules T et monocytes a été déterminé par cytométrie en flux.

Résultats: L'Ang II a augmenté de 50 mm Hg la PAS ($P<0.01$), a diminué de 70 % la réponse vasodilatatrice des AM à l'acétylcholine ($P<0.01$), a induit un remodelage hypertrophique des AM illustrées par une élévation de 1.5 du ratio média/lumière ($P<0.01$) et de 1.3 fois la surface transverse de la média ($P<0.05$), associé à un durcissement vasculaire ($P<0.01$) indiqué par un déplacement vers la gauche des courbes de déformation-contrainte dans les WT. L'Ang II a augmenté l'activité NADPH oxydase de 1.4 fois dans l'aorte ($P<0.05$) et de ≥ 2 fois dans le cœur et le cortex rénal ($P<0.01$) et la formation des ROS de 25 fois ($P<0.01$) dans l'aorte des WT. L'Ang II a augmenté l'expression de VCAM-1 et MCP-1 de 3 et 6 fois, respectivement, et l'infiltration de MO/MA de 8 fois dans l'aorte des WT ($P<0.05$). L'Ang II a accru de 1.8 fois le % de cellules T activées CD4⁺CD69⁺ et CD8⁺CD69⁺ et des monocytes pro-inflammatoires Ly-6C^{hi} ($P<0.001$) dans la rate des WT. La déficience en *Mmp2* a amélioré toutes les complications liées à l'Ang II citées ci-dessus à l'exception de l'élévation de PAS ($P<0.05$).

Conclusion: MMP2 joue un rôle dans les dommages vasculaires induits par l'Ang II sans affecter l'élévation de la pression artérielle.

UTILISATION DE RATS CONGÉNIQUES POUR CARTOGRAPHIER LES RÉGIONS DU CHROMOSOME 2 LIÉES À L'INFLAMMATION VASCULAIRE

Idris-Khodja N¹, Rehman A¹, Mian MOR¹, Barhouni T¹, Yamamoto N¹, Kwitek AE³, 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

³Department 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 lymphocytes T régulateurs (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 et congéniques (SB)A, SBB et SBE de 12-13 semaines ont été étudiés. La tension artérielle (TA) a été mesurée par télémétrie. Le contenu en fibronectine, collagène, molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1 (VCAM-1) et protéine chimioattractrice monocytaire-1 (MCP-1) et l'infiltration de cellules CD3⁺ ont été déterminés dans l'aorte par immunofluorescence. La production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) a été mesurée dans l'aorte à l'aide du dihydroéthidium.

Résultats: Les rats SS, SB2 et SBE présentaient une TA systolique plus élevée de 20 mm Hg comparés aux rats BN ($P<0.05$). Le collagène aortique était 3 fois plus élevé chez les rats SS et 1.7 fois chez les rats SB2 et SBB ($P<0.05$) comparé aux rats BN. L'expression de la fibronectine était ~ 1.5 fois plus grande chez les rats SS et SBE ($P<0.05$) comparé aux rats BN. La production de ROS était ≥ 2 fois plus élevée dans l'aorte des rats SS et dans le gras périaortique des rats SS et SBB comparé aux BN ($P<0.05$). L'expression aortique de VCAM-1 et MCP-1 était 1.7 et ≥ 2.5 fois plus importantes respectivement chez les rats SS et SBB comparé aux rats BN ($P<0.05$). L'infiltration de cellules CD3⁺ dans le gras périaortique était 5 et 2 fois plus élevée chez les rats SS et SBE respectivement comparés aux rats BN ($P<0.05$). La plupart des changements observés dans les rats SS sont réduits ou non observés dans les rats SB2 ainsi que les rats SBE et/ou SBA.

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

EFFETS D'UNE EXPOSITION NÉONATALE À UN TAUX ÉLEVÉ D'OXYGÈNE (O₂) SUR LA RÉGULATION DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE CHEZ LE MÂLE ADULTE

Lukaszewski M-A, Sutherland MR, Bertagnolli M, Yin A, Cloutier A, Nuyt AM
Centre de recherche du CHU S¹^e-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les enfants et jeunes adultes nés prématurément ont une pression artérielle élevée et un risque plus important de résistance à l'insuline, qui sont des caractéristiques du syndrome métabolique (SM). Les prématurés affrontent un environnement relativement riche en O₂ (par rapport au milieu intra-utérin) à l'origine d'un stress oxydatif (SO). Or, de nombreuses études mettent en lien le SO et des altérations métaboliques.

Méthodes: Des rats Sprague-Dawley et leur mère sont exposés à 80 % d'O₂ (groupe hyperoxié H) *versus* air ambiant (contrôles C), n=16 par groupe, 2 animaux par portée=8 portées) entre le 3^{ème} et le 10^{ème} jour de vie (P3-P10). L'étude porte sur les mâles de 4 mois. La prise de poids et alimentaire hebdomadaires sont suivies jusqu'au sacrifice. Des hyperglycémies orales provoquées sont menées à 4 mois, à 8h et 20h.

Résultats: Les rats H ont une prise alimentaire par gramme d'animal ainsi qu'un poids plus importants que les C (ANOVA 2 way respectivement $p < 0,05$ et $p < 0,001$). Le poids absolu du foie, du cœur et des dépôts adipeux épидидymaux et périrénaux sont plus élevés chez le groupe H (augmentation respective de 14%; 16%; 14%; 17%). Cette différence reste probante lorsqu'elle est rapportée à la taille du fémur (augmentation respective de 16,70%; 20%; 17%; 30%). À 4 mois, nous n'avons pas observé de différence de la réponse glycémique ni de la concentration d'insuline à 8h, entre les groupes C et H. À 20h, ils présentent une intolérance au glucose comparée aux C (ANOVA 2 way $p < 0,05$) sans perturbation de l'insulinémie, associée à une augmentation de l'HOMA-IR de 43% (moyenne \pm SEM : Nni 1.99 ± 0.43 vs H 2.85 ± 0.77).

Conclusion: Cette étude montre que l'exposition néonatale à l'O₂ induit des altérations du métabolisme lipidique et glucidique chez l'adulte, avec tout particulièrement une sensibilité jour/nuite à l'insuline perturbée. Ces changements métaboliques pourraient contribuer au maintien, voire à l'augmentation, de l'hypertension observée dans ce modèle.

LA DESVENLAFAXINE RÉDUIT LES COMPORTEMENTS DE 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

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 comportements 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 de la sérotonine 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 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). 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, 4 mois après l'IM, l'apprentissage a été évalué par le test de la piscine de Morris et la mesure de l'activité de l'apoptose a été évaluée par spectrofluorimétrie.

Résultats: Les résultats des tests comportementaux nous indiquent que la Desv renverse les comportements 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 en plus de diminuer l'apoptose dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe.

Conclusion: Ces résultats indiquent que la Desv est efficace à réduire les comportements 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 FOXP3⁺ ANTAGONISENT L'EFFET DE L'ANGIOTENSINE II SUR LE REMODELAGE VASCULAIRE

Mian MOR¹, Barhoumi T¹, Briet M¹, Ene AC¹, Rehman A¹, 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: Les cellules T participent dans le dommage vasculaire associé à 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 soit avec le véhicule ou 10⁷ cellules T sauvages ou Scurfy (n=3-8), et 2 semaines plus tard, ont été infusées ou non avec l'Ang II (490 ng/kg/min, s.c.) pendant 2 semaines. La pression artérielle, la fonction endothéliale, la structure des artères mésentériques (AM) de second ordre, la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et le contenu aortique en fibronectine et en collagène ont été déterminés.

Résultats: L'Ang II a accru la pression artérielle diastolique de ~20 mm Hg avec l'injection des deux types de cellules (*P*<0.01), mais pas avec le véhicule. L'Ang II a réduit de 29% et 40% la relaxation maximale à l'acétylcholine des AM après l'injection de cellules T sauvages et Scurfy, respectivement (*P*<0.05). L'Ang II a induit un remodelage hypertrophique des AM avec l'injection du véhicule et de cellules T Scurfy (le ratio média/lumière et la surface transverse de la média étant accrus de 50%, *P*<0.05) mais pas avec des cellules T sauvages. L'Ang II a causé un déplacement vers la gauche des courbes de *stress-strain* des AM avec l'injection du véhicule et de cellules T Scurfy (*P*<0.01) mais pas des cellules sauvages. La production de DRO augmentée par l'Ang II était 30% plus élevée avec l'injection de cellules T Scurfy que cellules sauvage (*P*<0.05). Le contenu en fibronectine aortique était 40% plus élevé avec l'injection du véhicule et de cellules T Scurfy que sauvages (*P*<0.01). Le contenu en collagène aortique était 3 fois plus élevé avec l'injection du véhicule et de cellules T Scurfy que des cellules sauvages (*P*<0.01).

Conclusion: Les cellules T régulatrices Foxp3⁺ protègent les artères du remodelage induit par l'Ang II.

EFFETS MÉTABOLIQUES ET CARDIOPROTECTEURS DU PEPTIDE NATRIURÉTIQUE DE TYPE B DANS LE DIABÈTE

Plante E, Menaouar A, Danalache BA, Jankowski M, Gutkowska J

Département de médecine, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Québec

Introduction: L'obésité et le diabète sont associés à une déficience en peptide natriurétique de type B (BNP) et un risque accru de développer une insuffisance cardiaque. Nous avons émis l'hypothèse qu'en ces conditions, l'ajout exogène de BNP peut induire des bénéfices métaboliques en plus d'une cardioprotection.

Méthodes: Des souris *db/db* (obèses et diabétiques) et leurs contrôles *db/+* (maigres et non-diabétiques) ont été traitées avec du BNP (0.6 µg/kg/h) ou un véhicule salin (veh) pendant 12 semaines. Les effets du BNP sur l'obésité et le diabète, ainsi que sur la structure et la fonction cardiaque ont été analysés.

Résultats: Chez les *db/db*, le BNP a réduit la résistance à l'insuline (indice HOMA) de 47% (*p*<0.01 vs *db/db-veh*) et diminué la glycémie à jeûn de 20% (*p*<0.05 vs *db/db-veh*). Le BNP a diminué la masse adipeuse de 23% chez les *db/+* (*p*<0.05 vs *db/+ -veh*) et de 25% chez les *db/db* (*p*<0.01 vs *db/db-veh*). En fin de protocole, seules les *db/db-veh* présentaient des paramètres échocardiographiques de dysfonction cardiaque accompagnés d'apoptose cellulaire et de fibrose myocardique, le BNP ayant inhibé ces changements. Ainsi, comparativement aux *db/db-veh*, les *db/db-BNP* avaient une fraction d'éjection plus élevée de 8% (*p*<0.01) ainsi qu'une amplitude et un temps décélération de l'onde E plus basse respectivement de 16% (*p*<0.05) et de 13% (*p*<0.05) i.e. une fonction systolique et diastolique normales, une apoptose cellulaire diminuée de 65% (*p*<0.001) et une fibrose myocardique diminuée de 76% (*p*<0.001).

Conclusion: Le BNP a un potentiel thérapeutique pour traiter les conséquences du syndrome métabolique. En plus de diminuer la résistance à l'insuline, l'intolérance au glucose et la masse adipeuse, un traitement exogène de BNP protège le cœur contre les changements morphologiques et la dysfonction cardiaque.

LA CONTRAINTE DE CISAILLEMENT PROVOQUE LA RÉGRESSION DES PLAQUES D'ATHÉROSCLÉROSE: RÔLE DES MÉTALLOPROTÉINASES

Simeone S, Ebrahimian T, Michaud V, Lehoux S
Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: Les plaques d'athérosclérose se forment dans des régions de faible débit sanguin, tandis que les vaisseaux exposés à une contrainte de cisaillement (CC) élevée ne développent aucune lésion. Nous proposons que l'exposition des plaques d'athérosclérose déjà développées à une CC élevée conduit à la régression des lésions en facilitant le mouvement des cellules inflammatoires dans la plaque.

Méthodes: Nous avons développé un modèle de fistule artério-veineuse (FAV) chez la souris, où l'artère carotide droite est anastomosée à la veine jugulaire. Les souris LDLR^{-/-} ont été placées sous un régime riche en gras. Les souris témoins ont été sacrifiées à la semaine 12, au moment où les sham et FAV ont subi la chirurgie. Les souris sham et FAV ont été maintenues sous un régime riche en gras 4 semaines de plus.

Résultats: Chez les animaux témoin et sham, une plaque de taille importante se forme au niveau de l'artère brachio-céphalique, en amont de la carotide droite. La FAV augmente la CC dans cette artère et entraîne une régression de la plaque de 51% en 4 semaines, malgré une lipidémie comparable entre les groupes. Le contenu en macrophages, cellules musculaires lisses et collagène au niveau des plaques est également diminué de moitié chez les FAV. Toutefois, l'activité gélatinase est augmentée, suggérant l'implication des métalloprotéinases (MMPs) dans la régression de la plaque. L'expression de MMP-9 et MMP-3 est effectivement augmentée dans les plaques FAV, alors que MMP-2 et MMP-14 sont diminuées. Chez des souris traitées avec différents inhibiteurs des MMPs (doxycycline ou des plasmides surexprimant Timp-1 ou Timp-3), la réduction des plaques observée chez les FAV est abolie. Afin de définir le mécanisme impliqué dans la régression des plaques, nous avons utilisé un système de co-culture où des macrophages sont exposés au surnageant de cellules endothéliales (CE) cultivées à une CC élevée ou faible. Nous observons une augmentation significative (2,5 fois) de la migration des macrophages cultivés avec des CE sous CC élevée. Ceci est associé à une augmentation (3 fois) de l'activité de l'intégrine β 2. Un inhibiteur des MMP, GM6001, prévient l'augmentation de la migration.

Conclusion: Nos résultats suggèrent que la CC agissant sur les CE peut réguler la fonction des cellules de la plaque en augmentant l'activité des MMPs, entraînant ainsi une meilleure mobilité des macrophages. Ceci serait un élément important permettant la régression des plaques.

NAISSANCE PRÉMATURÉE: TAILLE ET FONCTION RÉNALES CHEZ LE JEUNE ADULTE

Sutherland MR, Fallaha C, Lapeyraque A-L, Huyard F, Bertagnolli M, Cloutier A, Luu TM, Nuyt AM
Centre de recherche du CHU Ste-Justine, Montréal, Québec
Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les grands prématurés, nés avant 29 semaines de gestation (terme: 37 semaines complètes), naissent à un stade actif de la néphrogénèse, ce qui compromet la poursuite du développement normal de leurs reins. Le but de cette étude est de déterminer l'impact à long terme d'une naissance prématurée sur les reins du jeune adulte.

Méthodes: De jeunes adultes, nés entre 1987 et 1993, à <29 semaines de gestation (hommes n=9, femmes n=11) (Montréal, Québec), furent comparés à un groupe de jeunes adultes du même âge nés à terme (hommes n=7, femmes n=11). Les niveaux de créatinine et d'albumine furent mesurés dans l'urine et le sang (matin); le taux de filtration glomérulaire (GFR) fut déterminé à l'aide de la formule MDRD. Les dimensions du rein ainsi que l'index de résistance (IR) des artères rénales furent déterminés par échographie.

Résultats: Les jeunes adultes nés prématurément présentent un GFR significativement plus élevé par rapport au groupe né à terme, particulièrement les femmes (hommes: contrôles: 93.8 ± 8.4 , prématurés: 104.8 ± 5.3 ml/min/1.73m²; femmes: contrôles 107.5 ± 4.8 , prématurés 140.3 ± 12.2 ml/min/1.73m²). Nous n'avons pas observé de différence significative du ratio albumine créatinine, entre les groupes (contrôles: 0.70 ± 0.07 mg/mmol; prématurés: 0.67 ± 0.09 mg/mmol). Chez les prématurés les volumes des reins droits (hommes: contrôles 172.8 ± 18.1 , prématurés 140.3 ± 5.0 ml; femmes: contrôles 145.7 ± 9.5 , prématurés 115.0 ± 8.3 ml) et gauches sont réduits significativement. L'IR des artères rénales n'est pas différent entre les groupes.

Conclusion: Chez les jeunes adultes, la taille des reins (réduction significative) et la fonction (possible hyperfiltration), sont affectées par la grande prématurité. À long terme, ces changements pourraient prédisposer à des maladies ou dysfonctions rénales.

LE LIEN ENTRE LE RÉCEPTEUR À LA PRORÉNINGINE/ RÉNINGINE ET L'OBÉSITÉ ET LA RÉSISTANCE À L'INSULINE: DE LA SOURIS À L'HOMME

Tan P, Shamansurova Z, Michel C, Kajla S, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R, Nguyen TMD, Schiller PW, Gutkowska J, Lavoie JL
Unité cardiométabolique, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Québec

Introduction: Dans le contexte de l'obésité, la régulation du récepteur à la prorénine/rénine [(P)RR] dans le tissu adipeux est peu connue. L'objectif était d'élucider la régulation du (P)RR dans le tissu adipeux humain et de souris.

Méthodes: Les patientes non diabétiques ménopausées ont été classées en obèse résistante à l'insuline (IRO) ou sensible à l'insuline (ISO) par clamp euglycémique hyperinsulinémique. Les tissus adipeux sous-cutanés (GSC) ont été collectés par biopsie. Les souris ont été sur une diète normale ou riche en gras et en carbohydrate (HF/HC) pour 10 semaines et les souris mâles ont été traitées simultanément avec du salin ou le bloqueur du (P)RR [(P)RRB]. Les souris ont été sacrifiées et le sang, le gras péri-gonadal (GPG), le gras péri-rénal (GPR), le GSC ont été collectés à la fin du traitement.

Résultats: L'ARNm du (P)RR dans le GSC était plus élevé de 33% chez les patientes IRO comparé aux ISO. Chez les souris femelles obèses, la protéine du (P)RR était augmentée de 38% dans le GPG. Pour les souris mâles obèses, le (P)RR se trouvait augmenté de 45% et 114% dans le GPR et GSC respectivement. L'insuline et le glucose circulants ont augmenté de 3.5 et 1.4 fois respectivement avec la diète HF/HC et le (P)RRB a réduit l'insulinémie de 34%. Le ratio glucose sur insuline (G/I) était diminué de 55% chez les mâles obèses et a été amélioré de 54% avec le (P)RRB. Le gain de poids a été réduit de 20% avec le (P)RRB dans le groupe HF/HC.

Conclusion: L'augmentation du (P)RR chez les IRO et l'amélioration du ratio G/I chez les souris obèses avec le (P)RRB suggèrent fortement que le (P)RR pourrait être impliqué dans la régulation de l'homéostasie du glucose par l'obésité. L'hétérogénéité de la sensibilité à l'insuline dans les cohortes humaines précédentes pourrait expliquer l'absence de corrélation observée entre le (P)RR et l'obésité. Une plus grande expression du (P)RR dans le tissu adipeux viscéral chez les souris femelles corrèle avec les données reportées précédemment sur les femmes obèses suggérant que la souris reflète les modulations du (P)RR chez l'humain.

MODULATION DE LA SIGNALISATION CALCIQUE ENDOTHÉLIALE PAR CaMKII

Toussaint F, Charbel C, Blanchette A, Ledoux J
Centre de Recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec

Introduction: Les cellules endothéliales jouent un rôle prépondérant dans la régulation du tonus vasculaire, ce qui fait d'elles un joueur important dans le contrôle de la pression artérielle. Les mécanismes impliqués dépendent du calcium (Ca^{2+}) intracellulaire. Les pulsars calciques font partie des nouvelles signalisations calciques locales identifiées dans l'endothélium natif et semblent avoir un impact significatif sur la fonction endothéliale. En effet, les pulsars résultent d'une libération spontanée et oscillatoire de Ca^{2+} par les récepteurs à l' IP_3 (IP_3Rs) localisés dans les jonctions myoendothéliales (JME). CaMKII est une kinase dépendante du Ca^{2+} caractérisée par sa capacité à décoder les oscillations calciques. Nous avons récemment démontré l'activation de CaMKII par les pulsars et l'altération de cette relation en hypertension. D'autre part, CaMKII a été identifié comme étant un modulateur des dynamiques calciques dans d'autres types cellulaires. Nous émettons donc l'hypothèse que CaMKII module les pulsars calciques dans l'endothélium.

Méthodes: Des artères mésentériques de 3^e et 4^e ordre de souris sont prélevés et ouvertes de façon à exposer les cellules endothéliales. Des approches par imagerie confocale à haute vitesse (imagerie calcique) et d'immunofluorescence ont été utilisées.

Résultats: L'exposition de l'endothélium à un inhibiteur de CaMKII (KN-93) a généré un recrutement de nouveaux sites actifs de pulsars. Par ailleurs, une préincubation avec le KN-93 a diminué significativement le contenu en Ca^{2+} du réticulum endoplasmique (RE) (62%). Une diminution semblable (55%) est observée par l'inhibition conjointe de CaMKII et SERCA (thapsigargin). Par contre, l'inhibition des IP_3Rs (2APB) n'a induit aucune altération du contenu en Ca^{2+} du RE en présence de KN-93. L'immunofluorescence *in situ* révèle une distribution graduée des isoformes des IP_3R dans la JME ($IP_3R2 > IP_3R1 > IP_3R3$). Par hybridation *in situ* PLA, une proximité (<40nm) est observé entre CaMKII et les IP_3Rs .

Conclusion: Ces résultats suggèrent que CaMKII inhibe les pulsars calciques via les $IP_3R1/2$, démontrant ainsi le rôle de CaMKII dans la modulation des dynamiques calciques endothéliales.

LES EFFETS DE L'OCYTOCINE SUR LE RÔLE PATHOLOGIQUE DU COMPLEXE RAGE DANS LES COMPLICATIONS CARDIO-VASCULAIRES DU DIABÈTE DE TYPE 1 ET 2

Yip D, Plante E, Danalache BA, Jankowski M, Gutkowska J
Département de médecine expérimentale, Université McGill, Montréal, Québec

Introduction: Les maladies cardio-vasculaires (MCV) et le diabète sucré (DS) sont les deux principales causes de décès au Canada, et les MCV sont une cause majeure de mortalité dans la population diabétique. Un changement biochimique typique du DS est la formation de produits de glycation avancée (AGE). La liaison AGE avec son récepteur RAGE est impliquée dans l'initiation et la perpétuation d'une réponse pathologique pro-inflammatoire, dont le NF- κ B, qui mène au développement de l'athérosclérose et de la cardiomyopathie. L'état hyperglycémique retrouvé chez les diabétiques peut endommager les tissus artériels et cardiaques par les interactions AGE-RAGE. L'ocytocine (OT), une hormone peptidique qui induit généralement la parturition, a aussi des effets cardio-protecteurs et anti-inflammatoires. L'activation des récepteurs couplés aux protéines G, comme le récepteur de l'OT, clive le RAGE et génère des RAGE solubles, ce qui présente un mécanisme par lequel la réponse inflammatoire peut être atténuée.

Méthodes: Des expériences ont été réalisées sur des modèles animaux du DS de type 1 et 2, et *in vitro* sur des cellules myoblastes d'embryons de rat (H9c2). Des rats Wistar de 4 semaines sont traités à la streptozotocine (STZ) pour induire le DS de type 1, puis à l'OT (125 ng/kg/h) pendant 6 semaines. De façon similaire, des souris db/db de 4 semaines, un modèle du DS de type 2 dont le récepteur de la leptine est déficient, sont traitées à l'OT (125 ng/kg/h) pendant 12 semaines. Les colorations à l'acide périodique-Schiff (PAS) et au rouge de picrosirius ont été effectuées sur différents organes venant des groupes témoin, diabétique et traité à l'OT. Les *Western blots* ont été faits à l'aide des anticorps anti-NF- κ B et anti-RAGE.

Résultats: Dans les deux modèles du DS, le traitement à l'OT diminue la glycémie et la coloration PAS montre une diminution de dépôts de glycogène à l'aorte, au cœur et aux reins. Chez les rats traités à la STZ et à l'OT, le rouge de picrosirius indique une baisse de la quantité de collagène et de RAGE au cœur. La stimulation des cellules H9c2 avec AGE augmente le niveau de marquage de NF- κ B, alors que l'OT a tendance à inhiber cet effet.

Conclusion: Le traitement à l'OT permet de réduire la glycémie et la résistance à l'insuline, et de diminuer les dommages liés au DS à l'aorte, au cœur et aux reins. L'OT présente un traitement thérapeutique novateur ayant des effets prometteurs sur le DS.