

## RÔLE DE LA CALMODULINE ET LA CAMKINASE II DANS L'ACTIVATION DE ERK1/2 ET PKB INDUITE PAR L'ET-1 ET L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> DANS LES CELLULES DU MLV

Bouallegue A, Pandey NR, Srivastava AK.

Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal et le Département de médecine, Université de Montréal.

**Objectif :** Nous avons démontré auparavant que l'activation de ERK1/2 (*Extracellular signal-regulated kinases* 1 et 2) et de la protéine kinase B (PKB), deux éléments clés dans les phénomènes de la croissance et de la prolifération, induite par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est médiée par le calcium et la calmoduline (CaM). L'endothéline-1 (ET-1), un peptide vasoactif impliqué dans plusieurs états pathophysiologiques vasculaires, engendre la formation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour médier ses réponses physiologiques. Dans ces travaux, nous avons examiné si l'ET-1 phosphoryle ERK1/2 et PKB de la même manière que le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, c'est-à-dire via la calmoduline et la CaMKinase II (CaMKII).

**Méthode :** Cette hypothèse a été testée par l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques de la CaM et de la CaMKII dans des cultures cellulaires du muscle lisse vasculaire. La quantification des protéines (Bradford) et la technique du western blot ont été utilisées dans ces travaux.

**Résultats :** La Fluphenazine, un antagoniste de la CaM, inhibe la phosphorylation de ERK1/2 et PKB induite par l'ET-1 et le KN-93, un inhibiteur spécifique de la CaMKII, a réussi à atténuer, d'une manière dose-dépendante, la phosphorylation de ERK1/2 et PKB induite non seulement par l'ET-1 mais aussi par le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En parallèle, le KN-92, un analogue inactif était sans effet. On a montré aussi que l'ET-1 était capable de phosphoryler la CaMKII au niveau de Thr-286, une phosphorylation cruciale pour l'activation catalytique.

**Conclusion :** Ces résultats démontrent que l'activation de la CaM et de la CaMKII jouent un rôle important dans la phosphorylation de ERK 1/2 et PKB induite par l'ET-1 au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire.

## L'ENZYME 11 $\beta$ -HYDROXYSTÉROÏDE DÉSHYDROGÉNASE TYPE 2 RÉNALE ET CARDIAQUE AU COURS DE LA GROSSESSE

Barrette M, Houde V, St-Louis J, Brochu M.

Centre de recherche, CHU Ste-Justine, Université de Montréal.

**Objectif :** La grossesse normale est associée à des augmentations de l'aldostérone et du volume circulant ainsi qu'à une rétention sodique. Cela est paradoxalement accompagné d'une diminution de la pression artérielle. Dans la prééclampsie, pathologie de la grossesse caractérisée par une hypertension, l'élévation de l'aldostérone est moindre de 50 à 100% par rapport à la grossesse normale. Ceci contribue à entretenir une confusion face au rôle de ce minéralocorticoïde lors de la grossesse normale et pathologique. L'aldostérone exerce ses effets via les récepteurs des minéralocorticoïdes (MR). La corticostérone, le glucocorticoïde principal chez le rat, lie les MR avec une affinité égale à celle de l'aldostérone, mais est présente à des concentrations plasmatiques beaucoup plus élevées (ratio normal 100:1). Dans les tissus épithéliaux comme le rein, les glucocorticoïdes et l'aldostérone agissent comme des agonistes du MR alors que dans les tissus non-épithéliaux comme le cœur, les glucocorticoïdes agissent comme antagonistes. La régulation des niveaux tissulaires de la corticostérone est fortement modulée par la 11 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase type 2 (11 $\beta$ -HSD2) qui la convertit en son métabolite inactif. Nous proposons que l'expression protéique de cette enzyme soit diminuée dans le rein et le cœur lors de la grossesse ce qui favoriserait la production de la forme active des glucocorticoïdes, résultant en une activation accrue des MR dans le rein et une inactivation dans le cœur.

**Méthodes :** L'expression protéique de la 11 $\beta$ -HSD2 a été déterminée par immunobuvardage de type Western dans des cortex et médullaires rénaux ainsi que dans le ventricule gauche cardiaque provenant de rates Sprague-Dawley gestantes ou non.

**Résultats :** Aucune différence significative de la quantité de 11 $\beta$ -HSD2 retrouvée dans les tissus ciblés n'est observée entre le groupe de rates gestantes et celui de rates non gestantes.

**Conclusion :** À la lumière de ces résultats, la 11 $\beta$ -HSD2 ne semble pas responsable d'une modulation de l'activité du MR durant la gestation. Toutefois, des mesures de l'activité enzymatique doivent être faites pour le confirmer.

## ÉTUDE DE STRUCTURE-ACTIVITÉ DE NOUVEAUX AGONISTES DES RÉCEPTEURS B<sub>2</sub> DES KININES

Bélanger S, Neugebauer W, Savard M, D'Orléans-Juste P, Gobeil F jr.

Département de pharmacologie, Université de Sherbrooke.

**Objectif :** Le récepteur B<sub>2</sub> (rB<sub>2</sub>) des kinines est une entité protéique constitutive qui appartient à la grande classe des récepteurs heptahélicoïdaux. Ce dernier est activé par la bradykinine (BK). Des preuves expérimentales militent en faveur d'une participation bénéfique des rB<sub>2</sub> en conditions pathologiques (ex. : hypertension) notamment dans les mécanismes de défense associés à la cardioprotection. Les actions salutaires de la BK sont attribuables en partie à sa capacité de favoriser la production de NO et de PGI<sub>2</sub>, deux agents hypotenseurs, cytoprotecteurs et angiogéniques qui préservent l'oxygénation et les fonctions de divers organes. La BK est cependant soumise à une protéolyse rapide par les enzymes tissulaires/sanguines, ce qui limite son potentiel thérapeutique. L'objectif a été d'élaborer des agonistes synthétiques stables et de haute affinité comme outil pharmacologique et à visée thérapeutique.

**Méthodes :** Des composés peptidiques, conçus sur la base de la séquence en acides aminés de la BK, ont été synthétisés par la méthode de synthèse en phase solide. L'affinité et la sélectivité de ces ligands ont été mesurées par liaisons compétitives chez les cellules HEK-293T exprimant soit le rB<sub>1</sub> soit le rB<sub>2</sub> humain recombinant. Les activités biologiques ont été évaluées par la mesure de la tension isométrique sur des vaisseaux d'origine humaine. Les effets hypotenseurs des meilleurs prospects ont été évalués sur le rat anesthésié.

**Résultats :** L'addition d'acides aminés synthétiques en P0 ↓ l'activité/affinité des agonistes versus la BK. La modification de la proline en P3 par une hydroxyproline ↑ l'activité/affinité des composés par rapport à la BK. Le remplacement de la phénylalanine en P5 et P8, par le Thi et le Cha respectivement, n'affecte en rien l'activité/affinité des agonistes mais ↑ leur résistance métabolique. Les composés numéro 10, 17, 19 et 20 ont montré une puissance supérieure *in vivo* en comparaison à l'agoniste de référence (BK). Ces données sont en parfait accord avec leurs grandes bioactivités/affinités démontrées *in vitro*.

**Conclusion :** Cette étude de relation structure-activité de ligands du récepteur B<sub>2</sub> a permis d'élaborer des agonistes peptidiques résistants à la dégradation enzymatique et ayant de bonnes activités/affinités pour les récepteurs B<sub>2</sub> humains.

## IMPLICATION DES PRODUITS AVANCÉS DE GLYCATION DANS L'ÉLASTOCALCINOSE ASSOCIÉE AU DIABÈTE

Bouvet C, Moreau S, Moreau P.

Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

Les patients diabétiques présentent une accélération de la calcification artérielle médiale (élastocalcinoase), surtout visible au niveau des artères fémorales. Cette calcification entraîne une augmentation de la rigidité vasculaire et contribue au développement d'une hypertension. La durée et la sévérité du diabète sont associées à cette accélération et à une accumulation de produits avancés de glycation (AGEs). Nous avons donc supposé que les AGEs jouaient un rôle crucial dans le développement de l'élastocalcinoase, dans un contexte de diabète et que les récepteurs aux AGEs (RAGE) étaient impliqués dans ce processus.

**Méthodes :** Des rats Wistar mâles ont reçu une diète riche en lipides durant 2 mois, suivis d'une faible dose de streptozotocine (STZ, 30 mg/kg) afin d'induire un diabète (D). L'élastocalcinoase a été produite grâce à un traitement de warfarine et de vitamine K (WVK) pendant 3 et 7 semaines, en présence ou non de diabète (WVK3 ou 7 et DWVK3 ou 7). La pyridoxamine a été administrée après injection de streptozotocine chez certains rats (DWVK3+pyr). D'autres rats ont reçu de l'ALT711, un bloqueur des AGEs, 3 semaines après le début du traitement WVK et ce pendant 4 semaines (DWVK7+ALT). *Ex vivo*, des artères fémorales de rats témoins et de rats diabétiques (diabète induit par 60 mg/kg de STZ) ont été incubées dans un milieu normal (MN) ou dans un milieu calcifiant (MC), en présence de N-méthylpyridinium, un agoniste de RAGE. **Résultats :** *In vivo*, dans les artères fémorales, une accumulation progressive de AGEs (DWVK3 : 2.9 ± 1.0, DWVK7 : 6.7 ± 2.2 UA/mg collagène) et de calcium (DWVK3 : 2.8 ± 0.9, DWVK7 : 10.5 ± 3.4 µg/mg tissu sec) a été observée. Ces dépôts ont été prévenus par la pyridoxamine (DWVK3+pyr : 1.5 ± 0.2 UA/mg collagène et 0.6 ± 0.1 µg/mg tissu sec) et limités par l'ALT711 (DWVK7+ALT : 1.3 ± 0.2 UA/mg collagène et 3.2 ± 0.7 µg/mg tissu sec). *Ex vivo*, le N-méthylpyridinium a induit une augmentation significative de la calcification induite par le MC uniquement dans un contexte de diabète. **Conclusion :** La calcification médiale, dans un modèle d'élastocalcinoase accélérée par le diabète, a été prévenue par la pyridoxamine et sa progression a été limitée par l'ALT711. En outre, la stimulation de RAGE a permis d'accroître cette calcification, *ex vivo*. Ces résultats suggèrent que, dans le diabète, l'élastocalcinoase dépend de la formation des AGEs et de leur interaction avec RAGE.

## CARACTÉRISTIQUES CINÉTIQUES D'UN OLIGOMÈRE FAIT D'UN COTRANSPORTEUR Na-K-Cl ET D'UN COTRANSPORTEUR Na-K-Cl

Carpentier GA, Simard CF, Bergeron MJ, Cotton-Frenette R, Pelchat ME, Caron L, Isenring P.

Groupe de recherche en néphrologie, Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec.

Les cotransporteurs cation-Cl (CCCs) sont des protéines de surface ubiquitaires qui existent sous plusieurs formes dont les cotransporteurs Na-K-Cl (NKCCs) et K-Cl (KCCs). Ils jouent un rôle clé dans le contrôle de la pression artérielle (PA) en modifiant le Cl intracellulaire (et la contractilité) des cellules musculaires ou la réabsorption rénale du NaCl. L'existence de maladies dont la manifestation principale est un désordre de la PA et la cause, un CCC dysfonctionnel, illustre bien ce rôle. Des études récentes ont montré que les CCCs peuvent s'associer entre eux pour former des hétérooligomères (HEs) ayant des capacités de transport qui diffèrent de celles des homo-oligomères (HOs). L'intérêt de ces résultats vient du fait que plusieurs cellules coexpriment plus d'un CCC et qu'elles pourraient être influencées variablement selon le ratio HE/HO s'y retrouvant.

**Objectifs :** Caractériser les HEs NKCC1-KCC4 plus en détail en comparant les paramètres cinétiques (affinité ionique et capacité de transport) de ces structures par rapport à celles des HOs NKCC1-KCC1 ou KCC4-KCC4; et ensuite déterminer si les cellules possèdent des mécanismes pour réguler le ratio HEs/HOs.

**Méthode :** Nous avons examiné les paramètres cinétiques dans le système d'expression de l'oocyte du xénope par des mesures d'influx en <sup>86</sup>Rb. L'affinité des ions et la capacité de transport ont été déterminées en mesurant la dépendance de l'influx sur la concentration de Na, Rb et Cl. Avant chacune des mesures, les oocytes ont été préincubés dans l'une ou l'autre des 3 solutions suivantes : physiologique, hypotonique et haute en Cl pour activer KCC4, hypertonique et basse en Cl pour activer NKCC1. **Résultats :** Dans des conditions qui activent KCC4 mais pas NKCC1, les affinités ioniques et la capacité de transport de KCC4 augmentent en présence de NKCC1, suggérant que les HEs NKCC1-KCC4 se comportent comme des structures fonctionnellement uniques dont les sous-unités travaillent en coopération. Il en va de même dans des conditions qui activent NKCC1 mais pas KCC4, c'est-à-dire les affinités ioniques et la capacité de transport de NKCC1 augmentent en présence de KCC4. Ainsi, les HEs analysés adopteraient non seulement des caractéristiques cinétiques uniques mais des comportements chimériques dans leurs réponses à des stimuli qui modulent l'activité des CCCs. **Conclusion :** Ces résultats apportent un regard nouveau sur le comportement fonctionnel des CCCs dans les cellules animales. La compréhension des mécanismes qui régissent la formation oligomérique des CCCs et qui, ainsi, contrôleraient le phénotype fonctionnel adopté par ces protéines, pourrait mener à l'identification de nouvelles stratégies visant à modifier le cotransport cation-Cl dans certaines cellules.

## LES PEPTIDES C-TERMINALEMENT ALLONGÉS D'OCYTOCINE DANS LE COEUR

Danalache BA, Gutkowska J, Wilke B, Jankowski M.  
Centre de recherche du CHUM, Hôtel-Dieu, Université de Montréal.

L'abondance de l'ocytocine (OT) dans les étapes précoces du développement cardiaque et sa capacité à générer des cardiomyocytes, à partir de cellules souches de souris embryonnaires et adultes, indique l'importance de l'OT dans la cardiomyogénèse. Les prohormones de l'OT sont séquentiellement fractionnées à partir de l'extrémité C-terminale du peptide OT-Glyc-Lys-Arg (OTGKR) en la forme amidée d'OT, biologiquement active. OT et OTGKR existent toutes les deux dans le cœur fetal. Néanmoins, il n'existe pas d'information sur le rôle physiologique d'OTGKR. **Objectif :** Nous avons étudié si OTGKR est impliqué dans la génération des cardiomyocytes. **Méthodes :** L'induction de la cardiomyogénèse a été étudiée dans les cellules P19 classiques et les cellules rapportrices P19Clone6, exprimant la protéine fluorescente verte (GFP) sous le contrôle transcriptionnel du promoteur MLC-2v de 250pb. La différenciation est initiée par la formation de corps embryonnaires en gouttes pendantes, incubées en présence d'OTGKR, d'OT (en concentration 10-6M) ou DMSO (0,5%) pendant 4 jours. Les cellules ont été cultivées dans des Pétris. Les cellules P19 ont été transfectées avec un vecteur exprimant spécifiquement OTGKR. L'encre d'OT et d'OTGKR au récepteur d'OT (OTR) a été étudié avec le logiciel Molegro Virtual Docker Software pour déterminer les points d'interactions hydrophobiques et électrostatiques possibles. **Résultats :** En réponse au traitement avec OT et OTGKR, les cellules P19 contractiles ont produit des aires cardiomyogéniques fluorescentes. La cardiomyogénèse induite par OT et OTGKR a été observée plus rapidement que celle produite par DMSO. L'analyse vidéo au jour 8 révèle une augmentation significative du nombre de colonies cellulaires de colonies cellulaires contractiles dans une aire de 1 cm<sup>2</sup> pour le traitement à l'OTGKR (9±1), comparativement à l'OT (5±1), et DMSO (5±2). Les cellules P19 transfectées avec le vecteur OTGKR relâchaient le peptide OTGKR dans le milieu et stimulaient la production de colonies contractiles. Cet effet était aboli par le traitement avec des siRNA spécifiques pour OTR. Les études d'encre indiquent qu'OTGKR peut se fixer à OTR, démontrant la spécificité de sa bioactivité. Cette étude a également démontré qu'il existait 5 positions d'encrages possibles pour OTGKR et OT sur le récepteur OTR. OTGKR est lié via Arg12 et Phe98 à OTR. L'affinité énergétique de liaison est estimée à -7,03946 (OTGKR) versus -10,0207 (OT) kJ/mol. **Conclusion :** Ces études révèlent pour la première fois la bioactivité d'OTGKR et démontrent son encrage théorique à OTR.

## LE SYSTÈME FONCTIONNEL ARGININE-VASOPRESSINE DANS LE COEUR PRÉCOCE EN MATURATION

Danalache BA, Miszkurka M, Wang D, Jankowski M, Gutkowska J.  
Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal – Hôtel-Dieu.

L'hormone neurohypophysaire 8-arginine-vasopressine (AVP) est impliquée dans diverses fonctions cardiaques, telles l'hypertrophie cellulaire et la différenciation des myocytes.

**Objectif :** Nous avons étudié s'il était possible que l'AVP local joue un rôle dans le développement cardiaque.

**Méthodes :** Des techniques de RIA spécifique à l'AVP, de RT-PCR et d'immunobuvardage mesurant les récepteurs pour l'AVP (VR) ont été utilisées pour étudier des échantillons de cœurs de rats nouveau-nés et adultes. Pour déterminer le rôle de l'AVP dans la différenciation et la spécialisation en cardiomyocytes de type ventriculaire, nous avons utilisé la lignée cellulaire embryonnaire GFP-PC19Cl6, qui exprime la protéine fluorescente verte (GFP) sous contrôle du promoteur de la chaîne légère de la myosine, MLC-2v.

**Résultats :** Les transcrits et les protéines VR1 étaient plus élevés dans les cœurs de rats adultes comparativement aux nouveau-nés. Au contraire, VR2 est augmenté à partir du jour 1 à 5 post-natal et est à peine perceptible dans le cœur du rat adulte. L'immunofluorescence a démontré que VR1 (~25%) et VR2 (~10%), dans le cœur des rats nouveau-nés, étaient marqués par le marqueur cardiaque Troponin-T. La fonctionnalité de VR2 a été démontrée par la stimulation avec cAMP en réponse à l'agoniste spécifique 1-desamino-8-D-AVP (DDAVP). La concentration intracellulaire de cAMP a été augmentée de 6,5 et 8,9 fois respectivement, suite au traitement de 24h avec DDAVP. L'AVP cardiaque est élevée chez les rats d'un jour (330±26 pg/mg protéine), de 5 jours (276±53 pg/mg protéine), mais bas (98±15 pg/mg protéine) chez les rats de 66 jours. Un immunomarquage pour l'AVP a dévoilé sa présence dans la tunique adventitia des artères coronaires, dans l'aorte et dans un grand nombre de vaisseaux capillaires du cœur. Le rôle possible de l'AVP dans la cardiomyogénèse a été révélé par la différenciation des cellules souches GFP-P19Cl6, en cellules contractiles exprimant GATA4, un marqueur cardiaque spécifique et MLC ventriculaire spécifique dans un schéma dépendant de DDAVP-AVP.

**Conclusion :** Ensemble, nos données soutiennent l'hypothèse du rôle du système AVP dans la maturation du cœur précoce.

## LE RÉCEPTEUR NK-3 INTRACÉRÉBRAL DES TACHYKININES CONTRIBUE À L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE VIA UN MÉCANISME DOPAMINERGIQUE

De Brito Pereira H, Couture R.  
Département de physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Le récepteur NK-3 des tachykinines (NK-3R) est présent dans la substance noire (SN) et l'aire tegmentale ventrale (VTA) où il exerce un contrôle sur la fonction cardiovasculaire via des neurones dopaminergiques. L'injection d'un agoniste du NK-3R dans les ventricules cérébraux (i.c.v.), la SN ou le VTA produit une élévation de la pression artérielle moyenne (PAM) chez le rat normotendu via la libération de vasopressine et l'activation du système nerveux sympathique. Dernièrement, nous avons rapporté que l'injection d'antagonistes du NK-3R par voie i.c.v. ou directement dans la SN réduit la PAM chez le rat spontanément hypertendu (SHR). **Objectifs :** a) déterminer la contribution du système dopaminergique dans les réponses cardiovasculaires à l'agoniste (senktide) et aux antagonistes (R-820, SB222200) NK-3R injectés i.c.v. ou dans le VTA chez le SHR; b) mesurer l'effet anti-hypertenseur des deux antagonistes dans un modèle d'hypertension induit par l'angiotensine II (200 ng/kg/min s.c. pendant 2 sem avec une pompe osmotique). **Méthode :** Une canule-guide était implantée dans le ventricule cérébral droit ou le VTA et un cathéter PE-10 était inséré dans l'aorte abdominale pour les injections de drogues et la mesure de la pression sanguine chez le rat vigile et non restreint SHR (16-18 sem) ou Wistar Kyoto (WKY) du même âge, infusé ou pas avec l'angiotensine II. **Résultats :** Senktide (10-100 pmol, i.c.v.) a causé un effet biphasique sur la PAM chez le WKY, mais des effets presseurs chez le SHR. SB222200 et R-820 (500 pmol) ont réduit la PAM (i.c.v. ou VTA) chez le SHR et le rat traité à l'angiotensine II mais pas chez le WKY normotendu. L'administration répétée de R-820 (500 pmol/jr i.c.v.) pendant 5 jours a causé une diminution soutenue de la PAM chez le SHR. L'antagoniste D2 (raclopride, 0,16 mg/kg, i.v.) a bloqué la réponse anti-hypertensive du R-820 et du SB 222200 (i.c.v. ou VTA) chez le SHR mais non pas l'antagoniste D1 de la dopamine (SCH23390, 0,2 mg/kg, i.v.). Toutefois, le SCH23390 a prévenu la réponse pressive du senktide chez le SHR. **Conclusion :** Les résultats suggèrent que le récepteur NK-3R intracérébral contribue au maintien de l'hypertension artérielle via un mécanisme dopaminergique. Il serait soumis à une activation tonique, possiblement par l'hyperproduction de tachykinines endogènes, dans l'hypertension artérielle d'origine génétique et expérimentale. Ainsi, les récepteurs NK-3 du cerveau peuvent représenter une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement de l'hypertension.

## RÔLE DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> DANS LA MODULATION DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE Gqα PAR L'HYPERGLYCÉMIE

Descorbeth M, Anand-Srivastava MB.  
Département de physiologie, Université de Montréal.

**Objectif :** Nous avons récemment démontré que les niveaux de l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), de l'expression de Gqα et de sa fonction sont augmentés dans les conditions hyperglycémiques au niveau des cellules de muscle lisse vasculaire A10. Cependant, le traitement avec un antioxydant atténue la hausse de Gqα ainsi que sa fonction induite par l'hyperglycémie. Ces résultats suggèrent que l'augmentation du stress oxydatif induite par l'hyperglycémie est un important facteur responsable de l'augmentation de la voie de signalisation de Gqα. Dès sa formation, l'O<sub>2</sub><sup>-</sup> est réduit en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le superoxyde dismutase (SOD). De plus, des études démontrent que l'hyperglycémie augmente l'expression d'ARNm de SOD. Dans cette présente étude, nous avons examiné l'implication de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'augmentation de Gqα ainsi que sur ces molécules associées induite par l'hyperglycémie au niveau des cellules A10. **Méthodes :** Les cellules A10 étaient mises en présence de 5,5 mM (contrôle) et de 26 mM (hyperglycémie) de glucose durant 3 jours en absence ou en présence de catalase (100 U/ml), un inhibiteur de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 37°C. Les niveaux d'expression des protéines ont été déterminés par immunobuvardage de type Western à l'aide d'anticorps spécifiques. **Résultats :** L'expression des protéines Gqα est augmentée de façon significative dans les cellules hyperglycémiques, comparativement aux cellules de contrôle après 3 jours de traitement. Cependant, le traitement avec la catalase atténue la hausse de Gqα induite par l'hyperglycémie. Puisqu'il a été démontré que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> transactive les récepteurs de facteur de croissance, nous avons examiné le rôle des récepteurs de facteur de croissance dans l'augmentation de Gqα induite par l'hyperglycémie en utilisant des inhibiteurs spécifiques tel que AG1024 pour le récepteur IGF et AG1295 pour le récepteur PDGF. Ces inhibiteurs diminuent l'augmentation de Gqα induite par l'hyperglycémie au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire A10. De plus, l'augmentation des niveaux de phosphorylation du récepteur PDGF induite par l'hyperglycémie retourne au niveau de contrôle en présence de la catalase. **Conclusion :** Ces résultats suggèrent que l'hyperglycémie augmente les niveaux de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ce qui peut être responsable de l'augmentation de Gqα et de ses molécules associées observé dans les conditions hyperglycémiques, et ce via la transactivation des récepteurs de facteur de croissance.

## LA PARTICIPATION DU RÉCEPTEUR B<sub>2</sub> DES KININES DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET L'ALLODYNIE DANS UN MODÈLE DE RÉSISTANCE À L'INSULINE

Dias JP, Lungu C, Couture R.  
Département de physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Le diabète cause des neuropathies sensorielles associées à la douleur et des complications cardiovasculaires.

**Objectif :** Définir la participation du récepteur B<sub>2</sub> des kinines dans l'hypertension artérielle et les neuropathies sensorielles chez des rats nourris au glucose pendant 12-14 semaines, un modèle de résistance à l'insuline.

**Méthodes :** Deux antagonistes du récepteur B<sub>2</sub> (LF16-0687 et Hoe140) ont été administrés aux rats glucoseux (10% dans l'eau à boire) par voie sous-cutanée. Les effets ont été mesurés sur la pression systolique (à l'aide d'un brassard autour de la queue) et l'allodynie tactile et au froid (mesure du seuil de la pression exercée (g) par des filaments von Frey à la surface plantaire d'une patte postérieure entraînant son retrait et mesure de la fréquence de retrait de la patte à l'application d'acétone, laquelle abaisse la température de la peau par évaporation).

**Résultats :** Les rats glucoseux ont développé une hyperglycémie, une hyperinsulinémie, une résistance à l'insuline (index HOMA), l'allodynie tactile et au froid ainsi qu'une augmentation de la pression systolique. L'antagoniste non-peptidique LF16-0687 (3 mg/kg), lequel a la capacité d'entrer dans le cerveau, a corrigé l'hypertension artérielle entre 4 et 48 h post-injection, tandis que l'antagoniste peptidique Hoe 140 (1 mg/kg), lequel ne pénètre pas dans le cerveau, n'a pas affecté la pression artérielle. Les deux antagonistes ont bloqué cependant les allodynies tactile et au froid à 3 h post-injection.

**Conclusion :** Ces données suggèrent que le récepteur B<sub>2</sub> des kinines, situé dans le système nerveux central, est une cible thérapeutique potentielle pour le traitement de l'hypertension artérielle chez le rat diabétique alors que ce récepteur, en périphérie, serait impliqué dans les neuropathies diabétiques.

## L'ATORVASTATINE INDUIT-ELLE L'APOPTOSE DES CELLULES DE MUSCLE LISSE VASCULAIRE IN VIVO ?

Doyon M, Hale TM, Wu R, de Champlain J, deBlois D.  
Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

**Objectif :** L'atorvastatine, un inhibiteur de la synthèse du cholestérol, offre des avantages thérapeutiques au-delà de la réduction des lipides sanguins. Plusieurs études effectuées *in vitro* ont démontré que l'atorvastatine peut induire l'apoptose des cellules de muscle lisse (CML) vasculaire, un effet proportionnel à la dose. Toutefois, cet effet reste à être démontré *in vivo*. Nos travaux récents montrent que l'induction transitoire de l'apoptose des CML contribue à la régression de l'hypertrophie aortique chez le rat spontanément hypertendu (SHR). Nous postulons que l'atorvastatine induira la régression de l'hypertrophie aortique via l'apoptose des CML chez le SHR. **Méthodes :** L'atorvastatine (2, 7, 20 et 50 mg/kg) a été administrée à des SHR par gavage quotidien durant trois semaines. Le remodelage vasculaire a été évalué par la mesure de l'aire de section aortique ainsi que par le nombre de CML par unité de longueur dans l'aorte. Le stress oxydant vasculaire a été évalué par le test de lucigénine, spécifique pour la production d'anion superoxyde. La pression artérielle a été mesurée directement via canulation carotidienne sous anesthésie au pentobarbital à la fin du traitement. **Résultats :** Aucune différence significative n'a pu être observée quant à la pression artérielle moyenne, l'aire de section ou le nombre de CML aortiques. Une diminution significative du stress oxydant aortique a été observée lorsque le véhicule et la dose de 50 mg/kg ont été comparés.

	Dose d'atorvastatine (mg/kg)				
	Témoin	2	7	20	50
Pression artérielle moyenne (mm HG)	180,8±4	189,4±6	191,8±4	186,6±2	171,8±5
Aire de section aortique (mm <sup>2</sup> )	0,540±0,009		0,542±0,010	0,555±0,016	0,504±0,010
Dissecteur (nb cell./µm)	99,8±8				102,5±5
Essai lucigénine (cpm/mg aorte)	1429±132				1081±64

**Conclusions :** Malgré une réduction du stress oxydant vasculaire chez le SHR traité avec la plus forte dose d'atorvastatine, nos résultats ne soutiennent pas l'hypothèse que l'atorvastatine peut induire l'apoptose des CML *in vivo*. Des études en cours visent à évaluer l'effet sur les CML intimes et l'interaction possible de l'atorvastatine avec l'amlodipine, un inducteur connu de l'apoptose des CML *in vivo*.

## DIFFÉRENCE D'EXPRESSION DE LA THIORÉDOXINE ET D'ACTIVATION DE L'APOPTOSIS SIGNALING KINASE-1 SELON LE SEXE : RÔLE DES RADICAUX LIBRES DE L'OXYGÈNE

Ebrahimiyan T, Lemarié CA, Schiffrin EL, Touyz RM\*

Unité de recherche vasculaire et de l'hypertension, Institut Lady Davis pour la recherche médicale, Université de McGill, Montréal; \*Kidney Research Center, Université d'Ottawa.

**Objectif :** La thiorédoxine (Trx) possède des propriétés anti-oxydantes et régule les voies de signalisation incluant l'apoptose, en supprimant l'activité de l'Apoptosis Signaling Kinase-1 (ASK-1). Nous avons démontré précédemment que le système Trx et le stress oxydant étaient régulés différemment par l'angiotensine II (Ang II) chez les souris mâles et femelles. L'objectif de cette étude a été d'examiner si l'activation de la Trx par l'Ang II implique la production d'anions superoxydes et si ceci jouait un rôle dans la voie de signalisation de ASK-1 chez les mâles et les femelles. **Méthodes :** Les expériences ont été réalisées sur des cellules musculaires lisses (CML) isolées à partir d'artères mésentériques de souris C57bl6 mâles ou femelles. Après culture *in vitro* les CML ont été stimulés par l'Ang II en présence d'apocynine (Apo), un inhibiteur de la NAD(P)H oxydase ou du 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB), un inhibiteur de la Trx réductase (Trx-R). L'expression de la Trx et l'activité de ASK-1 ont été évaluées par immunobuvardage. Nous avons mesuré l'activité de la NAD(P)H oxydase par une technique de chimiluminescence. **Résultats :** L'expression basale de la Trx, identique dans les deux groupes, a été augmentée significativement ( $P < 0,05$ ) par l'Ang II seulement dans les CML provenant de souris mâles. L'Apo a inhibé l'effet de l'Ang II sur l'expression de la Trx dans les CML provenant des mâles ( $P > 0,05$ ). La stimulation par l'Ang II et l'inhibition de la Trx-R étaient associées à l'activation de la NAD(P)H oxydase (2-3 fois respectivement) dans les deux groupes. En présence de CDMB, l'activité de la NAD(P)H oxydase était plus élevée chez les CML des souris mâles ( $P < 0,05$ ). L'activité de ASK-1 a été augmentée de 70% uniquement dans les CML provenant des mâles ( $P < 0,01$ ). L'Apo a inhibé l'activation de ASK-1 induite par l'Ang II. En revanche, en présence de CDMB, les effets médiés par Ang II sur ASK-1 étaient augmentés 3 fois ( $P < 0,01$ ). **Conclusion :** Nos résultats montrent que, dans les CML de souris mâles, l'Ang II induit l'activation de la Trx et de ASK-1 par les radicaux libres produits par la NAD(P)H oxydase. Dans ces conditions, la Trx ne semble pas inhiber l'activité de ASK-1. Ni la Trx ni ASK-1 ne sont significativement régulées par l'Ang II dans les CML provenant de souris femelles.

## CARACTÉRISATION DE L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE ET DE L'IRAP CHEZ LES SOURIS TRANSGÉNIQUES QUI SUREXPRESSENT L'ANGIOTENSINOGENÈSE ET LA RÉNINE HUMAINE

Falcao S, Solomon C, Gutkowska J, Lavoie J.

Centre de recherche du CHUM-Technopôle Angus, Montréal, Québec.

**Objectif :** La pré-éclampsie (PRE), une pathologie de la grossesse caractérisée par l'hypertension et la protéinurie, est l'une des causes principales de morbidité et mortalité fœtale et maternelle. L'hypertrophie cardiaque est l'un des symptômes associés à cette pathologie et peut mener à d'autres dysfonctions comme l'hypertension et une réduction du débit cardiaque. Une altération au niveau de l'activité et de l'expression de l'aminopeptidase sensible à l'insuline (IRAP) a été liée à ces symptômes. L'IRAP est principalement exprimée dans le cœur où elle dégrade plusieurs vasoconstricteurs, ainsi que certains stimulateurs de l'hypertrophie. Il a été observé que les concentrations circulantes d'IRAP sont augmentées chez la femme enceinte, alors qu'elles ne le sont pas lors d'une grossesse pré-éclampsique. Ceci suggère une implication de l'IRAP dans la régulation des phénotypes observés. L'objectif est d'étudier l'expression et l'activité de l'IRAP chez des souris transgéniques qui surexpriment la rénine et l'angiotensinogène humaine (A+/R+). **Méthodes :** La pression artérielle des souris est mesurée tout au long de la grossesse par télémetrie, et la protéinurie est mesurée par ELISA sur des échantillons recueillis de façon périodique au cours de la gestation. Au 18<sup>e</sup> jour de gestation, les cœurs sont collectés, pesés et gelés dans l'azote liquide. L'expression de l'IRAP est mesurée par Western Blot. **Résultats :** Nous observons une augmentation significative de la pression artérielle au cours du dernier tiers de la grossesse ainsi que de la protéinurie. Nous observons une augmentation du ratio du poids du cœur sur le poids corporelle chez les souris A+/R+ par rapport aux souris non-transgéniques et la relation est exacerbée lors de la gestation. L'expression de l'IRAP est augmentée chez les souris transgéniques en comparaison avec les souris normales, toutefois, son expression diminue lors de la gestation indépendamment du génotype. **Conclusion :** En plus d'avoir démontré que les souris A+/R+ représentaient un bon modèle de PRE, l'élévation de l'expression de l'IRAP observée chez celles-ci suggère une implication de l'angiotensine II dans la régulation de l'expression de cette protéine. La diminution de son expression lors de la gestation suggère qu'elle contribue au niveau d'hypertrophie cardiaque observée. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires pour définir mieux le rôle de l'IRAP.

## L'ŒSTROGÈNE A DES EFFETS INTERDÉPENDANTS AVEC TNFα SUR L'ANGIOGÈNESE

Florian M, Florianova L, Hussain S, Magder S.

CUSM, Hôpital Royal Victoria, Division des soins intensifs, Montréal.

**Objectif :** La place de l'œstrogène pour la santé des femmes reste controversée. Des études observationnelles démontrent ses effets protecteurs contre les maladies cardiovasculaires tandis que les études randomisées ne confirment pas les effets bénéfiques de l'œstrogène (E2) et même que la prévention secondaire fait actuellement défaut. Notre hypothèse était que ce paradoxe pourrait être expliqué par les effets prononcés de l'œstrogène sur l'angiogénèse, ce qui peut augmenter la néovascularisation et avoir pour conséquence de déstabiliser des plaques d'athérosclérose, en particulier en présence de l'inflammation chronique souvent présente chez les femmes âgées. Pour tester cette hypothèse, nous avons évalué l'angiogénèse dans les cellules endothéliales humaines de la veine ombilicale (HUVEC) et étudié l'interaction de l'œstrogène avec une cytokine de l'inflammation, celle du facteur nécrotique de tumeur (TNFα). **Méthode :** Les premiers passages de HUVEC étaient cultivés jusqu'à ce que les cellules soient confluentes. Un sillon a été fait à travers la boîte de Pétri (essai de migration). La migration à travers le sillon a été observée et quantifiée pendant les prochaines 12-48 heures. Nous avons évalué la prolifération cellulaire avec du BrDU. Les cellules ont été cultivées dans le milieu seul avec de TNFα 0,3, 1,0 ou 20 ng/ml, E2 20 nM ou avec la combinaison de TNFα et E2. Nous avons analysé les changements de l'expression des gènes d'angiogénèse angiopoïétine-2 (Ang-2), VEGF-A et C et IL-8. **Résultats :** E2 a augmenté le taux de migration en comparaison au contrôle (67,6±6,4% vs 37,5±1,2%). La dose en excès de TNFα (20 ng/ml) a pratiquement complètement bloqué la migration tandis qu'un ajout d'E2 a préservé en partie la migration. La dose de TNFα de 1 ng/ml a augmenté la migration en comparaison au contrôle (43,8±1,6%). L'addition d'E2 a augmenté la migration en comparaison au TNFα seul, mais le taux de migration d'E2 seul n'a pas été atteint (54,2±2,6%). E2 a augmenté en dépendance du temps de la migration de HUVEC sillonnées, préalablement traitées avec TNFα, ce qui valait 51,9±4,1% en 24 hrs en comparaison au contrôle non traité (28,3±1%). Au contraire, la migration ne progressait pas chez les HUVEC pré-traitées avec E2 suivi par une stimulation de TNFα (29,6±1,7%). TNFα a causé une augmentation significative des gènes VEGF-C et IL-8; E2 ne changeait pas l'expression de ces gènes. **Conclusion :** E2 augmente l'angiogénèse induite par TNFα, ce qui peut détériorer la stabilité des plaques d'athérosclérose et provoquer des incidents cardiovasculaires.

## EFFET DU LIPITOR SUR LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE DES ARTÈRES CORONAIRES ÉPICARDIQUES ASSOCIÉE À L'HVG DANS UN MODÈLE PORCIN

Forcillo J, Aubin MC, Shi YF, Perrault LP.

Centre de recherche, Institut de cardiologie de Montréal.

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) est caractérisée par une dysfonction endothéliale cardiaque et coronaire. Nous avons vérifié si le lipitor, par ses effets pléiotropiques, était bénéfique afin de limiter la dysfonction endothéliale associée au développement de l'HVG. **Méthode :** L'HVG est induite à la suite d'un cerclage aortique fait par une thoracotomie à l'aide d'un cordon ombilical serré pour obtenir un gradient de pression de 15 mmHg. Les porcs sont âgés de 2 mois. Le groupe contrôle est soumis à une thoracotomie sans cerclage, contrairement au deuxième groupe avec cerclage qui a reçu un placebo pour 60 jours. Le troisième groupe a reçu du lipitor (40 mg/j PO) du jour 1 post cerclage pour 60 jours. Le quatrième groupe a reçu du lipitor (80 mg/j PO) du jour 1 post cerclage pour 60 jours. Le cinquième groupe avec cerclage est non traité pour 90 jours. Le sixième groupe est traité avec du lipitor (80 mg/j PO) du jour 60 post cerclage pour 30 jours. Et finalement, le septième groupe sans sténose aortique a été traité avec du lipitor (80 mg/j PO) pour une durée de 60 jour à partir de 0. L'HVG a été évaluée par des études échocardiographiques. Des études de réactivité vasculaire ont été effectuées en chambres d'organes par la construction de courbes concentration-réponses à la sérotonine et à la bradykinine. La fonction endothéliale a été évaluée par la quantification de la GMPc et des nitrites/nitrites. Afin de quantifier et de qualifier le stress oxydant, les niveaux d'ANG II. **Résultats :** Après 60 et 90 jours de cerclage, l'HVG est observé chez les groupes traités et non traités. Les courbes concentration-réponses des anneaux des artères coronaires épicardiques des groupes traités avec le lipitor n'ont démontré aucune amélioration des relaxations dépendantes de l'endothélium par rapport aux contrôles et HVG non traités induites par les voies des protéines Gi (sérotonine) et Gq (bradykinine) et il semble même y avoir exacerbation de la dysfonction endothéliale de façon significative. Les niveaux vasculaires de GMPc sont significativement diminués et ceux d'ANG II sont fortement augmentés chez les groupes traités avec le lipitor par rapport aux contrôles et HVG. **Conclusion :** Dans un modèle porcin avec HVG secondaire à une sténose aortique, l'administration d'atorvastatine ne limite pas le développement de l'HVG ni la dysfonction endothéliale des artères coronaires épicardiques qui lui est associée dans un modèle porcin interventionnel et de prévention.

## RÉGULATION DES KCCs VIA DES MÉCANISMES DÉPENDANTS ET INDÉPENDANTS DE LA PHOSPHORYLATION

Frenette RC, Bergeron MJ, Carpentier GA, Caron L, Iseingr P.

Groupe de recherche en néphrologie, Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec.

Il existe 4 isoformes des cotransporteurs K-Cl (KCCs) dont certains (KCC3 et 4) jouent un rôle clé dans le contrôle du tonus vasculaire, du volume cellulaire et ainsi du maintien de la pression artérielle. Nous savons que les KCCs sont activés par le gonflement cellulaire ou par l'élévation du Cl intracellulaire (Cl<sub>i</sub>) et sont inhibés par le rétrécissement cellulaire, par la baisse du Cl<sub>i</sub> ou par le PMA. Toutefois, les mécanismes qui conduisent à un changement de transport ionique dans ces circonstances demeurent inconnus. Plusieurs études suggèrent que les étapes en jeu impliquent la phosphorylation des KCCs, mais elles sont peu convaincantes. **Objectifs :** Nous avons déterminé si KCC4 pouvait être phosphorylé en réponse à des changements de volume cellulaire et à un traitement au PMA. Nous avons aussi tenté d'identifier des sites phosphorylés par la PKC à l'intérieur de KCC4. **Méthodes :** Nous avons mesuré la phosphorylation et l'activité du KCC4 sauvage et de KCC4 mutés (sites putatifs de phosphorylation enlevés). Ces transporteurs ont été exprimés de façon hétérologue dans l'oocyte du xénope. Les oocytes ont été préincubés dans des solutions dont la teneur en Cl et en osmoles était variable, et ceci, en présence ou non de PMA. **Résultats :** Nous avons trouvé que tous les KCCs examinés sont plus actifs quand le milieu d'incubation contient plus de Cl ou moins d'osmoles, et qu'ils sont moins actifs quand le milieu d'incubation contient moins de Cl, plus d'osmoles et du PMA. De façon intéressante, une des mutations prévient l'inhibition par le PMA en hyposmolarité. De plus, nous avons trouvé que les niveaux de phosphorylation de KCC4 ne changent pas en présence de PMA, suite aux mutations ou par une préincubation en milieu hyposmolaire. Toutefois, ils varient de façon inversement proportionnelle au Cl extracellulaire et augmentent à la suite d'une préincubation en milieu hyperosmolaire. Ces résultats prouvent pour la première fois qu'un KCC peut être régulé par la phosphorylation, mais qu'il n'est pas régulé de cette façon quand la cellule est soumise à un stress hyposmotique. **Conclusions :** Nos résultats ont permis de mieux cerner les mécanismes qui permettent de moduler l'activité des KCCs. Une meilleure compréhension de tels mécanismes pourrait permettre l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement de certaines conditions qui affectent la santé cardiovasculaire à long terme.

## LE NO PERMET DE LIMITER L'ÉLASTOCALCINOSE ET LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE PAR UNE VOIE DÉPENDANTE DU GMPc

Gilbert LA, Larivière R, Moreau P.

Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

L'hypertension systolique isolée (HSI) est caractérisée par une augmentation de la rigidité des artères causée, en partie, par une déposition de calcium au niveau de la paroi vasculaire. La vitesse de l'onde de pouls (PWV) est un indice de rigidité artérielle. La voie du NO/GMPc joue un rôle important dans la régulation du tonus musculaire, mais aussi dans la modulation de la rigidité artérielle. **Objectifs :** Déterminer le mécanisme par lequel le NO limite l'élastocalcinoïse et la rigidité artérielle, incluant la contribution de l'endothéline. **Méthodes :** *In vivo* : des rats ont reçu une injection s.c. de vitamine K (100mg/kg/jr) 3 fois par semaine pendant 4 semaines, ainsi que de la warfarine (20mg/kg/jr) administrée dans l'eau de boisson (modèle WVK). Pendant les 4 semaines suivantes, le traitement WVK a été poursuivi en ajoutant du L-NAME dans la nourriture. L'endothéline (ET) tissulaire a été mesurée par essais radioimmunologiques et les nitrates par une méthode colorimétrique de Griess. *Ex vivo* : des aortes de rats sains ont été prélevées et mises en culture pendant 4 jours afin d'induire une calcification à l'aide de warfarine et de phosphate. À partir du jour 4, du L-NAME (1 mM), des inhibiteurs de phosphodiesterase (iPDE) 1, 3, 5, des antioxydants : acide α-lipoïque (AAL) et tempol, et un inhibiteur de la NADPH oxydase, l'apocynine (APC) ont été ajoutés au milieu de culture pendant 4 jours. Le calcium a été mesuré par une méthode spectrophotométrique. **Résultats :** *In vivo* : Le L-NAME a significativement augmenté la déposition de calcium dans l'aorte et le PWV comparativement aux rats WVK seul. Afin d'expliquer l'augmentation de calcium dans l'aorte lors de l'administration de L-NAME, l'ET tissulaire et les nitrates plasmatiques ont été mesurés. L'ET a été significativement augmenté chez des rats WVK, mais l'administration de L-NAME n'a pas augmenté davantage les taux d'ET. Lors de la mesure des nitrates, les rats WVK n'ont pas montré de différences significatives avec les rats témoins. Par contre, l'administration de L-NAME a diminué significativement la production plasmatique de nitrates. *Ex vivo* : l'ajout d'iPDEs et d'AAL dans le milieu de culture a permis de réguler la calcification. Par contre, le L-NAME, le tempol et l'APC n'ont pas modifié la déposition de calcium dans l'aorte. **Conclusion :** Le NO endogène semble limiter l'évolution de l'élastocalcinoïse et interférer dans les processus contribuant au développement à long-terme de la rigidité artérielle possiblement par l'intermédiaire du GMPc.

## L'ENALAPRIL CHEZ LES SHR ÂGÉS NE PRÉVIENT PAS LES DOMMAGES CARDIOVASCULAIRES INDUIT PAR LE L-NAME

Hale TM, de Blois D.

Département de pharmacologie, Université de Montréal.

**Objectif :** L'énalapril réduit la masse aortique et la fibrose cardiaque. Nous avons postulé qu'un court traitement chez des rats hypertendus (SHR) âgés pouvait réduire de façon prolongée la fibrose ventriculaire gauche (VG) même après cessation du traitement et aggravation de l'hypertension par le L-NAME. **Méthode :** Des SHR âgés (26 sem.) ont reçu un placebo (P) ou l'énalapril (E: 30mg/kg/j) pendant 14 jours, suivi de 14 jours sans traitement. Par la suite, les rats ont été randomisés pour être sacrifiés ou recevoir un traitement au L-NAME (L: 15mg/kg/j) pendant 14 jours, soient les groupes E+L et P+L. **Résultats :** L'énalapril n'a pas modifié la masse corporelle (MC) (P: 366±17g; E: 369±15g). Par contre, le L-NAME a réduit la MC dans le groupe P+L (329±30g vs E+L 364±13g p<0.05). La réduction de la pression artérielle était toujours significative après 14 jours de vacance thérapeutique (P: 213±13mmHg; E: 177±24 p=0.05). L'ajout subséquent de L-NAME a augmenté la pression artérielle (E+L: 223±16mmHg) comparativement aux rats P+L (159±54mmHg; p<0.05). L'énalapril a réduit la masse aortique (↓15%, p<0.05), mais l'hypertrophie induite par le L-NAME n'a pas été prévenue (P: 1,36±0.04; P+L: 1,41±0.09, NS vs P; E: 1,15±0.06, E+L: 1,37±0.04 p<0.05 vs E). Le nombre de cellules aortiques, la masse du VG ou le contenu en ADN dans le VG n'ont pas été modifiés par les traitements. Le ratio paroï/lumière a été réduit par l'énalapril (p<0.05), mais a été augmenté similairement dans les deux groupes L-NAME (P: 0,081±0,003; P+L: 0,096±0,004 p<0.05 vs P; E: 0,076±0,004; E+L: 0,091±0,005 p<0.05 vs E). Une réduction non-significative de la fibrose (coloration au Trichrome de Masson) dans les VG chez les rats précédemment traités avec l'énalapril a pu être observée, mais cette réduction n'a pas prévenu la fibrose induite par le L-NAME (P: 0,010±0,0044; P+L: 0,018±0,004; E: 0,0070±0,002; E+L: 0,022±0,007 p<0.05 vs E). **Conclusions :** Contrairement à ce qui a été rapporté chez les jeunes SHR, le remodelage cardiovasculaire induit par l'énalapril ne semble pas être associé à des changements dans le nombre de cellules aortiques ni dans le contenu en ADN. Même avec une réduction de la masse aortique et de la fibrose ventriculaire, aucune prévention des dommages cardiovasculaires induit par le L-NAME n'a pu être observée.

## EFFETS VASOACTIFS DE L'U-46619 SUR LA PRESSION DE PERFUSION DANS DES COTYLÉDONS PLACENTAIRES HUMAINS PERFUSÉS *IN VITRO*

Hausermann L, Sicotte B, St-Louis J.

Centre de recherche CHU Ste-Justine, Départements de pharmacologie et d'obstétrique et gynécologie, Université de Montréal.

Le placenta étant dénué d'innervation autonome, le tonus vasculaire ombilico-placentaire devrait être complètement sous le contrôle de facteurs humoraux et tissulaires. La circulation placentaire très sensible aux stimuli vasoactifs, nous faisons l'hypothèse que des substances de type prostanoïde pourraient être les molécules endogènes contrôlant le tonus vasculaire placentaire. La thromboxane (TXA<sub>2</sub>) pouvant constituer l'un des modulateurs physiologiques de la circulation, nous avons mesuré les effets engendrés par un des ses mimétiques, l'U-46619, dans le lit vasculaire du cotylédon placentaire perfusé *in vitro*, ainsi que dans les artères villositaires. **Méthodes :** Les placentas sont obtenus après césariennes électives de femmes normotensives. Sur chaque placenta, on prélève 2 cotylédons et 4 artères villositaires. Les cotylédons sont perfusés via une artère chorionique, puis séparés du placenta afin d'être installés dans le circuit de perfusion (débit de 4 mL/min). Les artères villositaires sont préparées en anneaux et installés dans un myographe pour microvaisseaux (tension passive équivalent à 50 mmHg). Dans les 2 préparations, les effets de l'U-46619 sont mesurés en l'absence et en présence de bloqueurs des récepteurs TP (de TXA<sub>2</sub>), le SQ29548 et l'IC192605. Les effets du monoxyde d'azote (NO) sont également testés dans les cotylédons en utilisant un inhibiteur de la NO synthase, le L-NAME. **Résultats :** L'U-46619 entraîne une augmentation importante de la pression de perfusion (>150 mmHg) dans la circulation cotylédonaire, avec une sensibilité élevée (ED<sub>50</sub> = 241 pmoles). Les courbes dose-réponse sont déplacées vers la droite en présence des antagonistes, démontrant leur caractère compétitif. Ceci est également observé pour l'IC192605 dans les artères villositaires, alors que SQ29548 a diminué la réponse maximale à l'U-46619. Le L-NAME n'a pas d'effet sur la réponse à l'U-46619. **Conclusion :** Les résultats montrent que l'U-46619 exerce un puissant effet vasoconstricteur dans les cotylédons placentaires et les artères villositaires. Ces effets semblent s'effectuer via les récepteurs TP, bien que les antagonistes n'entraînent pas forcément les mêmes réponses dans les 2 préparations. La présence de récepteurs TP suggère un rôle important de la TXA<sub>2</sub> dans le tonus vasculaire placentaire. Par ailleurs, l'utilisation du L-NAME montre une libération de NO non significative à l'état d'équilibre, ce qui mène à penser que le NO ne joue pas de rôle majeur dans la régulation du tonus vasculaire placentaire.

## EXPRESSION GÉNÉTIQUE DE LA VOIE DE SIGNALISATION INTRACELLULAIRE DU RÉCEPTEUR DES MINÉRALOCORTICOIDES DANS LE REIN DE LA RATE GESTANTE

Houde V, Provencher M, St-Louis J, Brochu M.

Centre de recherche, CHU Ste-Justine, Université de Montréal.

**Objectif :** Au cours de la grossesse normale, des augmentations du volume circulant et de l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone sont paradoxalement accompagnées d'une diminution de la pression artérielle. Nous avons démontré par l'administration de canrénoate de potassium (CP), un antagoniste des récepteurs des minéralocorticoïdes (MR), que l'aldostérone via les MR est probablement impliquée dans le maintien de la pression artérielle durant la gestation. L'aldostérone, au niveau rénal, favorise essentiellement la réabsorption de sodium et d'eau dans le segment distal du néphron par sa liaison aux MR. Ces derniers activent une cascade de signalisation intracellulaire aboutissant à l'augmentation du transport du sodium par des canaux sodiques épithéliaux (ENaC). Notre hypothèse est que l'augmentation d'aldostérone observée au cours de la gestation entraîne une activation de la signalisation par le MR dans le rein et que l'administration de CP inhibe cette voie. Notre but est de déterminer l'expression génique rénale des MR, Sgk 1 (*serum/glucocorticoid-induced kinase 1*), Nedd 4-2 (*neural precursor cell-expressed, developmentally down-regulated protein 4-2*) et des sous-unités de la pompe sodium-potassium dépendante de l'ATP (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase) et de ENaC, ainsi que l'activité de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase dans les reins de rates traitées et témoins. **Méthode :** Les rates gestantes ont été séparées en deux groupes, témoin ou expérimentale (20 mg/kg/jour de CP à partir du jour 15 de gestation). Les reins ont été prélevés aux jours 14, 17, 19 et 22. Les composantes de la voie de signalisation des MR ont été mesurées par PCR en temps réel dans le cortex rénal. L'activité de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase a été étudiée par la mesure de la libération de phosphate inorganique en présence ou en absence de ouabaine dans les cortex et les médullaires externes rénaux. **Résultats :** Les niveaux d'ARN messager des composantes de la voie de signalisation des MR ne sont pas différents entre les cortex rénaux des rates, aux différents jours de gestation, traitées ou non avec le CP. Par rapport au jour 14, l'activité de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase de la médullaire externe rénale est diminuée au jour 22. **Conclusion :** Ni l'administration de CP ni l'évolution de la gestation ne semblent influencer l'expression génique des composantes de la voie de signalisation des MR au niveau du cortex rénal. Dans la prochaine étape, les niveaux protéiques et les modifications post-traductionnelles seront étudiées. Cela nous permettra de mieux cerner le rôle de l'aldostérone et des MR dans la physiologie de la grossesse.

## L'APOPTOSE DE CELLULES DE MUSCLE LISSE AORTIQUE INDUITE PAR L'AMLODIPINE CHEZ LE SHR EST RELAYÉE PAR LE RÉCEPTEUR B1 DES KININES

Huot-Marchand J, Duguay D, Sirois P, deBlois D.

Département de pharmacologie, Université de Montréal, Université de Sherbrooke.

### Objectif :

La régression de l'hypertrophie aortique par les antihypertenseurs chez le rat spontanément hypertendu (SHR) est associée à une apoptose transitoire des cellules de muscle lisse (CML). Nos données récentes suggèrent que l'apoptose induite par les inhibiteurs du système rénine-angiotensine est dépendante du récepteur B1 des kinines. La présente étude a examiné le rôle du récepteur B1 des kinines dans l'apoptose induite par un bloqueur des canaux calciques dépendants du voltage, l'amlopidine.

### Méthode :

Des SHR âgés de 11 semaines ont reçu pendant 21 jours le véhicule, l'amlopidine (20mg/kg/jour), seul ou en combinaison avec l'antagoniste B1, le R-954 (400µg/kg/jour) (n=8/groupe).

### Résultats :

La réduction de l'aire de section de l'aorte induite par l'amlopidine (-13±2% p<0.01) a été significativement atténuée par l'ajout de R-954. La réduction de l'hyperplasie aortique induite par l'amlopidine (-36±4% p<0.01) a été complètement prévenue par l'ajout de R-954. Le R-954 seul n'a eu aucun effet sur tous ces paramètres. L'amlopidine a significativement baissé la pression artérielle systolique (-36±5% p<0.01) mais n'a pas été affectée par l'ajout de R-954.

### Conclusion :

Ces données impliquent le récepteur B1 des kinines dans l'apoptose des CML au cours du remodelage aortique initié par l'amlopidine, tout comme c'est le cas pour les inhibiteurs de l'ECA et des antagonistes AT1 de l'angiotensine II. L'activation du récepteur B1 semble être un point de convergence pour plusieurs classes d'antihypertenseurs dans l'induction de l'apoptose des CML et le remodelage aortique chez le SHR.

## RECHERCHE INITIALE DE CNV's CHEZ DES FEMMES HYPERTENDUES DU SAGUENAY-LAC ST-JEAN

Ivanga M, Petrovitch M, Seda O, Samuels ME, Gaudet D, Tremblay J, Hamet P.

Médecine génique, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

**Objectif :** Le développement de nouvelles techniques de criblage du génome, telle que l'hybridation génomique comparative sur biopuce à ADN (*CGH arrays*), ont permis la détection de variations génomiques additionnelles aux simples SNPs, comme la variation du nombre de copies (CNV). Cette variation est maintenant reconnue comme étant largement présente dans le génome d'individus sains. Cependant, les CNVs peuvent également être à l'origine de pathologies (Alzheimer, Parkinson), ou conférer une protection ou un risque pour des maladies complexes (sida, autisme). Aussi nous envisageons que des CNVs pourraient soit causer l'hypertension artérielle, soit en accroître ou en diminuer le risque.

**Méthode :** Afin d'identifier l'influence des CNVs sur l'hypertension, nous avons examiné à l'aide de *CGH arrays*, les caractéristiques des CNVs chez 126 femmes canadiennes françaises du Saguenay-Lac St-Jean, incluant 106 femmes hypertendues (*SBP*>140 mmHg et/ou *DBP*>90 mmHg) et 20 femmes normotendues. Un modèle de régression logistique nous a permis de mesurer l'influence des CNVs sur l'occurrence de la maladie. **Résultats :** Nous avons identifié 5 CNVs, d'une certaine de milliers de bases, situées sur les chromosomes 2 (p=0.019), 15 (p=0.008), 17 (p=0.002), 19 (p=0.008) et X (p=0.001). Ces CNVs comprennent ou sont à proximité des gènes *Pax-8*, *SH3GL3* et *ADAMTSL3*, *PGS1* et *PSCD1*, *PSG7*, *MAP3K7IP3* et *FTHL17* et *DMD* respectivement. Nous avons observé que les *p-values* varient selon que les femmes sont seulement hypertendues ou également atteintes d'obésité. Ces portions d'ADN pourraient constituer l'intégralité ou une portion d'une nouvelle CNV, ou même être le prolongement de CNVs déjà connues. **Conclusion :** Certaines des CNVs identifiées apparaissent plus spécifiques aux femmes seulement hypertendues, d'autres aux hypertendues obèses. De plus, ces CNVs semblent principalement impliquer des gènes liés au métabolisme des glycoprotéines, et au développement du cœur et des muscles vasculaires lisses. Ainsi, la caractérisation des CNVs devrait nous permettre d'évaluer l'influence de la diversité génomique et des facteurs génétiques hérités sur les fonctions biologiques et l'évolution de la tension artérielle. Cette étude pourrait également contribuer à une meilleure connaissance des mécanismes régulant l'hypertension et au développement de stratégies aidant à prévenir le développement de cette maladie.

## ÉVALUATION SPATIO-TEMPORELLE DE L'APOPTOSE DANS LE SYSTÈME LIMBIQUE APRÈS UN INFARCTUS DU MYOCARDE

Kaloustian S, Bah TM, Wann BP, Girard S A, Ryvlin P, Godbout R, Rousseau G.

Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal.

**Objectifs :** Nous avons mis en évidence la présence d'apoptose dans des régions du système limbique (hippocampe et amygdale) 3 jours après un infarctus du myocarde, alors qu'elle est absente dans d'autres régions (hypothalamus postérieur, cortex frontal). Toutefois, nous ignorons si l'apoptose se restreint uniquement à ces régions et à cette période de temps. Le but de ce travail est de caractériser la propagation de cette mort cellulaire cérébrale, chez le rat après un infarctus du myocarde, tant sur le plan spatial que sur le plan temporel.

**Méthodes :** Une occlusion de 40 minutes de l'artère coronaire gauche descendante suivie d'une reperfusion de 24, 48 ou 168 heures (7 jours) a été pratiquée chez des rats Sprague-Dawley mâles anesthésiés. Un groupe de rats a été soumis à la même chirurgie sans occlusion coronarienne (groupe témoin). Au sacrifice, neuf régions du cerveau ont été analysées soit le cortex frontal et préfrontal, l'amygdale (latérale et médiale), l'hippocampe (Ca1, Ca3 et le corps godronné) et l'hypothalamus (postérieur et antérieur). Dans toutes ces régions, nous avons mesuré deux indicateurs de l'apoptose (l'activité de la caspase-3 et le nombre de cellules TUNEL positives).

**Résultats :** Une augmentation significative (activité de la caspase-3 et TUNEL) de l'apoptose est observée à un jour après l'infarctus dans le Ca1 et l'amygdale médiale chez le groupe infarctus comparativement au groupe témoin. À deux jours post-infarctus, l'apoptose était présente dans la région de l'amygdale latérale et dans le Ca1. À 7 jours post-infarctus, l'apoptose était significative dans le cortex frontal. Aucune autre région ne démontrait de l'apoptose.

**Conclusion :** Ces résultats nous indiquent que le processus apoptotique survenant après l'infarctus du myocarde est un processus spatio-temporel dynamique et que celui-ci prend place très rapidement dans l'amygdale et dans la région Ca1 de l'hippocampe. L'apoptose tardive observée dans le cortex frontal suggère que les fonctions cognitives associées au cortex frontal pourraient présenter des altérations à plus long terme.

## RÔLE DU RÉCEPTEUR 5-HT<sub>2B</sub> DANS L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE ET LA PRODUCTION DE L'ANION SUPEROXYDE INDUITES PAR L'ANGIOTENSINE II CHEZ LA SOURIS

Laplanche MA<sup>1</sup>, Monassier L<sup>2</sup>, Bousquet P<sup>2</sup>, de Champlain J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Département de physiologie, Université de Montréal.

<sup>2</sup>Laboratoire de neurobiologie et pharmacologie cardiovasculaire, INSERM, U-715, Faculté de médecine, Strasbourg, France.

**Objectifs :** Étudier le rôle du récepteur à sérotonine 5-HT<sub>2B</sub> dans le développement de l'hypertrophie cardiaque et la production ventriculaire gauche d'anion superoxyde dans un modèle d'infusion chronique à l'angiotensine II chez la souris. **Méthode :** Des souris sauvages et invalidées (KO) pour le récepteur 5-HT<sub>2B</sub> ont reçu une infusion d'angiotensine II (0,2 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>) pendant 14 jours avec ou sans SB215505 (1 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>), un antagoniste du récepteur 5-HT<sub>2B</sub>. Le rythme cardiaque et la pression artérielle ont été mesurés par pléthysmographie à la queue. L'hypertrophie cardiaque a été évaluée par échocardiographie sous anesthésie à l'isoflurane et par mesure directe du poids du cœur. La production d'anion superoxyde et l'activité maximale de la NAD(P)H oxydase ont été mesurées par chimiluminescence à la lucigénine. L'expression de la sous-unité p47<sup>phox</sup> de la NAD(P)H oxydase a été mesurée par western blot. La production d'anion superoxyde par l'angiotensine II a également été mesurée dans des cultures primaires de fibroblastes cardiaques provenant de souris sauvages et invalidées pour le récepteur 5-HT<sub>2B</sub>. **Résultats :** L'infusion d'angiotensine II a augmenté la production d'anion superoxyde (+32%), l'activité maximale de la NAD(P)H oxydase (+84%) et l'expression de la p47<sup>phox</sup> dans le ventricule gauche des souris. Le traitement a également augmenté la pression artérielle (+37mmHg) et le rapport poids du cœur/masse corporelle (+17%). Le blocage pharmacologique (SB215505) ou génétique du récepteur 5-HT<sub>2B</sub> a prévenu l'augmentation de la production d'anion superoxyde ainsi que l'hypertrophie cardiaque sans modifier les valeurs de pression artérielle. L'angiotensine II a aussi augmenté l'activité NAD(P)H oxydase dans les fibroblastes cardiaques en culture. Cette augmentation a été prévenue par le SB215505 et dans les fibroblastes de souris invalidées pour le récepteur 5-HT<sub>2B</sub>. **Conclusion :** Le récepteur 5-HT<sub>2B</sub> représente une nouvelle cible dans la prévention du développement de l'hypertrophie cardiaque et de la production d'anion superoxyde associée. Le blocage de ce récepteur modifie la réponse trophique du tissu cardiaque à l'angiotensine II sans prévenir les altérations hémodynamiques.

## L'HYPERHOMOCYSTÉINÉMIE MODÉRÉE RÉDUIT LA DIFFÉRENCIATION ET INDUIT LA SÉNESCENCE DES CELLULES ENDOTHÉLIALES PROGÉNÉTRICES

Lemarié CA, Deschênes ME, Rozen R, Schiffrin EL.

Unité de recherche vasculaire et hypertension artérielle, Institut Lady Davis pour la recherche médicale, Montréal; Département de génétique humaine, Hôpital de Montréal pour enfants.

**Objectifs :** La méthylénétetrahydrofolate réductase (MTHFR) joue un rôle clé dans le cycle de reméthylation de l'homocystéine (Hcy) pour la convertir en méthionine. Chez l'homme, il existe une mutation ponctuelle répandue dans le gène de la MTHFR qui se caractérise par une hyperhomocystéinémie modérée. Cependant, le lien entre cette mutation et une augmentation du risque cardiovasculaire reste à déterminer. À l'aide d'un modèle murin développé récemment, nous avons montré que l'hyperhomocystéinémie et l'hypertension artérielle altèrent la vasodilatation endothélium-dépendante. Par ailleurs, des travaux récents ont démontré que les cellules endothéliales progénitrices (EPCs) participent à la réparation de l'endothélium à la suite de lésions. Nous avons ici étudié la capacité de différenciation de cellules monoclones dérivées de la moelle osseuse en EPCs chez les souris Mthfr +/- en comparaison avec les souris sauvages. **Méthode :** Les cellules monoclones ont été isolées à partir de la moelle osseuse des fémurs et des tibias prélevés chez des souris Mthfr +/- et Mthfr +/+. Après 7 jours de culture, les EPCs sont identifiés par un double marquage Scal<sup>+</sup>/Flk1<sup>+</sup> par cytométrie en flux. Nous avons aussi étudié la phosphorylation de p38 MAPK et d'Akt par une technique d'immunobuvardage. La sénescence des EPCs a été étudiée par l'évaluation de l'activité  $\beta$ -galactosidase caractéristique des cellules sénescentes. Enfin, la production de radicaux libres de l'oxygène (RLO) a été évaluée par la mesure de l'activité de la NADPH oxydase par une méthode de chimiluminescence et par marquage à la dihydroéthidine. **Résultats :** 40% des cellules provenant de souris sauvages, contre 10% des EPCs provenant des souris Mthfr +/-, sont Scal<sup>+</sup>/Flk1<sup>+</sup> après 7 jours de culture. De plus, la phosphorylation de p38 est 1,5 fois supérieure dans les cellules provenant des souris Mthfr +/- par rapport aux cellules de souris sauvages. Nous avons également observé une diminution de 40% de l'activité Akt associée à une augmentation de 50% de la sénescence des EPCs des souris Mthfr +/- comparées aux EPCs provenant des souris sauvages. Finalement, nous avons montré que la sénescence est associée à une augmentation de la production totale des RLO de manière indépendante de la NADPH oxydase. **Conclusion :** La faible capacité de différenciation des EPCs des souris Mthfr +/-, due à une augmentation de la sénescence, pourrait expliquer la dysfonction endothéliale induite par l'hyperhomocystéinémie modérée.

## L'ACTIVATION DE ERK1/2 ET DE NF- $\kappa$ B EN RÉPONSE À L'ANGIOTENSINE II ET À L'ALDOSTÉRONE NÉCESSITE L'INTÉGRITÉ DU RÉCEPTEUR AT<sub>1</sub>

Lemarié CA, Nikonova A, Ebrahimi T, Deschênes ME, Schiffrin EL.

Unité de recherche vasculaire et hypertension artérielle, Institut Lady Davis pour la recherche médicale, Montréal.

**Objectifs :** L'aldostérone (Aldo) joue un rôle important dans la pathophysiologie cardio-vasculaire, comme l'hypertension artérielle. De récentes études ont montré que l'aldostérone pouvait induire des dommages vasculaires, tels que la dysfonction endothéliale et la fibrose myocardique en partie par l'activation de voies de signalisation dépendantes de l'angiotensine II (Ang II). L'Aldo peut en effet moduler l'activation de voies de signalisation telles que ERK1/2 ou JNK induites par le récepteur AT<sub>1</sub> en réponse à l'Ang II. Cependant, les mécanismes régissant les effets synergiques de l'Aldo et de l'Ang II ou les relations entre les récepteurs AT<sub>1</sub> et le récepteur minéralocorticoïde restent encore à déterminer. Nous avons émis l'hypothèse que la déficience des récepteurs AT<sub>1</sub> et/ou AT<sub>1b</sub> pourrait diminuer les effets cellulaires induits par la stimulation simultanée par l'Ang II et l'Aldo. **Méthode :** Les cellules musculaires lisses (CML) vasculaires ont été isolées à partir des artères mésentériques de souris mâles C57Bl6 âgées de 8 semaines. Lorsque les CML avaient atteint la confluence, elles étaient transfectées pendant 48h avec des siRNA dirigés contre les récepteurs AT<sub>1</sub>a ou AT<sub>1b</sub> ou les deux. Les CML ont ensuite été stimulées par l'Ang II, l'Aldo ou les deux. Nous avons étudié l'activité des protéines ERK1/2, NF- $\kappa$ B et Akt par une technique d'immunobuvardage. Enfin, la production de radicaux libres oxygénés (RLO) a été évaluée par marquage à la dihydroéthidine. **Résultats :** Nous avons montré que l'activation de ERK1/2 en réponse à l'Aldo était abolie lorsque le récepteur AT<sub>1</sub>a, et seulement AT<sub>1</sub>a, était absent. En revanche, l'activité de NF- $\kappa$ B est augmentée de 30% par la co-stimulation par l'Ang II et l'Aldo seulement lorsque le récepteur AT<sub>1</sub>a était présent. Enfin, l'activation de Akt est augmentée de 200% en réponse à l'Aldo seul ou à l'Aldo et à l'AngII et celle-ci dépend de l'intégrité des récepteurs AT<sub>1</sub>a et AT<sub>1b</sub>. Nous avons également montré que la production de RLO était indépendante de la présence des récepteurs AT<sub>1</sub>a ou AT<sub>1b</sub>. **Conclusions :** L'activation des voies de signalisation telles que ERK1/2 et Akt par l'Aldo dépend de l'intégrité du récepteur AT<sub>1</sub>a principalement, suggérant des relations étroites entre l'Aldo et le récepteur AT<sub>1</sub> sur les effets cellulaires classiquement attribués à l'Ang II. Cette étude renforce l'hypothèse de l'utilisation, en thérapie, à la fois d'antagonistes du récepteur à l'Ang II et du récepteur à l'Aldo.

## RÔLE DES PEPTIDES VASOACTIFS DANS LA TRANSACTIONNATION DES FACTEURS DE CROISSANCE ET DANS LA PROLIFÉRATION ACCRUE DES CVML

Lévesque LO, Anand-Srivastava M.

Département de physiologie, Université de Montréal.

**Objectif :** L'hypertension s'accompagne d'une prolifération accrue des cellules vasculaires musculaires lisses (CVML). Nous avons déjà démontré que l'Angiotensine II (ANG-II), l'endothéline (ET-1) et la vasopressine accroissent la prolifération des CVML A-10. Puisque les niveaux d'ANG-II, d'ET-1 et des facteurs de croissance sont majorés lors de l'hypertension, cette étude a examiné leurs rôles dans la prolifération accrue des CVML des rats spontanément hypertendus (SHR) comparé au contrôle WKY. Des CVML de rats âgés de 12 semaines ont été utilisés dans cette étude.

**Méthode :** La synthèse d'ADN fut évaluée par incorporation de thymidine H<sup>3</sup>. L'activité des MAP Kinases et l'activation des récepteurs des facteurs de croissance furent déterminées par analyse Western avec des anticorps spécifiques contre pERK1/2 et pEGF-R respectivement.

**Résultats :** La prolifération accrue des CVML de SHR fut atténuée par C-ANP<sub>4-23</sub>, un agoniste spécifique du récepteur aux peptides natriurétique-C. De plus, BQ-123 et BQ-788 (antagonistes des récepteurs à l'ET-1 ET<sub>A</sub> et ET<sub>B</sub>) ont aussi réduit la synthèse accrue d'ADN des CVML de SHR sans affecter celle des WKY. Un effet similaire fut produit par losartan (antagoniste de l'ANG-II). Les antagonistes des facteurs de croissance PDGF, EGF et IGF ont aussi réduit la synthèse d'ADN dans les CVML de SHR. Nous avons observé que SHR possède des niveaux de phosphorylation des récepteurs aux facteurs de croissance plus élevés que le contrôle WKY. Les antagonistes des peptides vasoactifs réduisent aussi cette activation des récepteurs aux facteurs de croissance.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que la prolifération accrue de SHR est due aux niveaux élevés d'ANG-II, ET-1 et de facteurs de croissances.

## L'APOCYNIN PRÉVIENT L'APOPTOSE ET L'ATROPHIE TUBULAIRE, INDÉPENDAMMENT DE L'HYPERTENSION SYSTÉMIQUE, CHEZ DES SOURIS TRANSGÉNIQUES SUREXPRESSANT L'ANGIOTENSINOGENE

Liu F, Wei CC, Chenier I, Zhang SL, Filep JG, Ingelfinger JR, Chan JSD.

Centre de recherche, CHUM – Hôtel-Dieu, Montréal.

**Objectif :** Cette étude tente de démontrer si l'apocynin (inhibiteur de la NADPH oxydase) peut prévenir l'action du système rénine-angiotensine (RAS) intrarénal et ainsi atténuer l'apoptose et l'atrophie des cellules de tubules proximaux du rein (RPTC), indépendamment de l'hypertension systémique.

**Méthodes :** Des souris transgéniques (Tg) mâles adultes qui surexpriment l'angiotensinogène (Agt) dans les RPTC ont été séparées en 4 groupes : Tg traité avec placebo, apocynin, hydralazine (vasodilatateur) ou perindopril (inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine). Des souris non-Tg mâles du même âge ont été utilisées comme contrôles. La pression systolique (BP) et l'albuminurie ont été mesurées chaque semaine jusqu'à l'euthanasie des souris à l'âge de 20 semaines. Les reins ont été utilisés pour l'histologie, la mesure de la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'étude de l'apoptose [essai TUNEL, immunostaining de Bax et de caspase-3 active]. Les niveaux d'ARNm de Bax et Bcl-xL ont été mesurés par PCR en temps réel.

**Résultats :** Les souris Tg présentent une augmentation significative de la BP (117 vs 98 mm Hg, p<0,001) et de l'albuminurie (0,8 vs 0,3  $\mu$ g albumine/mg créatinine, p<0,01) par rapport aux souris non-Tg contrôles. L'hydralazine et le perindopril normalisent la BP. L'apocynin et le perindopril normalisent l'albuminurie et le niveau de ROS dans les RPTC. On peut observer 2 fois plus de RPTC apoptotiques ou atrophiées chez les souris Tg (p<0,05). Les traitements avec l'apocynin et le perindopril atténuent ces anomalies. Une augmentation de 2 à 3 fois dans l'expression de la caspase-3 active et de Bax et une réduction de 40% de l'expression de l'ARNm de Bcl-xL sont observées dans les RPTC des souris Tg. L'apocynin et le perindopril permettent de normaliser ces problèmes.

**Conclusion :** Ces résultats démontrent que l'apocynin est efficace pour prévenir l'apoptose et l'atrophie des RPTC, indépendamment de l'hypertension systémique. Ces effets semblent être dus à la suppression de la génération des ROS induite par le RAS intrarénal et la NADPH oxydase dans les RPTC.

## DYSFONCTION ÉRECTILE PRÉCOCE INDUIT PAR L'ANGIOTENSINE II CHEZ LE RAT

Mampouva F, Hale TM, Carrier S, deBlois D.

Département de pharmacologie, Université de Montréal ; Hôpital général juif, Université McGill, Montréal.

**Objectif :** La dysfonction érectile (DE) est un marqueur précoce de risques cardiovasculaires et les bloqueurs AT<sub>1</sub> de l'angiotensine II (Ang II) améliorent la fonction érectile chez les hypertendus. Deux explications sont possibles : la DE favorise un diagnostic précoce ou la fonction érectile est plus sensible aux facteurs de risques cardiovasculaires. La présente étude vise à déterminer si la DE précède les atteintes systémiques au cours d'une infusion chronique d'Ang II. **Méthodes :** Des rats Sprague-Dawley (250 g) ont reçu une infusion chronique d'Ang II (200 ng/kg/min s.c., n=5) ou de saline (n=6) par mini pompes osmotiques pendant 7 jours. On a ensuite mesuré les pressions artérielles moyennes (PAM) et intra-caverneuses (PIC) en réponse à la stimulation électrique du nerf caverneux. Le poids ventriculaire gauche, normalisé selon le poids corporel, a aussi été évalué. **Résultats :** L'Ang II n'a pas affecté significativement la PAM (Ang 86±4mmHg vs saline 97±9mmHg) ni l'hypertrophie cardiaque (Ang 700mg/360g vs saline 683mg/353g) mais a significativement diminué le ratio PIC/PAM (tableau).

Stimulation (Volt)	Saline	AngII	P (Test t Student)
0,9	11±10	1±1	NS
2,0	27±10	14±5	NS
3,7	47±6	25±8	0,025
4,7	50±6	28±6	0,017
5,0	58±6	28±8	0,002
5,5	57±6	26±9	0,003

**Conclusion :** Cette étude révèle que la fonction érectile est un site d'atteinte précoce de l'Ang II, précédant l'élévation de pression artérielle et l'hypertrophie ventriculaire gauche.

## ROSIGLITAZONE DIMINUE L'ACTIVATION DE ERK 1/2 ET DE NFκB INDUITES PAR L'ANGIOTENSINE II : RÔLE DU STRESS OXYDATIF

Marchesi C, Lemarie C, Ebrahimi T, Paradis P, Schiffrin EL.

Unité de recherche vasculaire et hypertension artérielle, Institut Lady Davis pour la recherche médicale, Montréal, Québec.

**Objectifs :** Dans le système vasculaire, le stress oxydatif contribue au développement des processus pathogéniques induits par l'angiotensine II (Ang II) dans l'hypertension artérielle. Des études ont suggéré que les agonistes de PPAR $\gamma$  pourraient avoir un effet protecteur contre le stress oxydatif, l'inflammation et le remodelage pathologique des structures vasculaires. Cependant, les mécanismes régissant le rôle de PPAR $\gamma$  sur le stress oxydatif dans les vaisseaux demeurent inconnus. L'objectif de cette étude a été de déterminer si les agonistes de PPAR $\gamma$  pouvaient moduler le stress oxydatif et par conséquent avoir un effet protecteur contre les dommages vasculaires induit par l'Ang II. **Méthode :** Des cellules musculaires lisses (CML) vasculaires ont été isolées à partir d'artères mésentériques de souris mâles C57Bl6 âgées de 8 semaines. Les cellules ont été stimulées à l'Ang II et traitées ou non avec de l'apocynine, un inhibiteur de la NAD(P)H oxydase, ou avec rosiglitazone, un agoniste de PPAR $\gamma$ . Dans des expériences parallèles, nous avons au préalable transfecté les CML avec un siRNA dirigé contre PPAR $\gamma$  pendant 48h et traité ensuite les CML de la même façon que précédemment. Nous avons évalué la production totale d'anions superoxydes ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) par une méthode fluorescente et mesuré l'activité de la NAD(P)H oxydase à l'aide d'une méthode de chimiluminescence. L'activation de ERK 1/2 et de NFκB a été évaluée par immunobuvardage. **Résultats :** Nous avons montré que la production totale de  $\bullet\text{O}_2^-$  et l'activité de la NAD(P)H oxydase ont augmenté en réponse à l'Ang II. De plus, l'Ang II a augmenté de 50% l'activité de ERK 1/2 et de 70% l'activité de NFκB de manière dépendante de  $\bullet\text{O}_2^-$ . Nous avons également observé une diminution de la production totale de  $\bullet\text{O}_2^-$ , de l'activité de la NAD(P)H oxydase, de l'activité de ERK 1/2 et de NFκB lorsque les CML étaient traitées avec rosiglitazone et Ang II. Finalement, les CML transfectées avec le siRNA de PPAR $\gamma$  ont produit plus de  $\bullet\text{O}_2^-$  et une activité accrue de la NAD(P)H oxydase en réponse à l'Ang II. **Conclusion :** Ces résultats suggèrent que les agonistes de PPAR $\gamma$  diminuent l'inflammation et les dommages vasculaires en régulant des voies de signalisation telles que ERK 1/2 et NFκB induites par l'Ang II, via leur effet protecteur contre le stress oxydatif.

## CLONAGE D'UNE PROTÉINE NUCLÉAIRE LIANT L'ER-GMPc DU PROMOTEUR DE LA GUANYLYL CYCLASE A

Martel G, Cossette S, Hamet P, Tremblay J.

Laboratoire de biologie cellulaire de l'hypertension, Centre de recherche, CHUM, Montréal.

La stimulation du récepteur NPRA/GC-A par son ligand, l'ANP, inhibe l'activité transcriptionnelle du promoteur NPRA/GC-A via un mécanisme dépendant du GMPc. Notre groupe a identifié et défini un élément de réponse au GMPc (ER-GMPc) présent dans le promoteur du gène NPRA/GC-A de l'humain, du rat et de la souris.

**Objectif :** Identifier et caractériser la ou les protéines pouvant lier l'ER-GMPc dans le promoteur du gène de NprA/GC-A chez l'humain.

**Méthodes :** Afin d'identifier la ou les protéines pouvant se lier au ER-GMPc, nous avons construit un vecteur contenant l'ER-GMPc humain et utilisé la technique du simple hybride chez la levure pour cribler une banque de cDNA de rein humain. L'interaction avec l'ER-GMPc fut confirmée par des expériences de retards sur gel (EMSA). Nous avons mesuré, par RT-PCR, l'expression de nos clones dans des cellules Hela et H295R stimulées avec de l'ANP. Des études fonctionnelles ont été menées dans des cellules HEK293 en co-transfiant un promoteur de GC-A couplé à la luciférase et un plasmide codant pour notre clone. Sa localisation cellulaire a été faite grâce à la microscopie de fluorescence en utilisant le marqueur GFP dans des cellules HEK293.

**Résultats :** Nous avons détecté un clone fortement positif qui interagissait avec l'ER-GMPc humain. Ce clone contient un ORF de 348 bp codant pour une petite protéine de 13,2 kDa. Les essais de liaison *in vitro* et d'EMSA ont montré que cette protéine lie de façon spécifique l'ER-GMPc de l'humain et du rat mais beaucoup plus faiblement celui de la souris. Un traitement de 3 heures à l'ANP augmente de 1,6 fois le niveau d'ARNm de cette protéine dans les cellules Hela; dans les cellules H295R, l'augmentation de ses niveaux d'ARNm est associée à une réduction de 30% du transcrit de GC-A. La microscopie à fluorescence montre une localisation nucléaire pour cette nouvelle protéine. Sa co-transfection avec la région promotrice (-2373 à 0 bp) de la GC-A inhibe de 70% de la transcription du gène rapporteur.

**Conclusion :** Nos résultats nous ont permis de démontrer l'existence d'une nouvelle protéine nucléaire pouvant lier l'ER-GMPc du promoteur du NPRA/GC-A et en inhiber l'activité transcriptionnelle.

## IMPLICATION DE LA CYCLOPHILINE-D ET DU PORE DE PERMÉABILITÉ TRANSITIONNELLE DANS LA VULNÉRABILITÉ MITOCHONDRIALE DU CŒUR HYPERTROPHIÉ

Matas J, Ascah A, Marciel M, Deschepper CF, Burelle Y.

Département de kinésiologie de l'Université de Montréal.

**Objectif :** Nos études antérieures ont démontré que la vulnérabilité des mitochondries à l'ouverture du pore de perméabilité transitionnelle (PTP) en réponse au stress constitue un phénomène précoce qui s'observe dans le cœur hypertrophié compensé et précède l'apparition de dysfonctions systoliques et les atteintes mitochondriales sévères typiquement observées dans le cœur insuffisant. L'objectif de ce travail était d'examiner les mécanismes régulateurs du PTP potentiellement impliqués dans ce phénomène.

**Méthode :** L'hypertrophie cardiaque a été induite par une fistule aorto-cavale (ACF) chez le rat WKHA et les expériences ont été conduites à un stade compensé de la pathologie 12 semaines post-chirurgie. Les mitochondries ont été isolées à partir du tissu cardiaque. La vulnérabilité à l'ouverture du PTP induite par le  $\text{Ca}^{2+}$ , la fonction respiratoire, la production de radicaux libres (ROS), le potentiel de membrane ( $\Delta\Psi$ ), les niveaux de  $\text{Ca}^{2+}$  matriciel endogène et la localisation mitochondriale (soluble vs membranaire) de la protéine régulatrice cyclophiline-D (Cyp-D) ont été déterminés.

**Résultats :** La susceptibilité à l'ouverture du PTP induite par surcharge calcique était supérieure dans le groupe ACF vs sham, et ce en absence de dysfonction respiratoire basale. Cet effet persistait en présence de cyclosporine A, un inhibiteur du PTP bloquant la translocation de Cyp-D aux membranes. Le contenu total en Cyp-D ainsi que son ratio membrane/soluble était supérieur dans le groupe ACF. Ce recrutement accru de la Cyp-D aux membranes, connu pour son rôle facilitateur sur l'ouverture du PTP, n'était pas réversible par une incubation *in vitro* avec la CsA. Ces phénomènes étaient également accompagnés par une augmentation de la production de ROS et dans une moindre mesure du  $\text{Ca}^{2+}$  matriciel endogène, deux éléments susceptibles d'expliquer le recrutement de la Cyp-D aux membranes dans le groupe ACF vs sham.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que la modification précoce d'effecteurs clés de l'ouverture du PTP, dont l'expression et la localisation de la cyclophiline-D, contribuent au développement de la vulnérabilité mitochondriale dans le cœur hypertrophié. Ces changements initiaux pourraient prédisposer au développement des dysfonctions mitochondriales sévères et à l'activation de l'apoptose et de la nécrose typiquement observés lors de la transition vers l'insuffisance.

## EFFETS HÉMODYNAMIQUES ET CARDIAQUES DE MOXONIDINE ET D'EPROSARTAN CHEZ LES RATS SHR-SP

<sup>1</sup>Menaour A, <sup>1</sup>Paquette PA, <sup>2</sup>Gillis MA, <sup>2</sup>Shi YF, <sup>2</sup>Calderone A, <sup>2</sup>Tardif JC, <sup>1</sup>Gutkowska J, <sup>1</sup>Mukaddam-Daher S.

<sup>1</sup>Centre de recherche du CHUM Hôtel-Dieu, <sup>2</sup>Institut de cardiologie de Montréal.

**Objectif :** Le traitement chronique avec moxonidine, composé sympatholytique, prévient le développement de l'hypertrophie du ventricule gauche (HVG) chez SHR. Dans ce projet, nous avons étudié les effets hémodynamiques et cardiaques de la moxonidine et/ou de l'eprosartan, un bloqueur des récepteurs AT1 de l'angiotensine. **Méthodes :** Des rats SHR-SP mâles, modèle de l'hypertension humaine, qui développent l'hypertension, l'hypertrophie et la fibrose cardiaques avec l'âge, sont traités durant 8 semaines via des mini-pompes osmotiques (s.c.). Les pressions artérielles (PA) et la fréquence cardiaque (Fc) sont mesurées en continu par télémetrie, alors que la fonction et la structure cardiaques *in vivo* sont déterminées à l'aide d'un cathéter de conductance Millar et par échocardiographie, à la fin du traitement.

Résultats : (n=4/groupe) * p<0.01 vs salin	Salin	Moxonidine 100 µg/kg/h	Eprosartan 30 mg/kg/jour	Moxonidine +Eprosartan
HVG(tibia, mg/mm)	18.7±0.4	17.5±0.4*	15.9±0.3*	14.6±0.6*
ΔPA Moyenne, mmHg	18±3	13±8	-36±8*	-44±8*
ΔFc, bpm	-8±6	-9±6	-1±9	-17±6*
P. télé-diastole VG, mmHg	5.6±0.6	6.9±1.0	5.5±0.4	6.6±0.7
+ dp/dt, mmHg/s	6901±279	6656±339	5835±76*	6214±222
- dp/dt, mmHg/s	-5032±136	-5396±372	-4516±121*	-4982±182
Const. relaxation τ, msec	5.8±0.5	7.3±0.9	4.0±0*	5.8±0.9

Moxonidine diminue les PA et la Fc durant la première semaine de traitement, et après 8 semaines, elle amplifie les effets anti-hypertensifs et bradycardiques de l'eprosartan. Moxonidine diminue la masse du VG, seule ou en combinaison avec eprosartan, par comparaison avec salin, mais sans effets sur les performances cardiaques. Moxonidine n'a pas d'effet significatif mais s'oppose aux effets de l'eprosartan sur +dp/dt, τ et sur les performances diastoliques du VG.

**Conclusion :** Ces travaux révèlent que moxonidine, à des doses qui ne baissent pas la PA, prévient l'HVG et potentialise l'effet anti-hypertensif de l'eprosartan, sans amélioration de la structure et de la fonction cardiaques.

## FAAH2, UN MODULATEUR D'ENDOCANNABINOÏDE, IMPLIQUÉ DANS LA RÉGULATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE CHEZ DES CANADIENS FRANÇAIS

Noël A, Šeda O, Brunelle PL, Tremblay J, Kotchen TA, Gaudet D, Cowley AW, Merlo E, Hamet P.

Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

**Objectif :** L'hypertension (HT) est un des principaux facteurs de risque pour le développement de maladies cardiaques. Un effet du sexe sur la pression artérielle (PA) est déjà fondé dans la littérature ; néanmoins, les mécanismes du chromosome X dans cet effet restent évasifs. En étudiant ce chromosome, nous avons découvert une implication du gène *fatty acid amide hydrolase 2* (FAAH2) dans la régulation de la PA. Celui-ci partage 20% d'identité de séquence avec FAAH1 (Wei, *et al.* 2006). Ces enzymes hydrolysent les acides gras amidés, telle l'anandamide endocannabinoïde (AEC) qui a une activité hypotensive, et contrôlent donc la durée de leur signal. L'étude de Batkai, *et al.* rapporte que les EC suppriment la contractilité cardiaque dans l'HT et qu'une amélioration des effets vasodilatateurs de l'AEC en bloquant sa dégradation par FAAH1 peut normaliser la PA (Batkai, *et al.* 2004).

**Méthodes :** Des tests d'associations basés sur des familles provenant du Saguenay-Lac Saint-Jean, une population géographiquement isolée, ont été effectués. 1204 polymorphismes d'un seul nucléotide (SNPs) situés sur le chromosome X et 529 phénotypes liés à l'HT ont été analysés. Ces tests ont été accomplis chez les 2 sexes, ensemble, séparément et sur des sous-catégories de sujets.

**Résultats :** Une association spécifique aux femmes a été trouvée entre le rs2116366, situé dans l'intron 7 de FAAH2, et la PA systolique (PAS) prise durant 24h. Il y a une différence de 7,4 mmHg entre les homozygotes, les femmes AA ayant une PAS plus élevée; par contre, chez les hommes aucune association n'a été identifiée. L'association apparaît aussi chez les femmes hypertendues et non obèses et la PAS durant la nuit présente un patron similaire pour ce SNP. Pour notre population, l'allèle A est le plus fréquent. Il correspond à ce qui est observé dans la population caucasienne sur HapMap, où 76,7% des chromosomes ont l'allèle A à cette position; tandis que l'allèle G est plus fréquente (98,3%) chez les africains.

**Conclusion :** Ces résultats confirment le rôle du chromosome X dans l'HT et suggèrent une implication de FAAH2 dans la régulation de la PA. Vérifier l'importance de ce gène dans notre population et une autre cohorte contribuera à savoir si FAAH2 pourrait réguler, de la même manière que FAAH1, le signalé des EC au niveau du cœur chez l'humain.

## EFFETS DE LA MOXONIDINE ET DE L'EPROSARTAN SUR L'HVG CHEZ LES RATS SHR-SP

Paquette PA, Menaour A, Gutkowska J, Mukaddam-Daher S.

Centre de recherche du CHUM – Hôtel-Dieu, Département de médecine, Université de Montréal.

**Objectif :** L'hypertrophie cardiaque induite par l'hypertension consiste en une hypertrophie des cardiomyocytes, une fibrose périvasculaire et de la fibrose interstitielle. L'hypertrophie des cardiomyocytes et la fibrose jouent un rôle important dans le développement de la dysfonction ventriculaire en hypertension. L'hyperactivité des systèmes nerveux sympathique et rénine-angiotensine sont impliqués dans le développement de l'hypertrophie du ventricule gauche (HVG). Nous avons démontré que la moxonidine, un composé imidazolinique sympatholytique et agoniste des récepteurs aux imidazolines I<sub>1</sub>, prévient le développement de l'HVG chez les SHR. Ce projet porte sur l'étude des effets sur l'HVG du traitement à la moxonidine en présence ou en absence d'eprosartan, un bloqueur des récepteurs à l'angiotensine (AT1R) qui possède aussi une activité sympatholytique. **Méthodes :** Les expériences ont été réalisées sur des rats SHR-SP, un modèle de l'hypertension humaine, qui développent l'hypertension, l'hypertrophie et la fibrose cardiaques avec l'âge. Les SHR-SP (mâles de 15 semaines d'âge, n=8/groupe) reçoivent la moxonidine (100 µg/kg/h) ± l'eprosartan (30 mg/kg/jour), via mini-pompes osmotiques (s.c.), pendant 8 semaines. À la fin, les rats sont sacrifiés, leurs cœurs sont excisés puis pesés. L'HVG est reportée par normalisation du poids du ventricule gauche sur la longueur du tibia. Des sections transversales du ventricule gauche (n=4/groupe) ont été fixées dans de la paraffine pour une évaluation par microscopie. Le HPS a été utilisé pour colorer des sections de 5-µm d'épaisseur, pour la mesure de l'aire de surface des cardiomyocytes (µm<sup>2</sup>). Les périmètres de 20 myocytes par sections ont été tracés et la moyenne des surfaces est reportée (moyenne ± sem).

Résultats :	Salin	Moxonidine	Eprosartan	Moxonidine +Eprosartan
HVG (mg/mm longueur du tibia)	18.7±0.4	17.3±0.3*	15.9±0.3**	14.6±0.6**
Aire de surface des cardiomyocytes (µm <sup>2</sup> )	527±2.5	480±4.9*	404.8±1.8**	408.1±0.6**

**Conclusion :** Une inhibition efficace du SRA et de l'activité sympathique, au niveau des AT1R et des récepteurs I<sub>1</sub>, réduit l'hypertrophie des cardiomyocytes, résultant en une régression de l'HVG. Ces effets pourraient être associés à une fonction cardiaque améliorée chez ces rats.

## EFFET DE L'ÂGE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA RÉSISTANCE À L'INSULINE CHEZ LE RAT NOURRI AU GLUCOSE ET AU L-NAME

Pilon M, Wu R, Huot-Marchand JÉ, de Champlain J, deBlois D, Couture R.  
Département de physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Un modèle de résistance à l'insuline et d'hypertension artérielle a été développé dans nos laboratoires en soumettant des rats à un traitement chronique au glucose. **Hypothèses** : 1- Une inhibition chronique de la synthèse du monoxyde d'azote (NOS) avec L-NAME peut accélérer l'apparition de la résistance à l'insuline et le développement de l'hypertension chez le rat glucosé, 2- L'âge des rats a un impact sur les résultats obtenus. **Méthodes** : Des rats jeunes (50-75g) et des rats adultes (250g) ont été traités (dans l'eau de boisson) pendant 6 et 4 semaines, respectivement avec : 1- Aucun supplément (Témoins); 2- Glucose (G, 10%); 3- L-NAME (LN, 50 mg/kg/jr); 4- Glucose + L-NAME (G-LN). Les paramètres suivants ont été mesurés: pression artérielle systolique, glycémie, insulémie (RIA kit), résistance à l'insuline (indice HOMA), taux plasmatique d'adrénaline (HPLC), hypertrophie et hyperplasie de l'aorte (dissecteur en 3D), fibrose cardiaque (% de fibres de collagène) et production d'anion superoxyde dans l'aorte et le cœur (chimiluminescence avec la lucigénine). **Résultats** : Chez les rats adultes traités pendant 4 semaines, la pression artérielle, l'insulinémie, la résistance à l'insuline et l'adrénaline plasmatique étaient augmentées chez G et davantage chez G-LN. La production d'anion superoxyde était augmentée dans les aortes de tous les rats traités en comparaison au témoin ainsi que dans le cœur des rats LN. Une augmentation du ratio média-lumière de l'aorte était mesurée chez LN et G-LN sans hyperplasie ou hypertrophie. Aucune fibrose ou surproduction d'anion superoxyde n'a été détectée dans le cœur chez G et G-LN. Le poids corporel et le nombre de calories totales ingérées étaient demeurés constants chez tous les groupes. Les rats jeunes traités pendant 6 semaines ont présenté une augmentation similaire de la pression artérielle et de l'anion superoxyde avec une moins grande élévation de l'insulinémie et de la résistance à l'insuline. **Conclusion** : L'inhibition de la NOS a augmenté la production cardiaque et vasculaire de l'anion superoxyde et a exacerbé, chez le rat glucosé, l'hypertension artérielle et la résistance à l'insuline, entraînant le remodelage vasculaire. Le développement de la résistance à l'insuline semble s'accroître si les traitements au G et G-LN sont initiés chez le rat plus âgé et pourrait résulter d'une diminution des mécanismes de défense.

## INFLUENCE DE LA GROSSESSE ET DU CANRÉNOATE DE POTASSIUM SUR LA RÉACTIVITÉ VASCULAIRE

Provencher M, Houde V, Brochu M, St-Louis J.

Centre de recherche du CHU Ste-Justine, Départements de pharmacologie et d'obstétrique et gynécologie, Université de Montréal.

**Objectif** : La grossesse est accompagnée de plusieurs changements hémodynamiques (diminutions de la pression artérielle et de la résistance périphérique), pour lesquels on a suggéré une implication du potentiel membranaire des cellules musculaires vasculaires. Notre laboratoire a réussi en diminuant l'activité du SRAA, par un supplément sodique, à inhiber la baisse de pression artérielle et à modifier la réactivité vasculaire, nous permettant de créer un modèle d'hypertension gestationnelle. Nous croyons, plus spécifiquement, que les minéralocorticoïdes ont un rôle à jouer dans les changements vasculaires de la grossesse. **Méthodes** : Nous avons traité des rates à partir du jour 15 (sur 22) de gestation avec du canrénoate de potassium (CP) (antagoniste des récepteurs minéralocorticoïdes) 20 mg/kg/j dans l'eau de breuvage. Les animaux ont été sacrifiés aux jours 14, 17, 19 et 22 de gestation. Au sacrifice, des anneaux d'aorte sont placés dans des bains d'organes en présence de solution physiologique sans potassium additionnée d'ouabaïne (0, 0,01, 0,03 et 0,1 mM). Au sommet d'une contraction à la PHe ( $10^{-6}$ M), l'addition graduelle de KCl induit une courbe de relaxation proportionnelle à l'activité de la Na/K-ATPase. La réactivité des anneaux a également été évaluée par une courbe concentration-réponse au tétraéthylammonium (TEA) sous conditions basales et après préincubation des anneaux dans 10mM KCl. **Résultats** : La réponse vasorelaxante au KCl des aortes de rates non traitées au jour 19 semble plus faible que celle des rates aux jours 14 et 17 mais on voit un retour aux valeurs initiales chez les rates du jour 22. Par contre, l'effet inhibiteur de l'ouabaïne sur la relaxation survient à des concentrations plus faibles chez les rates du jour 17. Cet effet est renversé chez les rates qui reçoivent le CP, où l'on voit que l'effet inhibiteur est plus important dans les aortes des rates des jours 19 et 22. Pour les courbes au TEA, dans les aortes des rates non traitées, la réactivité diminue et le temps de gestation alors que chez les rates traitées au CP, il semble y avoir une perte de sensibilité chez les animaux du jour 17. **Conclusions** : L'inhibition des récepteurs aux minéralocorticoïdes amène des modifications de la réponse vasorelaxante au KCl, telles que déterminées par le retardement et l'augmentation de sensibilité à l'ouabaïne. Le CP accélère les diminutions de réactivité au TEA associé à l'avancement de la gestation. Ainsi, les minéralocorticoïdes seraient impliqués dans la gestion du tonus vasculaire en fin de gestation chez le rat.

## MODULATION DE LA LONGUEUR DES TÉLOMÈRES CARDIAQUES EN RÉPONSE À DES TRAITEMENTS ANTIHYPERTENSEURS CHEZ LE SHR

Robillard C, Huot-Marchand JÉ, Des Rosiers C, Hamet P, deBlois D.

Départements de pharmacologie, médecine et nutrition, Université de Montréal.

**Objectifs** : L'hypertension est associée à une hyperplasie cardiovasculaire, un taux de renouvellement cellulaire accéléré et une diminution de la longueur des télomères. Nous avons démontré précédemment que le traitement de rats spontanément hypertendus (SHR) avec des inhibiteurs du système rénine-angiotensine (SRA), mais pas avec le vasodilatateur hydralazine, renverse l'hyperplasie cardiaque via une apoptose sélective des fibroblastes. Nous avons postulé que ce phénomène module la longueur des télomères cardiaques. **Méthodes** : La pression artérielle a été mesurée directement via canulation carotidienne sous anesthésie au pentobarbital à la fin du traitement. L'hypertrophie et hyperplasie du ventricule gauche (VG) ont été évaluées histologiquement et par la mesure du contenu en ADN. Le stress oxydant a été évalué en mesurant l'activité enzymatique de la NADP<sup>+</sup>-isocitrate déshydrogénase (ICDH) et aconitase, deux enzymes sensibles au stress oxydant. La longueur des télomères (TRF : *telomere restriction fragments*) a été mesurée par immunobuvardage de type Southern. Ces mesures ont été effectuées chez des SHR traités avec un placebo, l'énalapril (30 mg/kg/jr, p.o.), le losartan (30 mg/kg/jr, p.o.) ou l'hydralazine (40 mg/kg/jr, p.o.) pendant 21 jours, ainsi que chez les rats normotendus Wistar-Kyoto (WKY). **Résultats** : La PAM du SHR a été réduite par l'hydralazine (23%), l'énalapril (35%) et le losartan (20%). Le contenu en ADN dans le VG était plus élevé chez les SHR traités avec un placebo comparativement au WKY, et fut partiellement normalisé par les inhibiteurs du SRA seulement, un effet associé à la normalisation du nombre de fibroblastes. L'évaluation du stress oxydant ventriculaire n'a révélé aucune différence entre les groupes. Comparativement aux rats WKY, les SHR-placebo ont montré un haut pourcentage de TRF courts dans le ventricule gauche (50,2% vs 64,6%; p<0,05) ainsi qu'une longueur moyenne des TRF plus courte (62,6 Kb vs 57,1Kb; p<0,05). Ces différences ont été abolies par l'énalapril et le losartan mais pas par l'hydralazine. **Conclusion** : La prépondérance de télomères courts associée avec l'hypertrophie cardiaque hypertensive est abolie à la suite de la régression de l'hyperplasie cardiaque par apoptose. Ces effets sont indépendants de la baisse de pression artérielle. Nous spéculons que les fibroblastes cardiaques ayant les télomères courts seraient plus susceptibles d'être éliminés par apoptose en réponse à l'inhibition du SRA.

## L'ŒSTROGÈNE ET LE REMODELAGE VASCULAIRE UTÉRIN DURANT LA GROSSESSE

Scott PA<sup>1,2</sup>, Lavoie JL<sup>3</sup>, Brochu M<sup>1,2</sup>, St-Louis J<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Départements obstétrique-gynécologie; de <sup>2</sup>pharmacologie; de <sup>3</sup>médecine, Université de Montréal, <sup>4</sup>Centre de recherche du CHU Sainte-Justine; <sup>5</sup>Centre de recherche du CHUM, Montréal.

**Objectif** : La vasculature utérine exerce une fonction importante en permettant la perfusion adéquate de l'unité fœto-maternelle durant la grossesse. Pour ce faire, la vasculature utérine subit un impressionnant remodelage. Les niveaux d'œstrogènes augmentent de façon substantielle durant la grossesse, la circulation sanguine étant ainsi exposée à des concentrations inhabituellement élevées de l'hormone. Des études ont démontré que l'infusion d'œstradiol augmentait le flot sanguin utérin chez des brebis non gestantes, reproduisant quelque peu les effets de la grossesse. Notre objectif est d'évaluer l'implication des œstrogènes sur le remodelage vasculaire utérin de la gestation chez la rate.

**Méthode** : Chez la rate, la synthèse d'œstrogènes a été inhibée à partir du 14<sup>e</sup> jour de gestation avec un inhibiteur de l'aromatase (ATD), nous avons mesuré la pression artérielle (télémétrie) durant la gestation ainsi que plusieurs paramètres biochimiques et le poids des fœtus. Chez les rates sacrifiées au dernier jour de la gestation, nous avons mesuré la réactivité des artères utérines isolées à l'angiotensine II et la relaxation à l'œstradiol.

**Résultats** : L'inhibition de l'aromatase durant la gestation diminue le remodelage utérin, ne modifie pas la réactivité vasculaire à l'angiotensine II, la relaxation induite par l'œstrogène, le poids fœtal et la pression artérielle durant la gestation.

**Conclusion** : Nos résultats suggèrent que l'inhibition de la production d'œstrogènes durant la gestation, modifie le remodelage des vaisseaux utérins, mais elle ne semble pas être un élément primordial pour la mise en place des altérations hémodynamiques de la grossesse.

## LOCALISATION ET RÉGULATION DES RÉCEPTEURS AUX IMIDAZOLINES DANS LES CARDIOCYTES EN CULTURE

Terki S, Menaouar A, Gutkowska J, Mukaddam-Daher S.

Laboratoire de biochimie cardiovasculaire, Centre de recherche, CHUM Hôtel-Dieu, Montréal.

**Objectif** : Les récepteurs aux imidazolines I<sub>1</sub> sont des récepteurs non adrénergiques identifiés dans la région rostro-ventrolatérale médullaire du tronc cérébral, qui sont impliqués dans la régulation de la pression artérielle à travers l'inhibition de l'activité sympathique. Nous avons montré la présence de I<sub>1</sub> dans les oreillettes et les ventricules cardiaques. L'objectif de cette étude est de localiser et étudier la régulation de I<sub>1</sub> (nischarin; murine I<sub>1</sub>) dans les cardiomyocytes et les fibroblastes cardiaques.

**Méthodes** : Les cardiomyocytes et les fibroblastes cardiaques de rats nouveau-nés (2-3 jours) sont mis en culture. Au 6<sup>e</sup> jour, les cellules sont privées de sérum durant 18-24 h, puis elles sont stimulées pendant 24 h avec différentes concentrations de norépinéphrine (NE) et d'un agoniste de I<sub>1</sub>, moxonidine ( $10^{-7}$  à  $10^{-4}$  M), séparément ou en combinaison. Les cellules sont ensuite soumises à une lyse cellulaire suivie de deux ultracentrifugations pour séparer les fractions protéiques du cytosol et des membranes cellulaires. Ces deux fractions sont utilisées pour déterminer l'expression protéique de nischarin par Western blot.

**Résultats** : Dans les cardiomyocytes et les fibroblastes, une bande de 260 kDa correspondant à la protéine nischarin a été détectée. Nischarin est présente dans le cytosol et dans les membranes cellulaires avec une prévalence dans le cytosol. Par comparaison aux cardiomyocytes incubées avec DMEM (100%), le traitement avec NE ( $10^5$  et  $10^4$  M) entraîne une augmentation dose-dépendante de nischarin au niveau du cytosol ( $111 \pm 6\%$  et  $117 \pm 7\%$ , p<0,01). De manière similaire, moxonidine ( $10^5$  M) augmente l'expression de nischarin ( $142 \pm 8\%$ , p<0,04) et amplifie l'effet de NE  $10^4$  M ( $151 \pm 18\%$ , p<0,02). Le traitement des fibroblastes avec NE  $10^4$  M entraîne une augmentation de nischarin au niveau du cytosol ( $120 \pm 4\%$ , p<0,05). Moxonidine  $10^5$  M augmente l'expression de nischarin à  $129 \pm 21\%$  et amplifie l'effet de NE  $10^4$  M ( $158 \pm 4\%$ , p<0,05).

**Conclusion** : Nischarin est présente dans les cardiomyocytes et les fibroblastes avec une prévalence dans le cytosol. L'expression de nischarin est augmentée aussi bien avec moxonidine que NE. Les récepteurs aux imidazolines I<sub>1</sub>/nischarin pourraient constituer une cible importante à explorer pour comprendre les mécanismes hypertrophiques de NE et anti-hypertrophiques de moxonidine.

## EFFETS PROTECTEURS DÉPENDANT ET INDÉPENDANTS DE LA PRESSION ARTÉRIELLE LORS DU BLOCAGE DES RÉCEPTEURS AT1 DANS UN MODÈLE D'HYPERTENSION MALIGNE

Therrien F, Agharazii M, Lebel M, Larivière R.

Centre de recherche du CHUQ, Hôtel-Dieu de Québec, Département de médecine, Université Laval, Québec.

**Objectif** : L'objectif de cette étude est d'examiner les effets du losartan, de l'hydralazine et de leur combinaison sur la pression artérielle (PAS), la fonction rénale et l'histopathologie rénale lors de l'inhibition chronique de la synthèse du NO avec le L-NAME.

**Méthodes** : Des rats Harlan Sprague-Dawley (SD) sont divisés en 5 groupes : 1) Témoin; 2) L-NAME (100mg/kg/jour); 3) L-NAME+losartan (20mg/kg/jour); 4) L-NAME+hydralazine (12,5mg/kg/jour); 5) L-NAME+losartan+hydralazine.

**Résultats** : En moins de 3 semaines, les rats L-NAME développent une hypertension maligne et une insuffisance rénale. Les dommages rénaux comprennent une hypertrophie néointimale, de la nécrose fibroïde vasculaire et de la nécrose focale et segmentale des glomérules. À la 3<sup>e</sup> semaine, le losartan et l'hydralazine atténuent l'augmentation de la PAS, le déclin de la fonction rénale et l'apparition des dommages rénaux. Lorsque le traitement au L-NAME est poursuivi pendant 5 semaines, le losartan atténue le déclin de la fonction rénale et le développement des dommages rénaux en dépit d'une baisse modérée, mais significative, de la PAS. En revanche, l'hydralazine n'a eu aucun effet protecteur. La combinaison du losartan+hydralazine offre une meilleure protection comparativement au traitement avec le losartan.

**Conclusion** : Ainsi, l'effet antihypertenseur du losartan et de l'hydralazine retarde la progression de l'hypertension et le développement des dommages rénaux chez les rats SD traités au L-NAME. Cependant, les effets protecteurs tissulaires obtenus lors de blocage des récepteurs AT1 semblent cruciaux pour une protection à long terme.

**LE CHROMOSOME 2 JOUE UN RÔLE IMPORTANT DANS L'INFLAMMATION VASCULAIRE**  
Viel EC, Benkirane K, Paradis P, Schiffrin EL.  
Unité d'hypertension et recherche vasculaire, Institut Lady Davis pour la recherche médicale, Université McGill, Montréal.

**Objectif :** L'inflammation microvasculaire qui contribue à la pathogénèse des maladies cardiovasculaires et à l'hypertension pourrait dépendre d'une prédisposition génétique. Il s'avère que des régions du chromosome 2 (chr2) du rat ont été associées à l'hypertension. Cette étude a pour but d'identifier la contribution du chr2 aux réponses inflammatoires microvasculaires. Notre hypothèse est que le transfert du chr2 de la souche de rat normotendu Brown Norway (BN) à la souche de rat hypertendu Dahl sensible au sel (SS) permet de rétablir la réponse inflammatoire normale qui pourrait être altérée chez les SS.

**Méthodes :** Le modèle contenant le génome du SS et le chr2 du BN est dénommé consomique (SSBN2). La pression a été mesurée par brassard au niveau de la queue et les cytokines par ELISA-bioplex. Les poids tissulaires ont été rapportés sur la longueur du tibia. La régulation des cytokines par l'angiotensine II (Ang II) dans les cellules vasculaires du muscle lisse des artères mésentériques (CMLVs) a été étudiée par immunobuvardage.

**Résultats :** Les rats SS ont montré une pression artérielle plus élevée que les BN et les SSBN2 (176±2 vs 111±6 et 158±4 mmHg respectivement). Les poids du cœur et du lit vasculaire mésentérique ont augmenté chez les SS en comparaison aux BN. Cette augmentation a été significativement réduite chez les SSBN2 ( $P < 0,05$ ). Les niveaux des cytokines plasmatiques (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-10 et TNF $\alpha$ ) ont été augmentés dans les SS ( $P < 0,001$ ) en comparaison aux BN alors que ces niveaux ont été réduits chez les SSBN2. À l'état basal, la sécrétion de l'IL-2 a été observée chez les SS seulement et n'a pas été régulée par l'Ang II. La sécrétion des cytokines IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 et TNF $\alpha$  par les CMLVs n'a pas été détectée alors que celle de l'IL-6 a été stimulée par l'Ang II chez les BN.

**Conclusion :** Ces observations démontrent que le chr2 joue un rôle dans la régulation de la pression sanguine et l'inflammation systémique chez les rats hypertendus Dahl sensibles au sel. De plus, la sécrétion de l'IL-2 par les CMLVs localisées dans les microvaisseaux est modulée par le chr2. En conclusion, le chr2 est impliqué dans la sécrétion vasculaire de IL-2 et peut jouer un rôle important dans l'inflammation vasculaire liée à l'hypertension dépendante du sel.

#### **LE SYSTÈME OXYTOCIN DANS LA CARDIOMYOPATHIE DIABÉTIQUE DES SOURIS DB/DB**

Wang D, Broderick T, Jankowski D, Gutkowska J.  
Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Campus Hôtel-Dieu, Montréal et Département de physiologie, Université de Midwestern, Arizona, États-Unis.

**Objectif :** Les maladies cardiaques sont une cause majeure de mortalité des patients diabétiques. Cette maladie est caractérisée par l'hypertrophie et l'altération du métabolisme, tel que l'utilisation du glucose. L'ocytocin (OT) et son récepteur (OTR) dans le cœur sont impliqués dans des effets bénéfiques, tel que la différenciation des cardiomyocytes et la potentialisation de l'incorporation du glucose par ces cellules. Le système OT cardiaque inclus l'ocytocinase, appelée aminopeptidase régulée par l'insuline (IRAP), présente dans le transporteur de glucose GLUT4. Les effets d'OT cardiaque sont en partie médiés par le peptide atrial natriurétique (ANF). Nous voulons éprouver l'hypothèse qu'une réduction de la fonction du système OT cardiaque, et de ses gènes associés, contribuent au développement de la cardiomyopathie diabétique. **Méthodes :** Cette étude a été effectuée sur des souris *db/db* caractérisées par le phénotype obèse, par une hyperglycémie jusqu'à la semaine 8 due aux deux copies mutantes du gène codant le récepteur leptine. Les souris hétérozygotes *db/+*, d'une même portée, ont été utilisées comme contrôles. Les expressions des gènes et des protéines cardiaques ont été quantifiées par PCR en temps réel et par immunobuvardage. **Résultats :** La comparaison des souris *db/db* avec les contrôles a démontré : 1) augmentation du poids corporel (34,2±1,9 vs 26,2±0,9 g,  $p < 0,05$ ); 2) augmentation de la glycémie (19,6±1,1 vs 4,9±0,8 mmol/L,  $p < 0,05$ ) et 3) réduction du ratio cœur/poids corporel (34,5%,  $p < 0,05$ ). Les souris *db/db* ont démontré une diminution significative de l'ARNm OT cardiaque (76%), OTR (65%), IRAP (60%), BNP (8%), GATA4 (72%), alors que l'expression des transcrits pour ANP, le transporteur de glucose 4 (GLUT4), et TNF $\alpha$  étaient similaires pour les souris *db/db* et *db/+*. L'immunobuvardage a confirmé la diminution pour OTR (62%), GATA4 (60,2%) et a révélé une réduction de la synthèse endothéliale de l'oxyde nitrique (eNOS, 47%) dans les souris *db/db*. **Conclusion :** Les souris nulles pour le gène du récepteur de la leptine ont une réduction du système OT et des gènes régulés par OT, qui sont importants pour la fonction cardiaque : GATA4 et eNOS. Une diminution a été notée pour l'ARNm de BNP, ce qui peut refléter l'obésité des souris *db/db*. Ces données suggèrent une implication du système OT cardiaque dans l'étiologie de la cardiopathie diabétique.

#### **PRÉVENTION PAR ASPIRINE DU STRESS OXYDANT, DE L'HYPERTENSION ET DE LA RÉSISTANCE À L'INSULINE DANS UN MODÈLE EXPÉRIMENTALE ACCÉLÉRÉ DE DIABÈTE TYPE II**

Wu R<sup>1</sup>, Monassier L<sup>2</sup>, Pilon M<sup>1</sup>, Laplante MA<sup>1</sup>, Couture R<sup>1</sup>, de Champlain J<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>Université de Montréal et Institut de recherches cliniques de Montréal, Canada;  
<sup>2</sup>Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France.

**Objectif :** Évaluer les effets de l'aspirine (AAS) et le rôle de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) dans un modèle expérimental accéléré de diabète de type II induit par L-NAME plus glucose.

**Méthode :** Les rats Sprague-Dawley (225-250g) ont été traités oralement avec L-NAME (LN, 50 mg/kg/jour)+glucose (G, 10%) seul ou en combinaison avec AAS (100 mg/kg/jour) pour 4 semaines. Des souris COX-2 Knock-out ont aussi été utilisées avec le traitement LN+G. La production de l'anion superoxyde a été quantifiée par une méthode de chimiluminescence utilisant une faible concentration de lucigénine. La tension artérielle a été mesurée par pléthysmographie sur la queue et la résistance à l'insuline a été calculée avec l'index de HOMA. La masse ventriculaire gauche a été mesurée par échocardiographie.

**Résultats :** Le traitement avec LN+G chez les rats augmente progressivement la tension artérielle de 115,8 ± 2,3 à 171,7 ± 8,7 mmHg, stimule la production de l'anion superoxyde aortique et cardiaque de 30,9% et 27,6% respectivement par rapport aux valeurs initiales et augmente l'index de l'HOMA 5 fois par rapport aux contrôles. Ce traitement a aussi augmenté la masse ventriculaire gauche de 13%. Des résultats similaires ont été aussi observés chez les souris COX-2 Knock-out traitées au LN+G. Le traitement simultané avec AAS a prévenu l'augmentation de la production de l'anion superoxyde aortique et cardiaque, a atténué significativement la tension artérielle de 17%, la masse ventriculaire de 21% et l'index HOMA de 72%. Par contre, le traitement avec l'inhibiteur de COX-2, Nimésulide, n'a démontré aucun effet sur tous ces paramètres.

**Conclusion :** Le traitement de LN+G induit le stress oxydant, l'hypertension, l'hypertrophie cardiaque et la résistance à l'insuline chez les rats et les souris. Ces effets sont indépendants de la voie des COX-2. L'effet préventif de l'AAS indique que le stress oxydant jouerait un rôle important dans la pathogénèse du diabète de type II.

#### **OCYTOCINE-GLY-LYS-ARG (OT-GKR), UNE FORME ALLONGÉE D'OCYTOCINE, STIMULE LES CELLULES SOUCHES CARDIAQUES**

Yu C, Danalache B A, Gutkowska J, Jankowski M.  
Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôtel-Dieu.

Le cœur exprime un système fonctionnel ocytocin/récepteur ocytocin. Dans l'axe hypothalamoneurohypophysaire, l'ocytocine est fractionnée séquentiellement à partir de la pro-hormone OT-Gly-Lys-Arg-neurophysin I. Le mécanisme par lequel l'ocytocine est produite dans le cœur est méconnu. La fonction des intermédiaires de l'OT commence tout juste à être révélée. Récemment, notre laboratoire a démontré qu'un produit intermédiaire, OT-GKR, médie la différenciation des cellules souches embryonnaires en phénotype cardiaque. **Objectif :** En se basant sur ces données, nous avons émis l'hypothèse qu'OT-GKR joue un rôle important dans la différenciation des précurseurs cardiaques en cardiomyocytes. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié l'effet d'OT-GKR, ainsi que de l'OT, sur des cellules souches cardiaques qui ont été isolées comme «*side populations*». **Méthodes :** Les rats nouveau-nés âgés de 2 jours ont été sacrifiés et les cardiomyocytes ont été préparés selon le «*Neonatal Cardiomyocyte Isolation System*» (de Worthington Biochemical Corporation, NJ). Les cardiomyocytes dissociés ont été colorés par Hoechst 33342 et la «*side population*» a pu être identifiée via cytométrie de flux (FACS). La «*side population*» a été définie par la fluorescence faible émise par ces cellules, due au colorant Hoechst qui afflue via le transporteur liant l'ATP, abcg2. L'activité de cette protéine peut être inhibée par la verapamil. En utilisant cette technique, environ 4% des cellules totales vivantes ont pu être isolées comme étant la «*side population*». Suite à l'isolation, les cellules ont été cultivées en présence ou en absence d'OT-GKR et d'OT pour l'expérience de différenciation.

**Résultats :** Dans la «*side population*» isolée, 5,3-7,6% des cellules expriment le récepteur de l'ocytocine. Ces cellules ont également démontré une expression différentielle des marqueurs reliés à cette lignée cellulaire. 10% de ces cellules étaient négatives pour CD31 (antigène endothélial), 90% pour CD45 (marqueur des cellules hématopoïétiques) et 90% exprimaient CD29 (intégrine  $\beta 1$ ). Suite au traitement avec OT-GKR, *ex vivo* pour 18 jours, des cellules contractiles issues de la «*side population*» ont été détectées en culture. Pour caractériser les cellules traitées avec OT-GKR, leur expression de gènes est étudiée par RT-PCR et immunocytochimie. **Conclusion :** Les cultures *ex vivo* des cellules souches cardiaques sont un système expérimental pour déterminer le mécanisme de différenciation. Le rôle thérapeutique de l'ocytocine et ses formes associées dans les accidents cardiaques pourraient être étudiés.

#### **IMPACT CARDIOVASCULAIRE ET MÉTABOLIQUE CHEZ L'ADULTE D'UN STRESS HYPEROXIQUE EN PÉRIODE NÉONATALE**

Zyzdorzyc C, Comte B, Cambonie G, Lavoie JC, Germain N, Lévy E, Touyz RM, Lelièvre-Pégorier M, Nuyt AM.  
Centre de recherche CHU Ste-Justine, Université de Montréal.

Les enfants nés prématurément, près de 10% des nouveau-nés, ont des défenses anti-oxydantes diminuées et sont plus susceptibles au dommage tissulaire par attaque radicalaire menant à des pathologies telles que la rétinopathie du prématuré et la dysplasie broncho-pulmonaire. Cependant, les conséquences cardiovasculaires et métaboliques à long terme d'un stress oxydant néonatal sont méconnues.

**Méthodes :** Des rats Sprague-Dawley furent maintenus dans 80% d'O<sub>2</sub> vs l'air ambiant (AA) du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour de vie. Chez les mâles et les femelles, la tension artérielle (TA, à la queue) a été prise de la 7<sup>e</sup> à la 19<sup>e</sup> semaine; à 19 semaines la réactivité vasculaire (*ex vivo*), la densité microvasculaire (muscle tibial antérieur, immunohistochimie), des indices de stress oxydant (malondialdéhyde plasmatique, production vasculaire d'espèces réactives de l'O<sub>2</sub> (ERO) par hydroéthidine et chimiluminescence avec lucigénine), le nombre de néphrons (digestion par HCl), le profil lipidique et une hyperglycémie provoquée (avec mesure insuline) ont été étudiés. **Résultats :** Tous les résultats présentés sont significatifs et s'appliquent aux 2 genres sauf si spécifié. Chez les rats adultes exposés à l'O<sub>2</sub> vs AA (n= 6 à 8/groupe), i) la TA est augmentée (systolique= 154±1 vs 139±1; diastolique= 121±1 vs 105±1 mmHg); ii) *ex vivo*, la vasoconstriction à l'analogue du thromboxane A2 U46619 et à la phényléphrine est similaire mais la réponse à l'AngII est augmentée (Emax (% KCl 80mM) = 180±5 vs 135±5); iii) la vasodilatation endothélium-dépendante au Carbachol est diminuée (Emin (% U46619 0,3  $\mu$ M) = 64±5 vs 46±7) mais la réponse au donneur de NO, le nitroprussiate de sodium, est similaire; iv) la présence d'un analogue de la superoxyde dismutase normalise la réponse à l'AngII et au Carbachol; v) la densité microvasculaire est moindre (963±47 vs 1405±55/mm<sup>2</sup>); vi) le niveau d'ERO vasculaire (aorte) basal et en réponse à l'AngII, ainsi que de malondialdéhyde (4680±720 vs 1510±280 nmol/L) sont plus élevés; vii) le nombre de néphrons est réduit de 25%; viii) les valeurs plasmatiques de triglycérides, cholestérol et glycémie de base sont similaires, mais les femelles O<sub>2</sub> présentent une insulino-résistance. **Conclusion :** Ces résultats appuient l'hypothèse d'une programmation développementale de maladies cardiovasculaires et métaboliques par un stress oxydant en période néonatale et sont d'une grande importance pour la population croissante de jeunes adultes nés prématurément.