AMÉLIORATION DE LA PERFORMANCE CARDIAQUE PAR LA MOXONIDINE

Aceros H, Menaouar A, Paquette PA, Noiseux N, Mukaddam-Daher S.
Physiologie cardiovasculaire intégrative, Centre de recherche du CHUM St-Luc, Département de médecine et pharmacologie, Université de Montréal.

Le traitement chronique des SHR avec la moxonidine, agoniste sélectif des récepteurs aux imidazolines I_1, régresse l'hypertrophie du ventricule gauche (HVG) par un mécanisme qui inclut la stimulation transitoire de l'apoptose. L'apoptose des cardiomyocytes mène à la dysfonction cardiaque. Cette étude a examiné la fonction cardiaque des SHR après 4 semaines de traitement avec moxonidine.
Méthodes : Des rats SHR (femelles, 12 semaines, n=5-6/groupe) reçoivent en s.c. la moxonidine (0, 100 ou 400 µg/kg/h) durant 4 semaines via des pompes osmotiques. La fonction cardiaque est mesurée par échocardiographie et la pression artérielle moyenne (PAM) avec un cathéter intra-carotide. Les rats sont sacrifiés, les cœurs prélevés, pesés et préparés pour les analyses histologiques.
Résultats : La moxonidine réduit la PAM (156±6 à 143±14 et 137 ±13 mm Hg) et la fréquence cardiaque (369±9 à 314±19 et 272±13 bpm, p<0,001). La moxonidine (400 µg/kg/h) diminue l'HVG (13,3±0,2 vs 11,9±0,4 mg/mm de tibia, p<0,02) et le dépôt de collagène, montré par la coloration au trichome de Masson (75±0,8% du contrôle, 100%). La moxonidine réduit le ratio des ondes E/A (3,5±0,5 vs 1,8±0,1, p<0,01), augmente le temps de décélération de l'onde E et diminue l'index de performance myocardique (0,41±0,02 vs 0,30±0,04, p<0,02), témoignant d'une amélioration de la fonction cardiaque.
Conclusion : L'activation du récepteur I_1, par la moxonidine régresse l'hypertrophie du ventricule gauche, réduit la fibrose et préserve/améliore la fonction cardiaque.

L'EXERCICE D'ENDURANCE DIMINUE LE STRESS OXYDATIF CHEZ DES SOURIS SUREXPRIMANT L'ENDOTHÉLINE-1 DANS L'ENDOTHÉLIUM

Barhoumi T[1,2], Paradis P[1], Kasal D[1], Laurant P[2], Schiffrin EL[1].
[1]Unité de recherches en hypertension artérielle et recherche vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif-SMBD, Université McGill, Montréal, Québec.
[2]EA4278 «physiologie et physiopathologie des adaptations cardiovasculaires à l'exercice» Pôle sportif et de recherche universitaire, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse Avignon, France.

L'utilisation thérapeutique de l'érythropoïétine (EPO) peut favoriser le développement ou exacerber l'hypertension chez des patients ou des modèles animaux souffrant d'insuffisance rénale chronique. Par ailleurs, l'utilisation des bloquants des récepteurs de l'endothéline (ET) de type A diminue l'augmentation de pression induite par l'EPO. L'exercice chronique prévient ou réduit le développement des maladies cardio-vasculaires tel que le diabète et l'hypertension artérielle. Cependant, il n'est pas déterminé si l'exercice prévient ou diminue l'hypertension induite par l'EPO. Nous avons développé des souris transgéniques surexprimant la preproET-1 (eET-1) dans l'endothélium. Ces souris présentent une dysfonction endothéliale, du remodelage hypertrophique et une inflammation vasculaire en l'absence d'hypertension.
Méthodes : Pour déterminer si l'exercice empêche l'hypertension induite par l'EPO, des souris eET-1 mâles (8-10 semaines, n=6) sont traitées ou pas avec l'EPO (100 U/kg, s.c., 3 fois/semaine) et soumises ou pas à un exercice de natation (1 heure/jour, 6 fois/semaine) pendant 8 semaines.
Résultats : Le traitement avec l'EPO a augmenté la pression artérielle systolique de 20% et ceci a été empêché par l'exercice. L'activité de la NADPH oxidase est augmentée de 2 fois (P<0,01) dans l'aorte chez les souris eET-1 et eET-1 traitées avec l'EPO. Cette augmentation a été réduite par l'exercice de 30% (P<0,05). Des résultats similaires ont été observés au niveau du coeur et de la rate.
Conclusion : Nos résultats suggèrent que l'exercice de natation réduit le stress oxydatif chez les souris eET-1 traitées ou pas avec l'EPO et empêche l'élévation de la pression artérielle induite par l'EPO.

RÔLE DES ACIDES GRAS DANS LA CALCIFICATION MÉDIALE DE LA PAROI VASCULAIRE

Brodeur MR. Bouvet C. Moreau P.
Laboratoire de pharmacologie vasculaire, GRUM, Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

Le syndrome métabolique (SMet) est une condition de plus en plus répandue et qui accentue le risque de développer différentes maladies cardiovasculaires. Cette plus grande prévalence est associée à une hausse de la rigidité artérielle qui est notamment causée par une calcification des fibres médiales de la paroi vasculaire. Parmi les facteurs de risques caractérisant le SMet, nous suspectons qu'une hausse des acides gras libres (AGL) en circulation pourrait entraîner une calcification médiale. En effet, différentes études ont montré que par l'intermédiaire de la NADPH oxydase, les AGL induisent la production de produits réactifs oxygénés (ROS), qui ont été associés à l'induction de la calcification.
Méthodes : Nous avons utilisé des cultures primaires de cellules musculaires lisses (SMC) provenant d'aortes de rats. Ces cellules ont été exposées pendant 7 jours à un milieu de calcification contenant ou non du palmitate, qui est un AG saturé abondant dans la circulation. Puis, la quantité de calcium et de ROS associée aux cellules a été mesurée par colorimétrie et par fluorescence, respectivement. Des expériences similaires ont été réalisées avec des segments aortiques de rats non traités et placés dans un milieu de calcification (modèle *ex vivo*).
Résultats : Les résultats montrent que le palmitate entraîne la calcification des SMC. La présence du palmitate entraîne aussi la génération de ROS. Ces ROS proviennent de l'activité de la NADPH oxydase, puisque l'apocynine (un bloqueur de cette enzyme) prévient leur génération. L'inhibition de la NADPH oxydase empêche également la calcification induite par le palmitate. Des résultats similaires ont été obtenus avec le modèle *ex vivo*.
Conclusion : Le palmitate entraîne la calcification des SMC en induisant la production de ROS provenant de l'activité de la NADPH oxydase. Ainsi, des niveaux pathologiques d'AGL saturés, comme ceux retrouvés dans le Smet, pourraient entraîner une calcification médiale.

RÉSOLUTION PAR CONGÉNIQUES DE QTLs À PRESSION ARTÉRIELLE ET ANALYSE DE GÈNES CANDIDATS CHEZ LE RAT

Chauvet C, Ménard A, Roy J, Deng AY.
Centre de recherche du CHUM, Technopôle Angus, Université de Montréal.

L'étiologie de l'hypertension essentielle demeure très peu connue étant donné qu'il s'agit d'une maladie polygénique. La stratégie génétique utilisée repose sur l'identification de loci de traits quantitatifs (QTLs) à partir de souches congéniques dans le but d'identifier, puis d'étudier les gènes présumés responsables de l'hypertension.
Trois QTLs ont été identifiés sur le chromosome 18. Il s'agit de prouver quel gène contenu dans chaque QTL est responsable de la différence de pression artérielle observée entre les deux souches contrastantes : normo- (Lewis) et hypertendues (Dahl Salt-Sensitive, DSS). La région chromosomique C18QTL5 comprend une série de gènes dont les gènes *Adrb2* et *Nedd4l*. *Adrb2* code pour un récepteur β-adrénergique dont on présume un lien avec la PA par la régulation de la fréquence cardiaque. *Nedd4l* code pour une ubiquitine ligase (impliquée dans le syndrome de Liddle) liée au contrôle du volume sanguin et donc à celui de la PA en régulant l'expression des canaux sodium épithéliaux. L'objectif est de vérifier s'il existe des mutations dans la séquence codante de ces deux gènes entre les souches Lewis et DSS qui pourraient expliquer la différence de phénotype observé.
Méthodes : Le séquençage des parties codantes et régulatrices des deux gènes pour les souches DSS et Lewis et leur alignement subséquent nous permettront de constater s'il existe des différences en acides aminés ou au niveau de la régulation de ces gènes entre les deux souches.
Résultats : Le séquençage des deux gènes ne révèle aucune mutation au niveau de leur région codante ni au niveau de leur région promotrices. Des études du niveau d'expression de ces gènes entre DSS et Lewis sont envisagées par *Northern Blot* et par *Real-Time PCR*.
Conclusion : L'absence de différences au niveau des séquences promotrices et codantes ne permet pas d'exclure *Adrb2* et *Nedd4l* comme gènes responsables des QTLs observés. Si une différence au niveau de leur expression est trouvée, des études moléculaires et physiologiques plus poussées seront effectuées et de nouvelles cibles thérapeutiques ou de diagnostique contre l'hypertension pourront être envisagées.

LA TRANSPLANTATION SPINALE DE *OLFACTORY ENSHEATHING CELLS* DIMINUE LA DURÉE DES HYPERTENSIONS SPONTANÉES CHEZ LE RAT PARAPLÉGIQUE

Cloutier F[1], Lauschke J[1], Cahill C[2], Ratneswary S[2], Mackay-Sim A[2], Carrive P[1], Waite PME[1].
[1]School of Medical Sciences, University of New South Wales, Sydney, Australia.
[2]Institute for Cell and Molecular Therapies, Griffith University, Brisbane, Australia.

Les patients avec une lésion spinale haute thoracique souffrent de dysfonctions autonomiques (DAs) caractérisées par une augmentation très forte et soudaine de la pression artérielle (PA). Ce phénomène peut être déclenché simplement par un exercice routinier comme l'implantation d'un cathéter dans l'urètre ou par une distension colorectale causée par la constipation. Les DAs non traitées peuvent avoir de lourdes conséquences, incluant une hémorragie cérébrale, un détachement de la rétine, un accident cardiovasculaire et même entraîner la mort. Notre laboratoire a précédemment montré que la transplantation de cellules gliales provenant du bulbe olfactif, nommées *Olfactory Ensheathing Cells* (OECs), au site de la lésion réduit la durée de la DA. Fait important, ces effets bénéfiques sont corrélés avec des changements morphologiques des neurones préganglionaires sympathiques (NPSs) suggérant un effet trophique des OECs. **Objectif :** Évaluer si la transplantation d'OECs à proximité des NPSs peut réduire les DAs. **Méthodes :** Les rats ont subi une section complète de la moelle épinière au niveau du quatrième segment thoracique (n=16). Ensuite, ceux-ci ont été transplantés (0,5 μL ~50000 cellules) avec des OECs (n=8) à proximité des NPSs rostral et caudal à la lésion. Les rats témoins ont été transplantés avec des fibroblastes (n=8). À 6, 7 et 8 semaines après la lésion, les DAs ont été induites par une distension colorectale à l'aide d'un cathéter à extrémité gonflable. La PA a été enregistrée chez le rat éveillé restreint à l'aide d'une sonde télémétrique dont le cathéter a été implanté de façon permanente dans l'aorte. Les OECs ont été génétiquement modifiés pour exprimer la protéine fluorescente verte.
Résultats : Chez les deux groupes, les distensions colorectales ont évoqué une augmentation de la PA accompagnée. Tandis qu'aucune différence n'a été trouvée entre l'effet maximal sur la PA, le T_{50} (temps pour la PA de diminuer de 50% de sa valeur maximale) était significativement plus court chez les rats ayant reçu les OECs comparativement aux rats témoins (187,3±7s vs 227,3±11s; P < 0,05). Les OECs ont été localisés à proximité des NPSs. **Conclusion :** Nos résultats renforcent l'hypothèse que les OECs peuvent abréger les DAs par une interaction avec les NPSs.

L'HYPERTENSION LIÉE À UN STRESS HYPEROXIQUE NÉONATAL EST ASSOCIÉE À UNE AUGMENTATION DES RÉCEPTEURS AT_1 DANS LE NTS CHEZ LE RAT ADULTE

Cloutier F, Yzydorczyk C, Sénécal J, Germain N, Nuyt AM.
Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal.

Nous avons précédemment montré que l'exposition néonatale à un stress hyperoxique (O_2) est associée à une élévation de la pression artérielle (PA) chez le jeune rat adulte (9-16 semaines). Les récepteurs à l'angiotensine AT_1 localisés dans les noyaux hypothalamiques paraventriculaires (PVN), les organes circumventriculaires et le noyau du tractus solitaire (NTS) jouent un rôle important dans la régulation de la pression artérielle (PA). Notamment, des études précédentes ont montré une augmentation du nombre de récepteurs AT_1 dans ces régions dans d'autres modèles de programmation développementale de l'hypertension artérielle. **Objectif :** Quantifier la densité de récepteurs AT_1 dans le PVN, les organes circumventriculaires et le NTS chez les rats adultes exposés ou non à l'O_2 en période néonatale. **Méthodes :** Des rats Sprague-Dawley (mâles et femelles) nouveau-nés ont été exposés à 80% d'O_2 (Groupe O_2, n = 3) ou à l'air ambiant (Groupe contrôle, AA, n = 3) entre la troisième et la dixième journée post-natale. À 23-25 semaines de vie, la PA a été mesurée chez le rat vigile restreint avec la méthode de pléthysmographie de la queue. La densité de récepteurs AT_1 a été évaluée par autoradiographie. Des sections de 20 µm de cerveau et du tronc cérébral ont été incubées en présence du ligand radioactif ^{125}I-Sar[1], Ile[8]-Angiotensin II (250pM) plus ou moins losartan (10^{-5}M), un antagoniste des récepteurs AT_1. L'équivalent non iodé a été utilisé pour le déplacement des liaisons non spécifiques. **Résultats :** La PA moyenne est significativement plus élevée chez les rats du groupe O_2 comparativement aux rats du groupe AA (130 ± 6 vs 117 ± 3 mmHg, P < 0,01). Tandis qu'aucune différence n'est observée entre les deux groupes dans les régions du PVN et les organes circumventriculaires; la densité de récepteur AT_1 dans le NTS est significativement augmentée chez le groupe O_2 comparativement aux rats du groupe AA (22 ± 0,5 vs 18 ± 1 fmole mg[1] tissu, P < 0,01). **Conclusion :** Nos résultats révèlent que l'augmentation de la PA tributaire de l'hyperoxie néonatale est accompagnée d'une augmentation de la densité de récepteurs AT_1 spécifiquement dans le NTS. D'autres études seront nécessaires afin d'établir si cette augmentation est une conséquence ou si elle fait partie des causes de l'établissement de l'hypertension artérielle suivant un stress hyperoxique néonatale.

LE RÉTABLISSEMENT DE MIR-204 RENVERSE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE CHEZ L'HOMME ET DANS UN MODÈLE ANIMAL

Courboulin A, Giguère N, Paquet E, Paulin R, Simard M, Bonnet S.
CHUQ, Département de médecine, Université Laval, Québec.

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une pathologie vasculaire à remodelage, caractérisée par une prolifération des cellules musculaires lisses de l'artère pulmonaire (CMLAP) et une résistance à l'apoptose. Nous avons montré que le maintien de ce phénotype, à long terme, implique la régulation du facteur de transcription NFAT (*nuclear factor of activated T-cell*). Le mécanisme par lequel NFAT est activé dans les CMLAP-HTAP reste inconnu. À travers leur interaction avec l'ARNm, les microRNAs apparaissent comme d'importants régulateurs de l'expression génique. Néanmoins, l'implication des miRNAs dans l'HTAP reste à démontrer. **Méthodes/résultats :** En utilisant le TaqMan, à haut débit (TLDA), 10 miRNAs ont été identifiés diminués et 6 augmentés dans les CMLAP-HTAP humaines versus les CMLAP saines (n=4 p<0,05). Les puces à ADN et le *Gene Sets Enrichment Analysis* montrent que la voie NFAT est suractivée dans les CMLAP-HTAP comparées aux saines (n=4 p<0,05). Par une analyse recoupant les puces à ADN, TLDA et des prédictions *in silico* (targetscan 5,1), nous avons montré que parmi ces 16 miRNAs altérés, 7 (miR-27b; 29; 106b; 101; 204; 367 et 450) sont prédits comme des activateurs potentiels de la voie NFAT (p<0,05). MiR-204 est le plus diminué dans l'HTAP (7 fois p<0,05 n=4) et se situe dans le gène TRPM3 (canal TRP: en cause dans l'étiologie de l'HTAP). *In vitro*, dans les CMLAP saines, nous avons démontré l'interaction directe de miR-204 avec la région 3'UTR de NFATc1, entrainant son inhibition, alors que la diminution de miR-204 dans les CMLAP-HTAP est associée à une augmentation de l'expression/activation de NFAT (n=5 p<0,05 essai luciférase); favorisant la prolifération des CMLAP-HTAP (p<0,05 PCNA) et une résistance à l'apoptose (p<0,05 TMRM&TUNEL). Le rétablissement de l'expression de miR-204 (*mimics*) dans les CMLAP-HTAP renverse ces anormalités, alors que son inhibition dans les cellules saines les mime. Similaire à l'homme, miR-204 est diminué chez des rats HTAP par la monocrotaline (n=8 p<0,001) et l'activation *in vivo* par les *mimics* (nébulisation) diminue l'HTAP (n=8 p<0,05). **Conclusion :** Nous avons démontré pour la première fois l'implication de l'expression inappropriée des miRNAs dans l'HTAP chez l'homme et sur un modèle expérimental. Alors que le rôle des autres miRNAs identifiés reste à établir, nous pensons avoir trouvé une nouvelle voie intéressante pour de futures thérapies de l'HTAP.

IDENTIFICATION ET VALIDATION DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE CHEZ DES SOUCHES CONGÉNIQUES DE RATS

Crespo K, Chauvet C, Roy J, Deng AY.
Centre des biotechnologies Angus, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur dans le développement des maladies cardiovasculaires fatales. Chez l'humain, de nombreux gènes en cause dans la régulation de la pression artérielle ont été découverts mais non leurs mécanismes. Notre objectif est l'identification des *loci* à traits quantitatifs (QTLs) impliqués dans la régulation de la pression artérielle chez le rat et trouvant leurs homologues chez l'humain.
Méthodes : Le séquençage des régions codantes et des régions régulatrices des gènes potentiels mène à l'identification de gènes contenant des mutations. La mise en évidence de *Crossing-Over* via le génotypage de nos souches congéniques permet de réduire au maximum les régions chromosomiques d'intérêt. L'analyse du séquençage se fait par alignement des séquences de gènes candidats chez deux souches contrastantes de rats : une souche normo-tendue (Lewis) et une souche hypertendue (*Dahl-Salt-Sensitive*, DSS).
Des études antérieures ont montré que le chromosome 8 du rat présente un QTL contenant le gène CSK qui, d'après une revue de la littérature trouve son homologue sur le chromosome 15 humain. Ainsi compris dans nos congéniques, CSK (C-Src tyrosine kinase) serait un bon candidat pour réguler la pression artérielle. CSK code pour une tyrosine kinase cytoplasmique qui est en cause dans la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires Angiotensine II dépendante.
Résultats : Le séquençage de CSK est presque achevé et n'a pas encore montré de mutation responsable d'un changement de la séquence en acides aminés entre DSS et Lewis. Cependant, si la partie codante du gène ne montre pas de mutation, la région promotrice de CSK sera séquencée afin de déterminer si le niveau d'expression du gène varie entre DSS et Lewis. De plus, d'autres gènes candidats qui semblent moduler la pression sanguine chez l'humain et qui trouvent leurs homologues chez le rat dans ce même QTL sont en cours d'étude.
Conclusion : La découverte d'une mutation dans un gène candidat donnera suite à des études *in vitro* destinées à tester l'effet de ce gène sur la fonction physiologique. Ainsi des techniques de diagnostic ou de thérapie contre l'hypertension pourront voir le jour.

L'OCYTOCINE STIMULE LA DIFFÉRENCIATION DES PROGÉNITEURS CARDIAQUES EN CARDIOMYOCYTES

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

L'hormone neurophyseal, l'ocytocine (OT) induit la différenciation des cellules souches embryonnaires et somatiques de rongeurs en cardiomyocytes (CM). Le cœur exprime un système OT/OTR fonctionnel. Nous avons émis l'hypothèse que l'OT joue un rôle dans la différenciation des progéniteurs des cellules endogènes cardiaques dans le cœur. Une population de cellules souches présentes dans le cœur, appelée *side population* (SP), est capable de se différencier en CM. La localisation des cellules SP et les formes moléculaires d'OT dans le cœur du fœtus ont été analysées. La capacité des OT d'induire la cardiomyogenèse dans les cellules SP a été étudiée dans des cultures cellulaires. **Méthode :** L'immunocytochimie et l'immunofluorescence ont été utilisées dans les sections de l'embryon de souris (E11, E15), pour détecter : l'OT, OT molécule allongé - OT-GKR, OTR et le transporteur de l'ATP binding cassette (ABCG2, pour marquer les cellules SP). Les CM ventriculaires ont été isolés dans le cœur de rats Sprague-Dawley de 2-4 jours. Les cellules SP, présentes dans l'échantillon des CM, ont été séparées par cytométrie en flux comme une fraction de cellules, qui rejette le colorant Hoechst33.342. Un triage supplémentaire avec un anticorps spécifique pour le marqueur CD31 (PECAM-1) a été utilisé pour sélectionner des cellules SP. La différenciation des CM a été induite dans des sphéroïdes en 3D pour 5 jours. **Résultats :** Un fort immunomarquage d'OT-GKR a été observé dans le cœur et les somites. L'OTR a été en partie colocalisé avec ABCG2 chez le cœur fœtal de souris. L'analyse FACS a révélé 4% de cellules SP dans la population totale des CM. Cinq pour-cent de cellules SP expriment OTR, alors que seulement 1,3% de la population principale de CM colorimétriquement analysée a montré que seulement les cellules SP-CD31$^-$, mais non les SP-CD31POS, prolifèrent en présence de l'OT-GKR (10^{-7}M). OT-GKR stimule l'agrégation des cellules SP-CD31$^-$ et la formation de colonies cellulaires battantes. Les premiers battements cellulaires ont été détectés après 11 jours (2/24±04) et 13/24±06 colonies après 16 jours. L'immunofluorescence a montré dans les colonies, l'expression de marqueurs cardiaques : troponine, actinine et MLC2V, confirmant un phénotype cardiaque. **Conclusion :** Nos résultats suggèrent que les cellules souches cardiaques spécifiques de la population ABC2G$^+$, CD31$^-$, OTR$^+$ ont une puissante capacité de différenciation en CM.

ÉTUDE DE LA CARBOXYLATION DE LA *MATRIX GLA PROTEIN* COMME DÉTERMINANT DE LA CALCIFICATION VASCULAIRE ASSOCIÉE AU DIABÈTE – DONNÉES PRÉLIMINAIRES

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

L'hypertension systolique isolée et l'augmentation de la pression pulsée sont deux conséquences de l'augmentation de la rigidité vasculaire observée chez près de la moitié des personnes âgées de plus de 60 ans et chez les patients diabétiques. La rigidité artérielle est accélérée de 15 ans chez les diabétiques et est considérée comme étant le plus important prédicteur de la mortalité cardiovasculaire chez les diabétiques de type 2. La *Matrix Gla Protein* (MGP) est une protéine anti-calcifiante, dont l'activité est régie par la γ-glutamyl-carboxylase (GGCX) selon un processus dépendant de la vitamine K. L'enzyme responsable du recyclage de la vitamine K est la *Vitamin K epoxide reductase* (VKOR). Une altération dans ce recyclage, et par conséquent dans l'apport de la vitamine K sous sa forme active à la GGCX, pourrait ainsi influencer le degré de maturation de la MGP. La modulation de l'activité de la GGCX et de la VKOR en présence de diabète n'est pas connue. **Méthodes :** Le diabète de type 1 a été induit chez des rats Wistar mâles âgés de 6 semaines par une injection de 60 mg/kg de streptozotocine (STZ). Les rats diabétiques ont été sacrifiés 2 mois après l'injection de STZ. Les paramètres hémodynamiques ont été mesurés par canulation de la carotide et de la fémorale. La mesure de la déposition de calcium au niveau vasculaire et les concentrations plasmatiques de MGP totale ont été mesurées par une méthode spectrophotométrique. **Résultats :** Les rats diabétiques n'ont présenté aucune différence quant à la pression pulsée et à la vitesse de l'onde de pouls, indices de rigidité artérielle, comparativement au groupe témoin. La déposition de calcium au niveau des fémorales était augmentée significativement chez les rats diabétiques. De plus, il a été observé que la MGP totale (MGPt) circulante au niveau plasmatique, incluant les formes carboxylées et non-carboxylées, était diminuée significativement (↓13,5±5,1%) par rapport au groupe contrôle. **Conclusion :** Nos résultats indiquent que la présence de diabète pourrait amener une modification du système γ-carboxylase étant donné la diminution des concentrations plasmatiques de MGP totale chez les rats diabétiques. L'étude de la modulation de l'activité des enzymes impliquées dans la γ-carboxylation de la MGP, soit la GGCX et la VKOR, est en cours.

ACTIVATION DE LA KINASE IκB PAR PKCα ET TAK1 DANS LES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES EXPOSÉES À L'ANGIOTENSINE II

Doyon P, Servant M.
Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

L'angiotensine II (Ang II) est une hormone vasoactive jouant un rôle dans le développement de pathologies cardiovasculaires en influençant, entre autres, l'expression de plusieurs gènes proinflammatoires étant sous le contrôle du facteur de transcription NFκB. Nous avons précédemment démontré que les activités proinflammatoires de l'Ang II sont dépendantes de la phosphorylation de la sous-unité p65 de NFκB par le complexe IκB kinase (IKK) dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). L'activation du complexe IKK est modulée, en partie, via la phosphorylation de sa sous-unité catalytique IKKβ au niveau des résidus 177 et 181, situés dans la loupe d'activation de la protéine. Deux protéines kinases, soit TAK1 et MEKK3, sont connues pour être en cause dans ce processus post-traductionnel induit par des agonistes, tel le TNFα et IL-1β. Par contre, les kinases impliquées dans la phosphorylation de la loupe d'activation de IKKβ à la suite d'une stimulation à l'Ang II restent encore inconnues. L'objectif principal de l'étude est donc de déterminer les effecteurs engagés au niveau de la phosphorylation de IKKβ et, conséquemment, de l'activation du complexe IKK. **Méthodes :** Immunobuvardage, PCR, essai rapporteur, EMSA, essai kinase *in vitro*, utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques et ARN interférent.
Résultats : La phosphorylation de IKKβ est induite rapidement par l'Ang II et le traitement avec un inhibiteur (Gö6976) ou avec un ARN interférent visant la kinase PKCα bloque cette phosphorylation précoce. L'inhibition de cette kinase diminue également l'activité phosphotransférase du complexe et la capacité de NFκB à lier l'ADN. Nous avons également observé que le traitement ARN interférent visant PKCα inhibe la phosphorylation de TAK1 induite par l'Ang II et que l'ARN interférent visant TAK1 inhibe la phosphorylation précoce de IKKβ.
Conclusion : L'activation du complexe IKK induite par l'Ang II engage une voie signalétique rapide impliquant les kinases PKCα et TAK1. Ainsi, cette étude met à jour deux nouvelles cibles thérapeutiques potentielles au niveau des maladies cardiovasculaires mettant en cause l'Ang II.

MODULATION DU CYCLE CELLULAIRE PAR LE RÉCEPTEUR NPR-C DANS LES CELLULES DU MUSCLE LISSE VASCULAIRE : MÉCANISMES MOLÉCULAIRES

El Andalousi J, Li Y, Anand-Srivastava M.
Département de physiologie, Université de Montréal.

L'augmentation de la prolifération des cellules du muscle lisse vasculaire (CMLV) est un processus impliqué dans plusieurs maladies cardiovasculaires dont l'hypertension. Nous avons précédemment montré que l'activation du récepteur natriurétique de type C (NPR-C) diminue la prolifération induite par les peptides vasoactifs. Dans cette présente étude, nous voulons déterminer si l'activation de NPR-C inhibe la prolifération des CMVL provenant de rats spontanément hypertendus (SHR) via l'expression des composantes de la phase G1 du cycle cellulaire. Méthode : La synthèse d'ADN a été évaluée par incorporation de thymidine[3H] dans les CMLV de rats SHR et Wistar-Kyoto (WKY) en présence de C-ANP$_{4\text{-}23}$ (agoniste spécifique à NPR-C), NSC 625987 (inhibiteur sélectif du complexe cyclin D1/cdk4) ou de NU 2058 (inhibiteur sélectif de cdk2). Des CMLV de rats SHR et WKY ont été traitées avec C-ANP$_{4\text{-}23}$ (10^{-7}M), PD 98059 (10μM), wortmannin (100nM) ou la toxine pertussis (0,1 µg/ml). Les cellules ont été lysées afin de recueillir les protéines. L'expression des protéines a été déterminée par immubuvardage de type Western avec des anticorps spécifiques. Résultats : Les CMLV de rats SHR ont montré un taux de prolifération plus élevé que celles des WKY. Cependant, la présence de C-ANP$_{4\text{-}23}$ (10^{-7}M) a diminué la prolifération de manière dose-dépendante démontrant ainsi que l'activation du récepteur NPR-C diminue la prolifération des CMLV de SHR. Puisque la prolifération est contrôlée par le cycle cellulaire, nous avons examiné le rôle du complexe cyclin D1/cdk4 et de cdk2 dans la prolifération des CMLV de SHR. En effet, la prolifération des CMLV de SHR a diminué de manière dose-dépendante en présence NSC 625987 ou de NU 2058. De plus, l'expression protéique de la cycline D1, cdk2 et de pRb est augmentée dans les CMLV de rats SHR comparativement à celles des CMVL de WKY. Leur expression est diminuée par la présence de C-ANP$_{4\text{-}23}$. Dans le but de déterminer par quels mécanismes NPR-C diminue l'expression des composantes de la phase G1, des inhibiteurs de Gi, de MEK et de la PI3K ont été utilisés. Ils ont diminué l'expression de la cycline D1 et de cdk2 suggérant que NPR-C diminue leur expression en régulant ces voies. Conclusion : Ces résultats suggèrent que l'activation du récepteur NPR-C diminue la prolifération par l'inhibition de l'expression des composantes de la phase G1 du cycle cellulaire via Gi et des voies MAP kinases/AKT.

EFFETS DE L'ACIDE LIPOIQUE SUR L'EXPRESSION DES PPAR-α, LE REMODELAGE VASCULAIRE ET LE STRESS OXYDATIF CHEZ DES RATS INSULINO-RÉSISTANTS

El Midaoui A, Lungu C, Wang H, Wu L, Robillard C, DeBlois D, de Champlain J, Couture R.
Département de physiologie, Université de Montréal.

Objectif : Cette étude a été entreprise pour examiner les effets de l'acide alpha-lipoique (AL) sur la production de l'anion superoxyde (O_{2-}), les niveaux d'expression des PPAR-α au niveau hépatique, les niveaux plasmatiques des acides gras libres (FFA), le remodelage aortique dans un modèle de rat d'insulino-résistance. **Méthodes :** Des rats mâles Sprague Dawley (50-75 g) ont été traités par 10% de glucose dans leur breuvage combiné par une diète normale ou supplémentée en AL et ce durant 12 semaines. Le stress oxydatif a été évalué par la mesure de l'O_{2-} selon la technique de la lucigenine. La surface de section (CSA) de la média et de la lumière aortique ainsi que le nombre des cellules musculaires lisses ont été déterminés histologiquement. **Résultats :** Le traitement chronique au glucose a entraîné une augmentation de la pression artérielle systolique (PAS), des niveaux plasmatiques d'insuline et de glucose et un développement d'une résistance à l'insuline. Tous ces effets causés par le glucose ont été atténués par l'AL. Le traitement au glucose n'a eu aucun effet sur les niveaux d'expression des PPAR-α au niveau hépatique. Cependant, ce traitement a provoqué une diminution des niveaux de FFA. L'AL a provoqué une diminution de la production aortique et hépatique de l'O_{2-}, du poids corporel et des niveaux de FFA aussi bien chez des rats témoins que chez des rats traités au glucose. Les niveaux d'expression des PPAR-α ont été augmentés par l'AL. Une corrélation négative a été observée entre les PPAR-α au niveau du foie et les niveaux de FFA. La surface de section (CSA) médiale a été diminuée chez tous les groupes de rats traités au glucose. Une corrélation positive a été observée entre la CSA médiale et les niveaux de FFA. Par contre, aucune corrélation n'a été observée entre la CSA médiale et la PAS ou la production de l'O_{2-}. Le traitement au glucose a aussi causé une diminution de la lumière aortique. Par conséquent, le rapport média/lumière n'a pas été modifié. **Conclusion :** La capacité de l'acide lipoique à réduire les niveaux des FFA est expliquée en partie par une augmentation des niveaux d'expression hépatique des PPAR-α qui pourrait affecter positivement la résistance à l'insuline. Le modèle nourri au glucose peut servir comme un modèle unique de remodelage aortique atrophique dans l'hypertension artérielle et le syndrome métabolique.

ACCÉLÉRATION DE LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE DURANT LE SYNDROME MÉTABOLIQUE : RÔLE DU COMPLEXE VITAMINE K ÉPOXYDE RÉDUCTASE-GAMMA CARBOXYLASE

Emonnot L, Côté N, Mathieu P, Moreau P.
Laboratoire de pharmacologie cardiovasculaire, Université de Montréal.

Le complexe enzymatique VKOR gamma-carboxylase active des protéines anticalcifiantes au niveau vasculaire. Nous avons pensé qu'une altération de ce complexe enzymatique pouvait expliquer les phénomènes de calcification et de rigidification cardiovasculaire au cours du diabète et du syndrome métabolique (SM). **Méthodes :** Des rats âgés de 4 semaines ont été utilisés et séparés en 3 groupes : *1-* contrôle, *2-* recevant un régime riche en lipides et en sucrose (SM) et *3-* recevant un régime SM ainsi qu'une administration de vitamine K (2,5 mg/2 jours, s.c.). Après deux mois, le sang est prélevé afin de mesurer la glycémie, l'insulinémie, les marqueurs du métabolisme calcique (ostéocalcine carboxylée/non carboxylée, *Matrix Gla Protein*), les triglycérides, le cholestérol total ainsi que les HDL. La pression artérielle (PA) et l'onde de pouls (ODP) ont également été mesurées. **Résultats :** Bien que les 3 groupes de rats aient un poids et une glycémie similaires, le groupe SM est caractérisé par une hypertriglycéridémie, une diminution du cholestérol HDL et une hyperinsulinémie. L'ODP ainsi que la PA sont augmentées chez les rats SM. L'administration de vitamine K normalise le niveau plasmatique des triglycérides et de l'insuline et tend à améliorer les valeurs de PA et d'ODP. Le groupe SM ne présente ni modification du niveau plasmatique des marqueurs du métabolisme calcique ni calcification vasculaire. Pour déterminer la contribution de la fibrose dans l'augmentation de l'ODP, l'expression de la fibronectine a été mesurée. Une augmentation significative de son expression chez les rats SM et une tendance à la réduction sous administration de vitamine K ont été observées. Pour comprendre l'effet du SM sur la rigidité artérielle, nous avons utilisé un modèle *ex vivo* d'aorte en culture. À des aortes contrôles, un mélange d'acides gras libres (AGL) a été ajouté à différentes concentrations (100 uM, 200 uM et 1 mM) avec ou sans insuline (100 nM), durant 6 jours. Les AGL (200 uM et 1 mM) augmentent significativement la calcification de l'aorte en *ex vivo* alors que l'insuline n'influence pas cette calcification AGL dépendante. **Conclusion** : Notre étude démontre que la dyslipidémie du SM est certainement en cause dans l'augmentation de la rigidité artérielle observée dans un environnement complexe de SM. De plus, il semble exister un nouveau potentiel thérapeutique de la vitamine K dans ce contexte.

EFFET DE L'ÉRYTHROPOÏÉTINE SUR LA RÉPONSE ENDOTHÉLINERGIQUE

Falardeau B, Bélanger S, Larivière R, Lebel M.
Centre de recherche du CHUQ, Hôtel-Dieu de Québec, Département de médecine, Université Laval, Québec.

Objectif : L'administration d'érythropoïétine recombinante humaine (EPO) en insuffisance rénale chronique (IRC) corrige l'anémie, mais augmente la pression artérielle (PA). Par contre, l'EPO n'a pas d'effet sur la PA en conditions normales. L'effet presseur de l'EPO en IRC est associé à une augmentation de la production d'endothéline-1 (ET-1) et à une baisse de l'expression du récepteur ET_B. Celui-ci est responsable de l'effet vasodilatateur induit par l'ET-1 *in vivo*. Cette étude vise à évaluer l'effet de l'EPO sur la réponse vasodilatatrice médiée par le récepteur ET_B chez les rats normaux et urémiques.
Méthodes : Ces animaux sont divisés en 2 groupes et reçoivent pendant 3 semaines, par voie s.c., soit le véhicule (saline 0,9%) soit l'EPO (100 u/kg). La réponse hémodynamique de la pression artérielle *in vivo* à l'ET-1 est mesurée par l'artère carotidienne. L'ET-1, l'IRL-1620, un agoniste sélectif des récepteurs ET_B, et les antagonistes ET_A (BQ123) et ET_B, (A192621) sont administrés par la veine jugulaire.
Résultats : Les animaux normaux et urémiques qui reçoivent l'EPO ont un hématocrite plus élevé, mais ce traitement augmente seulement la PA des animaux urémiques. L'injection d'ET-1 induit une forte réponse hypotensive transitoire suivie d'une réponse hypertensive prolongée. Cette réponse hypotensive est augmentée chez les animaux urémiques traités à l'EPO, un phénomène qui n'est pas observé chez les animaux normaux recevant l'EPO. L'IRL-1620 produit un effet vasodilatateur similaire à l'ET-1 sans causer d'hypertension. Cet effet vasodilatateur induit par l'IRL-1620 est augmenté chez les animaux normaux et urémiques traités à l'EPO comparativement aux animaux recevant le véhicule. Cependant, nous avons démontré par western blot que la protéine eNOS est diminuée chez les animaux urémiques traités à l'EPO.
Conclusion : Les résultats obtenus jusqu'à présent indiquent que l'EPO module la réponse vasodilatatrice médiée par le récepteur ET_B chez le rat normal et urémique.

L'ENTRAÎNEMENT PHYSIQUE RÉDUIT LES SYMPTÔMES DE PRÉÉCLAMPSIE DANS UN MODÈLE ANIMAL

Falcao S, Bisotto S, Michel C, Gutkowska J, Lavoie JL.
Centre de recherche du CHUM, Technopôle Angus, Montréal, Québec.

Objectif : Au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont démontré que l'entraînement physique (EP) était bénéfique non seulement pour la santé publique en général, mais aussi pour prévenir plusieurs maladies chroniques. D'ailleurs, il a également été suggéré que l'EP pouvait réduire les risques de développer plusieurs maladies associées à la grossesse, dont la prééclampsie (PE). Ceci est fort intéressant puisque aucun traitement, mis à part l'accouchement, n'est connu pour enrayer les symptômes de cette pathologie qui est la principale cause de mortalité et de morbidité périnatale. L'objectif de cette étude était donc de vérifier l'impact de l'EP sur les différents symptômes de la PE dans un modèle animale (des souris surexprimant l'angiotensinogène humaine [hAgt] accouplées à des mâles surexprimant la rénine humaine). **Méthodes :** Les souris sont placées en cage d'exercice, où elles peuvent s'entraîner sur une base volontaire, 4 semaines avant le début de la gestation. Elles y sont restées tout au long de leur grossesse. Elles seront comparées à des souris non transgéniques (NT) entraînées ainsi qu'à des souris sédentaires. La pression artérielle moyenne (PAM) a été mesurée par télémétrie. La protéinurie a été évaluée par ELISA sur des échantillons collectés au début ainsi qu'à la fin de la gestation. Au 18e jour de gestation, les placentas ont été prélevés, pesés et congelés ou fixés, pour ensuite être analysés en histologie. Le VEGF placentaire a été mesuré par *real-time* PCR ainsi que par immunoblot. La fonction endothéliale a été évaluée sur des artères mésentériques isolées. **Résultats :** La PAM des souris hAgt entraînées ainsi que leur protéinurie sont toutes deux normalisées par rapport à celles de leurs consœurs sédentaires. La pathologie placentaire observée chez les souris transgéniques sédentaires est normalisée par l'entraînement, tout comme leur VEGF placentaire. La réactivité vasculaire est rétablie chez les souris hAgt entraînées. **Conclusion :** Ces résultats démontrent que l'EP élimine la majorité des symptômes de la PE que nous avons étudiez chez les souris hAgt. En effet, les impacts de l'entraînement sur ces mères est bénéfique en tout point et cette étude suggère donc que l'EP avant et pendant la grossesse pourrait protéger autant les mères à risques que leurs fœtus.

RÉGULATION DES RÉCEPTEURS AUX IMIDAZOLINES I_1 DANS LES CARDIOMYOCYTES ET FIBROBLASTES CARDIAQUES PAR DES STIMULI DE LA CROISSANCE/MORT CELLULAIRE

Farah G, Aceros H, Menaouar A, Mukaddam-Daher S.
Laboratoire de physiologie cardiovasculaire intégrative. Centre de recherche, CHUM St-Luc, Départements de médecine et pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Notre laboratoire a identifié les récepteurs I_1 dans le cœur et a démontré qu'ils sont surexprimés en hypertension et qu'ils ont été normalisés par un traitement chronique des rats SHR *in vivo* avec la moxonidine, un agoniste sélectif des récepteurs I_1. De plus, des études précédentes ont aussi localisé ces récepteurs dans les cardiomyocytes et les fibroblastes cardiaques. Cependant, la régulation des récepteurs I_1 dans chaque type cellulaire, par les neurohormones et les facteurs de croissance associés à l'hypertension, n'est pas connue.
Méthodes : La régulation du récepteur I_1 a été explorée dans les cardiomyocytes et les fibroblastes isolés de cœurs de rats nouveau-nés (2-3 jours) en culture (DMEM+10% FBS). Après un jeûne de 24 heures (DMEM+0,1% FBS), les cardiocytes sont stimulés par des agonistes adrénergiques (norépinéphrine, NE 10^{-7}-10^{-4}M), des cytokines (IL-1β, TNF-α), des facteurs de croissance (IGF-1) ou des oxydants (H_2O_2) pendant 24-48 heures, en présence ou en absence de moxonidine. L'expression des récepteurs I_1 dans chaque type cellulaire est détectée par Western blot.
Résultats : Par comparaison au DMEM (100%), l'incubation avec NE 10^{-4} M augmente ($p<0,02$) l'expression du récepteur I_1 dans les fibroblastes (150%) et les cardiomyocytes (125%). La moxonidine 10^{-7}-10^{-5} M entraîne une surexpression du récepteur I_1 avec un effet maximal à 10^{-6}M dans les fibroblastes (180%, $p<0,02$) et à 10^{-7}M dans les cardiomyocytes (155%, $p<0,02$). Des travaux sont en cours pour explorer les effets de la combinaison de moxonidine avec norépinéphrine et les autres neurohormones associées à l'hypertension. Une normalisation par moxonidine de l'altération du récepteur I_1, à la suite de l'exposition à ces neurohormones, est attendue.

LA VOIE DE SIGNALISATION DE CALCIUM-CAMKK-AMPK EST IMPLIQUÉE DANS LE CONTRÔLE DE LA CONSOMMATION DE GLUCOSE PAR L'OCYTOCINE DANS LES CARDIOMYOCYTES DE RAT

Florian M, Jankowski M, Gutkowska J.
Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôtel-Dieu, Montréal.

Objectif : Dans les conditions aérobiques, le cœur oxyde les acides gras comme source d'énergie, tandis que sous un stress métabolique provoqué par une hypoxie ou une ischémie, la consommation de glucose s'élève et protège ainsi la viabilité des cardiomyocytes (CM) et maintient la performance du cœur. Le système de l'ocytocine (OT) entier, le peptide et son récepteur apparenté sont synthétisés dans le cœur. Dans le cœur fœtal et néonatal, l'ocytocine se trouve dans sa forme étendue OT-Gly-Lys-Arg (OT-GKR). Une stimulation de la consommation de glucose durant l'hypoxie est effectuée par le recrutement du transporteur de glucose GLUT-4 vers la membrane cellulaire. La présence du système OT/OT-GKR cardiaque nous a guidés vers l'hypothèse que ce système pourrait être en cause dans la régulation de la consommation de glucose par le cœur pendant un stress métabolique tel l'hypoxie. La kinase activée par l'adénosine monophosphate (AMPK) est reconnue être stimulée par un stress métabolique. Nous avons étudié si l'OT augmente la consommation de glucose par cette voie de signalisation.
Méthodes : Nous avons utilisé des CM néonataux de rat ainsi que des cellules cardiaques souches qui expriment le transporteur ABCG2 pour déterminer la consommation de [3H]-2-déoxyglucose induit par l'OT et l'OT-GKR dans les conditions de l'hypoxie. L'hypoxie chimique a été induite par 0,1 mM de 2,4-dinitrophénol (DNP), un inhibiteur de la phosphorylation oxydative mitochondriale. **Résultats :** L'OT (10 nM) augmente la consommation basale de glucose dans les CM de 4,0±0,2 fmol/mg de protéine et l'OT-GKR (10 nM) de 5,3±0,4 fmol/mg ($P<0,001$) en comparaison au contrôle. L'OT a un effet synergique modéré avec DNP et augmente la consommation basale de glucose de 5,5±0,5 fmol/mg. OT-GKR est encore plus efficace si combiné avec DNP et élève la consommation basale de glucose de 9,0±1,0 fmol/mg. Le pré-traitement avec STO-609, un inhibiteur de kinase de calcium-calmodulin (Ca-CAMKK), ou avec Compound C, un inhibiteur de AMPK, réduit les effets de OT et OT-GKR ($P<0,001$). **Conclusion** : Nos résultats démontrent que OT et OT-GKR sont engagés dans la régulation de la consommation de glucose dans les CM néonataux de rat par la voie de signalisation de Ca-CAMKK-AMPK. Ils peuvent ainsi jouer un rôle dans le maintien de la fonction cardiaque et dans la survie cellulaire durant le stress métabolique.

LA SUREXPRESSION DE CATALASE RÉTABLIT L'EXPRESSION DE ACE2 ET PRÉVIENT L'HYPERTENSION ET L'ALBUMINURIE DANS UN MODÈLE DE SOURIS TRANSGÉNIQUE

Godin N, Liu F, Lau CJ, Lau GJ, Brezniceanu ML, Chenier I, Filep JG, Ingelfinger JR, Zhang SL, Chan JSD.
Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôtel-Dieu, Montréal.

Nous avons rapporté que des souris transgéniques (Tg) surexprimant l'angiotensinogène (Agt) dans les cellules de tubules proximaux (RPTCs) démontrent l'hypertension, l'albuminurie et l'apoptose tubulaire. Cette étude vise à investiguer si la surexpression de la catalase (Cat) dans les RPTCs peut prévenir l'hypertension, l'albuminurie et la fibrose interstitielle chez les souris Agt-Tg.
Méthodes : Des souris Agt/Cat-Tg surexprimant Agt et Cat dans leurs RPTCs ont été créées par croisement entre souris Agt-Tg et Cat-Tg. Des souris non transgéniques ont été utilisées comme contrôle. Les taux de glucose sanguin, la pression systolique et l'albuminurie ont été vérifiés de façon hebdomadaire entre 10 et 20 semaines. Des sections de reins on été gardées pour études de l'apoptose et l'immunohistochimie. Des tubules proximaux rénaux ont aussi été isolés afin de quantifier l'expression de gènes pro-fibrotiques et pro-apoptotiques par PCR en temps réel.
Résultats : Les souris Agt-Tg ont développé une pression systolique et un ratio albumine/créatinine urinaire plus élevé lorsque comparé aux contrôles. Une augmentation des ROS et de l'expression de TGF-β1, collagène IV, PAI-1, MCP-1 et Bax a été observée. La surexpression de Cat a atténué ces paramètres chez les souris Agt/Cat-Tg. De plus, les souris Agt/Cat-Tg ont permis de rétablir l'atténuation de l'expression de ACE2 observée chez les souris Agt-Tg.
Conclusion : Ces résultats démontrent qu'une augmentation des ROS pourrait influencer, de façon partielle, l'action du système RAS dans le développement de l'hypertension, de l'albuminurie et de l'apoptose des RPTCs. La régulation de l'expression de ACE2 par les souris Agt/Cat-Tg pourrait se révéler importante afin d'atténuer les dommages rénaux et permettre une alternative thérapeutique pour le traitement de la néphropathie diabétique.

L'ADMINISTRATION DU SILDÉNAFIL CHEZ LE SHR N'INDUIT PAS DE REMODELAGE VASCULAIRE THÉRAPEUTIQUE

Huot-Marchand JÉ, deBlois D.
Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Précédemment, notre groupe a démontré que chez le rat spontanément hypertendu (SHR), la régression de l'hypertrophie aortique induite par certains antihypertenseurs était associée à une apoptose transitoire des cellules de muscle lisses (CML) et était dépendante de la voie du NO. Ce processus coïncide avec une augmentation du GMPc aortique. Au niveau de l'aorte, le GMPc est dégradé par la phosphodiestérase de type V (PDEV). Le but de cette étude était de déterminer si l'utilisation d'un inhibiteur de PDEV (sildénafil) pouvait induire une régression de l'hypertrophie aortique semblable à celle observée avec l'énalapril en augmentant la concentration de GMPc dans le tissu vasculaire.
Méthodes : Des SHR âgés de 11 semaines ont reçu pendant 21 jours un des traitements suivant dans l'eau de breuvage (n=8/groupe) : le véhicule, l'énalapril (30 mg•kg^{-1}•jour^{-1}) et le sildénafil (10 et 30 mg•kg^{-1}•jour^{-1}). L'énalapril a été utilisé comme contrôle positif de remodelage vasculaire. La pression artérielle des animaux a été obtenue par canulation carotidienne lors du sacrifice. L'hypertrophie et l'hyperplasie aortique ont été évaluées histologiquement par la méthode stéréologique du disecteur tridimentionnel. **Résultats** : L'administration des deux différentes doses de sildénafil n'a eu aucun effet sur la pression artérielle moyenne chez les SHR (10 mg : 177,2±4,3mmHg, 30 mg : 183,7± 6,8mmHg vs véhicule 186,7±5,1mmHg), alors que l'énalapril a efficacement diminué la pression artérielle (125,4±4,6mmHg, *p<0,01*). Les analyses morphologiques des aortes ont démontré que le sildénafil n'a eu aucun effet au niveau du remodelage vasculaire, tant au niveau de l'hypertrophie que de l'hyperplasie. L'aire de section de l'aorte est demeurée inchangée vs véhicule dans les deux groupes au sildénafil (10mg : 0,501±0,010mm^2, 30 mg : 0,487±0,010mm^2 vs 0,486±0,008mm^2) mais a été significativement diminuée par l'énalapril (0,417±0,07mm^2, *p<0,01*). Le nombre de CML est aussi resté inchangé par le sildénafil (10mg : 125±7 cml/µm et 30 mg : 135±8 cml/µm vs véhicule136±3 cml/µm). **Conclusion** : L'administration du sildénafil pendant 3 semaines chez des SHR de 11 semaines ne permet pas de diminuer la pression artérielle, ni d'induire un remodelage vasculaire thérapeutique.

L'EXPOSITION NÉONATALE À L'OXYGÈNE DIMINUE L'ANGIOGENÈSE ET INDUIT DE LA SÉNESCENCE VASCULAIRE : RÔLE DANS L'HYPERTENSION ADULTE ?

Huyard F, Germain N, Yzydorczyk C, Cloutier F, Cloutier A, Nuyt AM.
Centre de recherche CHU Ste-Justine, Montréal.

Les bébés prématurés, environ 8% des naissances, ont des défenses antioxydantes diminuées par rapport aux nouveau-nés à terme et sont exposés à la naissance à des concentrations élevées en oxygène (O_2) par rapport au milieu intra-utérin. Nous avons montré récemment qu'un stress hyperoxique néonatal conduit, chez le rat adulte, à de l'hypertension artérielle (HTA), une dysfonction endothéliale et une rigidité artérielle, qui sont des éléments caractéristiques de vieillissement vasculaire. Notre objectif est d'élucider les mécanismes pouvant être incriminés dans ces changements vasculaires en étudiant *in vitro* des indices de sénescence cellulaire après un stress hyperoxique. **Méthodes :** Des ratons Sprague-Dawley ont été exposés à 80% d'O_2 vs d'air ambiant (AA), du 3e au 10e jour de vie (P10). À P10, l'aorte et le muscle tibial ont été prélevés (n=5/sexe/groupe) pour étudier l'angiogenèse (segments d'aorte en matrigel) et la densité microvasculaire. D'autre part, des cellules musculaires lisses d'aorte de rat embryonnaire ont été étudiées après une exposition de 24 heures à l'O_2 et après 96 heures de récupération. Des comptes cellulaires, des marquages à la dihydroéthidine et du suppresseur de tumeur p53 se liant à la protéine 1 (53BP1), respectivement marqueur de la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) et de bris à l'ADN, ont été effectués. **Résultats :** À P10, les rats exposés à 80% à l'O_2 vs l'AA ont un défaut d'angiogénèse (4e jour : 54% de diminution, p<0,05), ainsi qu'une raréfaction microvasculaire (capillaires/mm^2 : 80% d'O_2 = 942 ± 69 vs AA = 1251 ± 93, p<0,01). Les cellules exposées à l'O_2 sont en nombre similaire aux cellules contrôles après 24 heures d'exposition. En revanche après 96 heures, les cellules qui ont été exposées à l'O_2 ont un taux de prolifération significativement diminué (34%). Les marquages montrent une augmentation de la production d'ERO chez les cellules exposées à l'O_2, ainsi qu'une augmentation de l'expression de 53BP1, suggérant des bris à l'ADN. **Conclusion :** L'exposition néonatale à l'O_2 diminue la capacité angiogénique dont pourrait résulter la raréfaction microvasculaire observée et diminue également la capacité de prolifération de cellules vasculaires accompagnée d'une augmentation de marqueurs de sénescence vasculaires. Ces phénomènes précèdent l'HTA et la dysfonction vasculaire observées et pourraient donc y participer.

LE TRANSFERT ADOPTIF DE CELLULES T RÉGULATRICES MODULE LES EFFETS VACULAIRES DE L'ALDOSTÉRONE

Kasal DAB[1,2], Barhoumi T[1,3], Neves MF[2], Laurant P[3], Shbat L[1], Lemarie CA[1], Paradis P[1], Schiffrin EL[1].
[1]Unité de recherches en hypertension artérielle et recherche vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif-SMBD, Université McGill, Montréal, Québec; [2]Université d'état de Rio de Janeiro, Brésil; [3]EA4278 «physiologie et physiopathologie des adaptations cardiovasculaires à l'exercice», Pôle sportif et de recherche universitaire, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse-Avignon, France.

L'aldostérone, un minéralocorticoïde, contribue au développement de l'hypertension et au remodelage cardiaque et vasculaire. L'aldostérone induit du remodelage et de la dysfonction vasculaires médiés par du stress oxydatif et de l'inflammation vasculaire. Les cellules T régulatrices (Tregs) suppriment la réponse immunitaire et contribuent au maintien de la tolérance et de l'homéostasie immunitaire. Nous avons émis l'hypothèse que le transfert adoptif de Tregs devrait prévenir le dommage vasculaire induit par l'aldostérone. **Méthodes :** Des souris C57BL/6 mâles de 12 semaines ont été injectées i.v. avec du PBS ou 3 x 10^5 cellules Tregs, 2 fois à deux semaines d'intervalle, puis traitées ou non avec aldostérone (600 µg/kg/j, s.c.) pour deux semaines à l'aide de pompes osmotiques Alzet et 1% NaCl dans l'eau de boisson. La pression artérielle a été mesurée avec un brassard au niveau de la queue. La fonction endothéliale des artères mésentériques a été évaluée avec un myographe pressurisé. L'activité de la NADPH oxydase a été déterminée avec la lucigénine. **Résultats :** L'aldostérone a augmenté la pression systolique par comparaison aux contrôles (146±11 vs 111±7,1mmHg, p<0,05) et cet effet a été prévenu par le transfert adoptif de Tregs (111±9,1mmHg, P<0,05 vs aldostérone). L'aldostérone a augmenté l'activité NADPH oxydase dans le cœur (236±49%, P<0,05) et l'aorte (197±23%, P<0,001) par comparaison aux contrôles, ce qui a été prévenu en partie dans le cœur (155±17%, P<0,05) et totalement dans l'aorte (111±10%, P<0,001) par le traitement avec les Tregs. Cependant, l'aldostérone n'a pas altéré la relaxation NOS-dépendante et indépendante à l'acétylcholine des artères mésentériques, indiquant que la relaxation NO-dépendante n'était pas altérée dans les conditions expérimentales utilisées. **Conclusion :** Ces résultats suggèrent qu'une approche immunomodulatrice peut prévenir le développement de l'hypertension et le stress oxydatif cardiovasculaire induit par l'aldostérone.

LA NÉOGLUCOGENÈSE RÉNALE : UN NOUVEL ASPECT DANS LA RESTRICTION DE CROISSANCE INTRA-UTÉRINE CHEZ LE RAT

Khoury E, Brochu M.
Centre de recherche, CHU Ste-Justine, Dépt d'obstétrique-gynécologie, Université de Montréal.

Nous avons établi un modèle de restriction de croissance intra-utérine (RCIU) en donnant une diète faible en Na^+ à la rate pendant la dernière semaine de gestation. Les diminutions de poids des placentas et des fœtus suggèrent une réduction de la perfusion placentaire. Les ratios du poids du cœur et du cerveau au poids corporel sont augmentés, alors que celui du rein est inchangé, cela suggère une redistribution du débit cardiaque favorisant l'irrigation des organes nobles (cœur et cerveau). Un criblage génique des reins de fœtus témoins et RCIU a démontré une surexpression d'enzymes associées à la voie de néoglucogenèse chez les RCIU. Bien que le foie soit l'organe essentiel pour la genèse du glucose, le rein contribue pour 25% de la production totale. Notre hypothèse est que le métabolisme des glucides impliqué dans la production de glucose augmente dans les reins de fœtus RCIU pour assurer les fins énergétiques indispensables à son développement et à sa survie. L'objectif est de mesurer les enzymes favorisant la néoglucogenèse dans le rein ainsi que dans le foie des fœtus RCIU et témoins. **Méthodes :** Au cours de la dernière semaine de gestation, les rates Sprague-Dawley ont reçu une diète normale ou faible en sodium (0,03%). Au jour 22 (terme=23 jours), les rates ont été sacrifiées, les reins et les foies fœtaux ont été prélevés et congelés. La quantité protéique d'enzymes de néoglucogenèse a été mesurée par immunobuvardage de type Western. **Résultats :** L'aldolase B, la fructose-1,6-biphosphatase (FBPase) et la glucose-6-phosphatase (G6Pase) augmentent significativement chez les fœtus RCIU par rapport aux témoins alors que la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-C) demeure inchangée. L'expression de ces protéines est affectée par le sexe. Ainsi, l'augmentation de la FBPase et de la G6Pase est plus marquée chez les mâles RCIU alors que celle de l'aldolase B est plus importante chez les femelles RCIU. Aucun changement de ces enzymes n'a été observé dans le foie fœtal RCIU. **Conclusion :** L'augmentation du niveau protéique de ces enzymes suggère la présence d'une néoglucogenèse élevée dans le rein fœtal RCIU assurant, en alliance avec le foie, la production de glucose requis pour permettre le métabolisme basal (contraction cardiaque, respiration, fonctionnement du cerveau, péristaltisme intestinal, etc.) et le développement du fœtus. Le sexe du fœtus a un effet sur l'expression des enzymes.

HYPOTHÈSE DE WARBURG, UNE NOUVELLE AVENUE DANS L'INVESTIGATION DES MALADIES VASCULAIRES

Lambert C, Meloche J, Paulin R, Courboulin A, Roy M, Bonnet S.
CHUQ, Département de médecine, Université Laval, Québec.

Objectif : Les maladies à remodelage vasculaire (MRV) sont caractérisées par une prolifération et une résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Dans le cancer, les cellules proliférratives augmentent le ratio glycolyse/oxydation du glucose et ont un potentiel de membrane mitochondriale hyperpolarisé (ΔΨm), contribuant à la résistance à l'apoptose. Des études ont démontré que l'activation du facteur de transcription hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) joue un rôle dans les désordres métaboliques/mitochondriaux observés dans le cancer. L'activation de HIF-1 augmente l'expression de l'hexokinase (Hxk), augmentant son activité et sa translocation mitochondriale, ce qui augmente la glycolyse/oxydation du glucose et bloque le canal anionique voltage dépendant, le principal régulateur de ΔΨm, promouvant la prolifération cellulaire. Nous avons récemment publié (Circulation 2006) que HIF-1 est activé dans les MRV. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'activation de HIF-1 dans les MRV joue un rôle dans les désordres métaboliques/mitochondriaux des CMLV créant une résistance à l'apoptose et une prolifération cellulaire.
Méthodes/Résultats : Des CMLV d'artère carotide ont été exposées 48h au PDGF. Nous avons démontré par immunoblot, immunofluorescence et essais enzymatiques que : 1. PDGF active HIF-1, augmente l'expression de l'Hxk, son activité et sa translocation mitochondriale, ce qui hyperpolarise le ΔΨm (par TMRM en microscopie confocale). 2. L'activation de HIF-1 diminue l'apoptose (TUNEL) et promouvoit la prolifération des CMLV (PCNA). 3. L'inhibition de HIF-1 des CMLV traitées au PDGF (siRNA) renverse ces réponses. *In vivo*, en utilisant un modèle d'injure de la carotide chez le rat, l'injection d'un adénovirus dominant-négatif de HIF-1 diminue l'épaisseur de la paroi vasculaire et la prolifération des CMLV (PCNA) dans la paroi. **Conclusion** : L'activation de HIF-1 chez les CMLV résulte en un désordre métabolique/mitochondrial diminuant l'apoptose et promouvant la prolifération des CMLV. L'inhibition de la voie HIF-1 pourrait être d'un grand intérêt thérapeutique dans le traitement des maladies vasculaires comme l'hypertension et l'athérosclérose.

L'INHIBITION DE LA VOIE TNF RENVERSE LES MALADIES À REMODELAGE VASCULAIRE

Lambert C, Meloche J, Paulin R, Courboulin A, Roy M, Bonnet S.
CHUQ, Département de médecine, Université Laval, Québec.

Les maladies à remodelage vasculaire (MRV) sont caractérisées par une prolifération et une résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Nous avons démontré que les MRV sont associées à une activation du facteur de transcription HIF-1 (*hypoxia-inducible factor 1*) responsable de la diminution du canal K^+ voltage dépendant Kv1.5, augmentant $[Ca^{2+}]i$ (promouvant la prolifération), $[K^+]i$ (diminue l'activité des caspases) et hyperpolarisant le potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\psi m$). Le mécanisme par lequel HIF-1 est augmenté reste inconnu. Nous avons récemment publié que la quantité de cellules T activées circulantes est augmentée dans les MRV. De plus, les cellules T sont aussi présentes dans la paroi vasculaire de carotides de patients atteints d'une MRV. Nous avons émis l'hypothèse que les cellules T activées amène une activation de HIF-1, lequel est connu pour être sensible aux cytokines, dans les CMLV humaines. **Méthodes/Résultats** : Nous avons utilisé une chambre de Boyden, où la chambre supérieure présente des cellules T activées humaines et la chambre inférieure avec des cellules musculaires lisses d'artères carotides saines (CASMC). Nous avons démontré qu'après 96h, les cellules T activées relâchent du TNF et activent HIF-1 dans 65% des CASMC saines (immunofluorescence). Comme prévu, les CASMC avec HIF-1 activés ont une $[Ca^{2+}]_i$ (microscopie confocale) 1,5 fois plus élevée que les CASMC où HIF-1 n'est pas activé, augmentant de 50% de prolifération (PCNA). $\Delta\psi m$ est significativement hyperpolarisé dans les CASMC où HIF-1 est activé (TMRM), résultant en une résistance à l'apoptose induite par privation de sérum (TUNEL). Tous ces effets ont été renversés par anticorps TNFα ; par inhibiteur de HIF-1 et par inhibiteur de PI3K (LY294002), suggérant que les cellules T activées activent HIF-1 dans les CASMC par une relâche de TNFα activant la voie PI3K connue pour activer HIF-1. Il est à noter que les cellules T quiescentes n'ont pas d'effet sur les CASMC saines. Finalement, *in vivo*, l'inhibiteur de TNF disponible cliniquement, l'etanercept, renverse la sténose de carotide post angioplastie. **Conclusion** : Nous avons démontré pour la première fois que les cellules T activées sont responsables de l'activation de HIF-1 chez les CASMC saines par l'axe TNF/PI3K, amenant à un développement de phénotype pro-proliferatif. L'inhibiteur de TNFα etanercept pourrait être d'un grand intérêt thérapeutique dans le traitement des maladies à remodelage vasculaire.

EFFET DE LA SUREXPRESSION DE L'ENDOTHÉLINE-1 SUR LA STRUCTURE ET LA FONCTION VASCULAIRE CHEZ DES SOURIS APOLIPOPROTÉINES E KNOCK-OUT

Li MW, Ebrahimian T, Paradis P, Schiffrin EL.
Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital Général Juif-SMBD, Université McGill, Montréal, Québec.

Nous avons développé des souris transgéniques surexprimant la prépro-endothéline (ET)-1 humaine dans l'endothélium (eET-1). Ces souris eET-1 présentent une dysfonction endothéliale et du remodelage hypertrophique en l'absence d'hypertension. L'ET-1 a été impliqué dans la pathogenèse de l'athérosclérose. L'inactivation de ce gène (*apoE*$^{-/-}$) chez la souris conduit au développement d'hypercholestérolémie sévère et d'athérosclérose. Cependant, il n'a jamais été déterminé si *apoE*$^{-/-}$ exacerbe le dommage vasculaire induit par l'ET-1. Nous avons déterminé si le croisement de souris eET-1 avec des souris *apoE*$^{-/-}$ exacerberait le développement des dommages vasculaires induit par l'ET-1. **Méthodes :** Des souris mâles sauvages (WT), eET-1, *apoE*$^{-/-}$ et eET-1 x *apoE*$^{-/-}$ ont été étudiées. La fonction endothéliale des artères mésentériques a été évaluée avec un myographe pressurisé. **Résultats :** Les eET-1 présentaient une épaisseur de la média et un ratio média sur lumière (M/L) plus grande que les WT (média: 12,5±0,4 vs 10,3±0,5 μm; M/L: 7,2±0,6 vs 5,3±0,6%) à une pression intralumière de 45 mmHg. Les souris eET-1 x *apoE*$^{-/-}$ présentaient la plus grande surface de section de la média qui était significativement différente des WT (8138±159 vs 6711 ±279 μm^2). La relaxation endothélium-dépendante à l'acétylcholine (Ach) était diminuée de 30% dans les *apoE*$^{-/-}$ versus les WT (E_{max}: 53,7±1,3 vs 84,1±6,5%), alors qu'aucune différence n'a été observée dans les eET-1 et les eET-1 x *apoE*$^{-/-}$. Cependant, en présence d'un inhibiteur de la synthase du NO (L-NAME), le degré de la relaxation à l'Ach était réduit à environ 15% dans les WT, eET-1, and *apoE*$^{-/-}$ et significativement moins réduite dans les eET-1 x *apoE*$^{-/-}$ (43,1±12,6%). Aucun changement n'a été observé dans la relaxation endothélium-indépendante au nitroprussiate de sodium entre les groupes. **Conclusion :** Nos résultats suggèrent que le remodelage des artères de résistance induit par l'ET-1 est altéré par l'ablation du gène *apo E*. Le mécanisme de relaxation à l'Ach endothélium-dépendante est altéré et il est remplacé, du moins en partie, par une relaxation NOS-indépendante, possible par une augmentation de l'activité des facteurs hyperpolarisant dérivés de l'endothélium (EDRF). Nous étudions actuellement le degré auquel l'athérosclérose est affectée par le croisement eET-1 x *apoE*$^{-/-}$.

L'INACTIVATION DU GÈNE PPARγ DANS LES CELLULES MUSCULAIRES LISSES INDUIT DES DOMMAGES VASCULAIRES

Marchesi C, Kasal D, Simeone S, Deschenes ME, Paradis P, Schiffrin EL.
Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital Général Juif-SMBD, Université McGill.

PPARγ exprimé dans les tissus adipeux régule le métabolisme du glucose et des acides gras. PPARγ est aussi exprimé dans le système vasculaire. Des études ont suggéré que l'activation de PPARγ pourrait avoir un effet protecteur vasculaire. Cependant, il n'a pas été déterminé si cet effet protecteur est médié par PPARγ vasculaire. Nous avons développé un modèle d'inactivation de PPARγ dans les cellules musculaires lisses (CMLs) et vérifié l'hypothèse que l'inactivation induit des dommages vasculaires. **Méthodes :** L'inactivation du gène PPARγ dans les CMLs (cmlPPARγ$^{-/-}$) a été induite par l'activation transitoire d'une recombinase Cre mutante sous le contrôle d'un promoteur CML spécifique, par le tamoxifène. La pression artérielle a été mesurée avec un brassard au niveau de la queue. La fonction endothéliale des artères mésentériques a été évaluée avec un myographe pressurisé. La production de radicaux libres a été déterminée avec du dihydroéthidium et l'activité de la NADPH oxydase avec la lucigénine. L'expression des molécules d'adhésion a été évaluée par buvardage Western. **Résultats :** L'efficacité de l'inactivation du gène PPARγ dans les CMLs était de 90%. Les pressions systoliques et diastoliques n'étaient pas différentes entre les groupes (116±3 vs 114±4 mmHg et 102±4 vs 104±3 mmHg). cmlPPARγ$^{-/-}$ a induit une augmentation du ratio média sur lumière (7,4±0,2 vs 5,6±0,2), ainsi que de la surface de section de la média (8007±516 vs 6156±722 μm^2) des artères mésentériques, suggérant une prédisposition au remodelage hypertrophique. La relaxation endothélium-dépendante à l'acétylcholine des artères des cmlPPARγ$^{-/-}$ était diminuée (30%), et non affectée par le L-NAME, un inhibiteur de la NO synthase. La production de radicaux libres dans l'aorte était augmentée chez les souris cmlPPARγ$^{-/-}$, comparée aux contrôles, ainsi que l'activité de la NADPH oxydase (30%). L'expression de la molécule d'adhésion VCAM-1 était augmentée chez les souris cmlPPARγ$^{-/-}$. Le poids corporel et le glucose plasmatique n'étaient pas différents entre les groupes, indiquant qu'il n'y avait pas d'effets au niveau des tissus adipeux. **Conclusion :** Nos résultats suggèrent un rôle protecteur de PPARγ vasculaire sur la fonction endothéliale, le remodelage vasculaire et le stress oxydatif, au-delà des effets au niveau adipeux.

LE PEROXYDE D'HYDROGÈNE AUGMENTE L'EXPRESSION DE $G_{I\alpha}$ DANS LES CELLULES DU MUSCLE LISSE VASCULAIRE : RELATION AVEC L'ADÉNYLATE CYCLASE

Mbong N, Anand-Srivastava MB.
Département de physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Les espèces réactives oxygénées (ROS) jouent un rôle important dans la pathogénèse de plusieurs maladies, comme l'hypertension, l'athérosclérose et le diabète. Nous avons récemment prouvé que les ROS contribuent à l'augmentation de l'expression des protéines $G_i\alpha$ dans les cellules du muscle lisse vasculaire (CMLV) provenant d'aortes de rats spontanément hypertendus (SHR). La présente étude a pour but d'étudier les effets du H_2O_2, un oxydant, sur l'expression protéique de Giα et sur l'implication d'ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*), et de la PI3K (*phosphatidylinositol-3 kinase*) dans la hausse des taux de $G_i\alpha$ induite par H_2O_2.
Méthodes : Les CMLV étaient traitées avec différentes concentrations de H_2O_2 (50 μM à 250 μM) pour différentes périodes de temps (30 min à 4 hrs). Les taux d'expression des protéines ont été déterminés par immunobuvardage de type Western à l'aide d'anticorps spécifiques.
Résultats : Le peroxyde d'hydrogène augmente l'expression de Giα de manières dose- et temps-dépendantes avec une augmentation maximale à 100 μM après 1 heure, tandis que l'expression de Gsα reste inchangée. L'élévation de l'expression de Giα est corrélée avec une hausse de l'inhibition de l'adénylate cyclase par des hormones inhibitrices, telles que l'angiotensine II, l'oxotrémorine et le C-ANP_{4-23}. Nous rapportons également que le H_2O_2 induit la phosphorylation d'ERK1/2 et d'AKT/protéine kinase B (PKB). De plus, les inhibiteurs de MEK et de la PI3K restaurent l'augmentation de l'expression de la protéine Giα induite par le H_2O_2 , ce qui suggère l'implication de ces protéines kinases dans l'élévation des taux de Giα.
Conclusion : En conclusion, la modulation de l'expression de la protéine Giα par le H_2O_2 dans les CMLV aortiques inclut les voies de signalisation d'ERK1/2 et de la PI3K.

LES PRODUITS DE GLYCATION AVANCÉE JOUENT UN RÔLE CRITIQUE DANS LES MALADIES VASULAIRES AVEC REMODELAGE

Meloche J, Paulin R, Roy M, Agharazii M, Bonnet S.
Centre hospitalier universitaire de Québec, Pavillon de l'Hôtel-Dieu, Québec.

Les maladies vasculaires avec remodelage (MRV), tel l'hypertension, sont caractérisées par une augmentation du nombre de cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) qui sont proliferatives et résistantes à l'apoptose. Nous avons démontré que cet état pro-proliferatif des CMLV est maintenu dans le temps par une augmentation du niveau plasmatique de TNF (*tumour necrosis factor*); par une diminution de l'expression des canaux potassiques Kv1,5, ce qui dépolarise les CMLV et augmente $[Ca2+]_i$, stimulant ainsi la prolifération; et par en hyperpolarisant le potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\Psi m$) et augmentant la production des éléments réactifs oxygénés (ERO), les deux inhibant l'apoptose. Les mécanismes régulant ce phénotype demeurent toutefois inconnus. Les produits de glycation avancée (AGE) tel que le carboxyméthyl lysine (CML), par l'activation de leur récepteur (RAGE), ont été décrits comme augmentant la prolifération cellulaire, la production de facteur de croissance (TNF) dans plusieurs maladies comme le cancer. Notre hypothèse est que le niveau de CML est augmenté chez les patients ayant une MRV, augmentant ainsi le niveau de TNF, la prolifération cellulaire et la résistance à l'apoptose. **Méthodes/Résultats :** Tel que prévu, les niveaux de CML et de TNF plasmatiques (mesurés par ELISA) sont plus élevés chez les patients à MRV (n=33; p<0,05) que chez les patients contrôles (n=23). De plus, une corrélation directe a été observée entre ces marqueurs moléculaires. *In vitro*, des CMLV fraîchement isolées de patients humains exposées pendant une période de 48 heures à des CML présentent une augmentation du $[Ca^{2+}]_i$ intracellulaire (mesurée par FLUO-3, n=100; p<0,05) augmentant la prolifération cellulaire (mesurée par PCNA, n=150; p<0,05) et une hyperpolarisation des membranes mitochondriales (mesurée par microscopie confocale en utilisant TMRM, n=250; p<0,05) augmentant les ERO cytoplasmiques (mesurée par Mitosox, n=150; p<0,05) ce qui diminue l'apoptose. De plus, un phénotype normal est retrouvé lorsque les cellules sont mises en contact avec des inhibiteurs de CML ou de RAGE. **Conclusion :** Une augmentation des niveaux de CML plasmatiques pourrait expliquer plusieurs effets des MRV, comme l'activation du TNF, une prolifération et une résistance à l'apoptose des CMLV. Des thérapies visant à inhiber les AGE seraient d'un grand intérêt thérapeutique dans le traitement des MRV.

ENVIRONNEMENT FŒTAL, SEXE DU FŒTUS ET MATURATION DES CARDIOMYOCYTES

Monfils S, Brochu M.
Département obstétrique-gynécologie, Centre de recherche du CHU Ste-Justine, Université de Montréal.

Un modèle de restriction de croissance intra-utérine (RCIU) a été créé en donnant une diète faible en sodium à des rates lors de la dernière semaine de gestation. Ce modèle s'apparente en certains points à une RCIU idiopathique chez l'humain. Le ratio poids du cœur fœtal/poids corporel est plus grand chez les animaux RCIU que chez les témoins suggérant une redistribution du flot sanguin au profit de cet organe. Ceci est susceptible d'influencer la maturation cardiaque normale et pourrait avoir des conséquences à long terme. Nous avons d'ailleurs observé un remodelage cardiaque chez la femelle RCIU devenue adulte. L'apoptose est un mécanisme de mort cellulaire programmée participant à la maturation des cardiomyocytes en période périnatale (le 5e et le 11e jour en postnatal chez le rat). Nous émettons l'hypothèse que dans ce modèle de RCIU, la maturation cardiaque se présenterait précocement. Ainsi le degré d'apoptose dans le cœur des fœtus serait augmenté en prénatal et pourrait être spécifique au sexe du fœtus. Le ratio Bax/Bcl-2 et celui du clivage de la Caspase 3 sont considérés comme marqueurs apoptotiques.
Méthodes : Les rates gestantes témoins et RCIU sont sacrifiées au jour 22 de gestation (sur 23). Les cœurs fœtaux sont prélevés. L'expression protéique cardiaque de Caspase 3 clivée et non clivée, Bax et Bcl-2 sont mesurées par immunobuvardage de type Western par rapport au standard interne GAPDH.
Résultats : Les niveaux protéiques de Bax, Bcl-2, de Caspase 3 clivée et non clivée ne sont pas différents entre les cœurs fœtaux de témoins et de RCIU. Les ratios Bax/Bcl-2 et Caspase 3 clivée/non-clivée sont similaires entre les cœurs fœtaux de témoins et de RCIU. L'expression n'est pas différente entre les deux sexes.
Conclusion : L'insulte maternelle causée par la diète restreinte en sodium n'influencerait pas la voie apoptotique intrinsèque des caspases. Les changements provoqués dans ce modèle de RCIU idiopathique semblent être plus subtils dus à la grande résistance de ces cellules fœtales aux affronts imposés. D'autres mécanismes entrant en jeu lors de la maturation des cardiomyocytes doivent être vérifiés pour caractériser ces changements possibles (bêta-oxydation des acides gras, glycolyse, binucléation).

PRÉVENTION DE LA CALCIFICATION À L'AIDE D'UN NOUVEL INHIBITEUR DE LA TRANSGLUTAMINASE

Moreau S[1], Chabot N[2], Keillor JW[2], Moreau P[1].
[1]Faculté de pharmacie, [2]Département de chimie, Université de Montréal.

Il a été démontré que la transglutaminase 2 (TG2) était en cause dans la fibrose et la calcification vasculaire. De plus, cette enzyme peut être internalisée et dégradée via le récepteur LRP1. L'inhibition du récepteur LRP1 entraîne une augmentation de la calcification vasculaire et celle-ci peut être prévenue avec un inhibiteur de la transglutaminase.
Méthodes : *In vivo* : Des rats Wistar ont été traités avec de la Warfarine (20mg/kg/j)/vitamine K (15mg/kg/j) pendant 1, 2, 3 ou 4 semaines pour induire la calcification vasculaire. L'inhibiteur 052 de la transglutaminase, marqué à la rhodamine, a été utilisé pour localiser l'activité de la transglutaminase sur des cryosections d'aortes de rats. Des western Blot de pGSK3/GSK3 ont été effectués pour vérifier l'activation de la voie de signalisation de la ß-catenin.
Ex vivo : Des aortes de rats ont été mises en culture en présence d'un milieu pro-calcifiant (warfarine + phosphate) pendant 1, 2, 3 ou 4 jours. Le calcium a été mesuré, en plus de la phosphorylation de GSK3. LRP1 a été inhibé avec la chloroquine et la TG2 avec le 052.
In vitro : Des cellules musculaires lisses vasculaires d'aorte ont été mises en culture en présence d'un milieu calcifiant (3,8mM de PO_4^{3-}) pendant 7 jours, en présence de TG2 exogène et/ou de chloroquine et/ou de 052 selon les groupes.
Résultats : *In vivo*, l'activité de la TG2 est localisée dans les régions calcifiées de l'aorte. La phosporylation de GSK3 augmente à 2 et 3 semaines de traitement. *Ex vivo*, 052 réduit la calcification de 50%. La phosphorylation de GSK3 est augmentée à 4 jours de traitement. *In vitro*, l'ajout de TG2 ou de chloroquine seule n'augmente pas la calcification. Lorsque les deux sont ajoutées en même temps, la calcification augmente. 052 prévient la calcification et réduit l'ampleur de calcification induite par TG et chloroquine.
Conclusion : La TG2 joue un rôle crucial dans la calcification vasculaire. Une diminution de sa dégradation via le récepteur LRP1 pourrait y être associée. Par ailleurs, un nouvel inhibiteur irréversible de la TG2, le 052, prévient la calcification.

L'IMPORTANCE DE L'ENVIRONNEMENT PHARMACOLOGIQUE DANS LA CAPACITÉ DE DÉTERMINER LA COMPOSANTE GÉNÉTIQUE DE L'HYPERTENSION

Noël A, Šeda O, Tremblay J, Gaudet D, Kotchen TA, Cowley AW, Hamet P.
Centre de recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

Par son caractère polygénique, l'hypertension (HT) engage plusieurs gènes difficiles à détecter statistiquement puisque chacun d'eux possède souvent un effet modeste. Les déterminants génétiques identifiés jusqu'à présent possèdent un effet sur la pression artérielle (PA) inférieur à 1 mmHg malgré des échantillons formés de plusieurs milliers de sujets. Nous avons récemment identifié, sur le chromosome X, des associations significatives entre le rs2116366 du gène *fatty acid amide hydrolase 2* et 6 phénotypes de PA pris sur des sujets sans médication. L'objectif est d'évaluer l'impact de l'absence de médication lors du phénotypage dans l'identification des déterminants génétiques de l'HT. **Méthode :** Nous avons étudié une cohorte de 120 familles hypertendues du Saguenay-Lac-Saint-Jean (*Am. J. Hum. Genet.* 2005). Pour 468 sujets, les SNPs ont été identifiés à l'aide de biopuces d'Affymetrix 50K *XbaI*. Des phénotypes anthropométriques et cardio-métaboliques ont été obtenus lors d'une visite clinique. Pour les sujets admissibles, les médicaments antihypertenseurs ont été retirés pour au moins une semaine. Ceci a été suivi d'un protocole de 2 jours lors duquel des mesures additionnelles ont été prises. L'évaluation de l'influence de médication dans la détection de loci a été accomplie par des tests d'association sur 3 groupes : deux sexes ensemble et séparément. **Résultats :** Les analyses d'association entre le rs2116366, la mesure ambulatoire de PAS (MAPAS), la MAPAD ainsi que les PAS/PAD de jour et de nuit, prises sur des sujets sans médication, ont montré des résultats significatifs chez les femmes (XRC-TDT : 0,02 > p > 6,7E-04 ; FBAT : 0,02 > p > 0,004). De plus, l'association pour la MAPAS a révélé que les femmes homozygotes GG ont une tension de 7,4 mmHg plus élevée que les homozygotes AA (Gee p = 0,02). Par contre, chez les sujets sous médication, les mesures de PAS/PAD du bras droit, du bras gauche et les deux fusionnées n'ont montré aucune association significative dans les 3 groupes (XRC-TDT et FBAT : 1 > p > 0,2). **Conclusion :** Ces résultats démontrent l'importance de la qualité des phénotypes sur lesquels les études d'association et de liaison de la composante génétique des phénotypes cardio-métaboliques complexes sont effectuées. En effet, des facteurs environnementaux, telle la médication, obstruent de façon majeure l'évidence des déterminants génétiques.

PIM-1/NFAT : UNE NOUVELLE VOIE D'INVESTIGATION DANS LA LUTTE CONTRE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE

Paulin R, Meloche J, Courboulin A, Lambert C, Bonnet S.
Centre hospitalier universitaire de Québec – Pavillon de l'Hôtel-Dieu, Québec.

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une pathologie vasculaire caractérisée par une augmentation de la prolifération et une résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) de l'artère pulmonaire (AP). Nous avons récemment démontré que l'HTAP humaine est associée à l'activation du facteur de transcription NFAT (*Nuclear factor of activated T-cells*), à l'origine de nombreux désordres cellulaires dont une diminution de l'expression des canaux potassiques Kv1.5 (augmente le [Ca2+]i et stimule la prolifération), et une hyperpolarisation du potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\Psi m$) (inhibe l'apoptose). L'inhibition de NFAT est associée à de graves effets secondaires (immunosuppression). Comprendre les mécanismes d'activation de NFAT dans l'HTAP est donc d'un grand intérêt thérapeutique. L'oncoprotéine kinase Pim-1, décrite comme exprimée dans les cellules cancéreuses, est également reconnue comme un puissant activateur de NFAT. Parce qu'il existe de nombreuses similarités entre cancer et HTAP, nous émettons l'hypothèse que Pim1 est en cause dans pathogenèse de l'HTAP. **Méthode :** Nous avons utilisé des CMLV humaines, issues d'AP de patients sains ou atteints par une HTAP idiopathique, ainsi qu'un modèle établi de rat, injectés à la monocrotaline M-HTAP. **Résultats :** Par *Western blot* et qRT-PCR, nous avons montré que Pim-1 est exprimée dans l'HTAP humaine et expérimentale, mais pas dans les CMLV saines et les rats contrôles. Nous avons démontré que l'inhibition de Pim-1 (Adénovirus dominant négatif DN-Pim-1 et siRNA) dans les CMLV-HTAP inhibe l'activation de NFAT (essai luciférase), dépolarise le $\Delta\Psi m$ (TMRM, n=150 p<0,05) et augmente de 20% l'apoptose (TUNEL, n=150 p<0,05); puis diminue le $[Ca^{2+}]i$ (FLUO3, n=150 p<0,05) et inhibe de 30% de la prolifération (PCNA, n=150 p<0,05). Des résultats opposés sont obtenus dans des CMLV saines par infection avec un adénovirus exprimant la protéine Pim-1 sauvage. Finalement, une inhibition de Pim-1 *in vivo* (inhalation de siRNA) sur des rats M-HTAP (n=10 p<0,05) montre une efficacité thérapeutique en diminuant spécifiquement l'activation de NFAT dans les APs puis en diminuant la pression dans l'AP, l'épaisseur de la paroi vasculaire ainsi que l'hypertrophie ventriculaire droite (Echo et cathétérisation). **Conclusion :** Nous avons démontré que l'inhibition de l'activation inappropriée de Pim-1 dans l'HTAP est une nouvelle et une intéressante stratégie thérapeutique pour inverser l'HTAP.

L'EXPOSITION NÉONATALE À L'OXYGÈNE ALTÈRE LA GLOMÉRULOGENÈSE : RÔLE DU HIF1α DANS LA PROGRAMMATION DE L'HYPERTENSION

Popescu CR, Sartelet H, Benoît G, Phan V, Yzydorczyk C, Touyz RM, Lelièvre-Pégorier M, Nuyt AM.
CHU Ste-Justine, Université de Montréal.

Des conditions fœtales/néonatales néfastes sont associées à de l'hypertension artérielle chez l'adulte. Des données récentes suggèrent un rôle du stress oxydatif dans la programmation développementale de l'hypertension. Aussi, HIF1α a été impliqué dans le développement rénal. Puisque les patients atteints d'une hypertension primaire ont aussi une oligonéphronie, nous postulons qu'une insulte oxydative néonatale peut altérer la néphrogenèse chez les individus immatures/susceptibles et peut ainsi jouer un rôle dans la programmation développementale de l'hypertension. **Méthode :** Des ratons Sprague-Dawley furent maintenus dans 80% d'O_2 vs l'air ambiant (AA) du 3e(P3) au 10e(P10) jour de vie. Les ratons (n=12, 6 mâles et 6 femelles) ont été sacrifiés à P5 (pendant la période de glomérulogenèse active, qui s'achève chez le rat vers P7) et à P10. Diméthyloxalylglycine (DMOG), un stabilisateur de HIF1α, a été administrée à P2 et P4. La zone de glomérulogenèse et le diamètre des glomérules à P5, et l'épaisseur du cortex à P10 ont été étudiés par histologie. L'expression de HIF1α a été analysée par immunohistologie à P5. **Résultats :** Chez les ratons exposés à l'O_2 vs l'AA, la zone de glomérulogenèse (138 ± 4 vs 204 ± 5 μm) et le diamètre moyen des glomérules matures (64 ± 1 vs 79 ± 1 μm) sont significativement (p<0,05) réduits. L'expression de HIF1α est nettement diminuée dans la zone de glomérulogenèse et l'interstitium cortical du groupe exposé à l'O_2. L'administration du DMOG a rétabli l'épaisseur de la zone de glomérulogenèse (132 ± 2 vs 181 ± 4 μm) et le diamètre glomérulaire (67 ± 1 vs 73 ± 1 μm). Chez les rats adultes (25-30 semaines) exposés à l'O_2, le nombre des néphrons/rein est significativement réduit (de 25%). **Conclusions :** Chez les ratons, l'hyperoxie néonatale altère la néphrogenèse, ce qui mène à une oligonéphronie chez les adultes, possiblement par une réduction de la tubulogenèse et vasculogenèse médiées par HIF. Nos résultats soutiennent l'hypothèse de la programmation développementale des maladies cardiovasculaires par le stress oxydatif néonatal, via, entre autres, une altération du développement rénal. Nos résultats sont importants pour la population croissante des individus nés prématurément qui, ayant subi une insulte oxydative néonatale, peuvent montrer une prédisposition à l'hypertension artérielle et aux maladies rénales.

RÉDUCTION DE LA TAILLE DE L'INFARCTUS ET DE L'APOPTOSE DANS LE SYSTÈME LIMBIQUE PAR UNE DIÈTE RICHE EN OMÉGA-3

Rondeau I, Picard S, Madjou Bah T, Roy L. Godbout R, Rouseau G.
Centre de biomédecine, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal.

La réponse inflammatoire provoquée par l'infarctus du myocarde induit la mort de cellules du système limbique par apoptose. La consommation d'oméga-3 est bien connue pour ses effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire ainsi que pour ses propriétés anti-inflammatoires alors que les oméga-6 produisent des métabolites pro-inflammatoires. Comme les oméga-3 et les oméga-6 sont métabolisés par les mêmes enzymes, la compétition résultante va se refléter sur la balance anti-inflammatoire/pro-inflammatoire. Le but de cette étude est de déterminer l'effet de différents ratios oméga-3/oméga-6 alimentaires sur la taille d'infarctus et sur l'apoptose dans le système limbique dans un modèle d'infarctus du myocarde reperfusé chez le rat. **Méthodes :** Des rats mâles ont été nourris pendant deux semaines avec des diètes alimentaires contenant différents ratios d'oméga-3/oméga-6 : 5/1, 1/1 et 1/5. Par la suite, ils ont subi une occlusion de l'artère coronarienne gauche descendante pendant 40 minutes suivie de 24 heures de reperfusion. La taille de l'infarctus du myocarde et l'activité de différentes caspases ont été évaluées dans l'hippocampe et l'amygdale. **Résultats :** La taille de l'infarctus est significativement diminuée de 30% dans les groupes 5/1 et 1/1 en comparaison avec le groupe 1/5. L'activité enzymatique de la caspase 3 a doublé dans la région CA1 et du corps godronné pour le groupe 1/5 en comparaison aux groupes 1/1 et 5/1. L'activité enzymatique de la caspase 8 est augmentée dans le corps godronné, alors que celle de la caspase 9 est augmentée dans la région CA1 dans le groupe 1/5 en comparaison aux groupes 1/1 et 5/1. **Conclusion :** Ces résultats indiquent qu'un ratio élevé d'oméga-3/oméga-6 réduit la taille de l'infarctus et diminue l'apoptose dans le système limbique à la suite d'un infarctus du myocarde.

RÔLES DE LA PROTÉINE DE CONJUGAISON DE L'UBIQUITINE UBC13 DANS DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES EXPOSÉES À L'ANGIOTENSINE II

St-Amant Verret M, Servant M.
Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

L'athérosclérose est une lésion de la paroi des artères qui se caractérise par des processus inflammatoires chroniques menant au recrutement de leucocytes suivi par la migration et la division des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) dans l'espace subendothélial. Différentes études ont proposé que les rôles proinflammatoires de l'angiotensine II (Ang II), via son récepteur AT1, seraient importants dans le développement de cette maladie. Par contre, les mécanismes moléculaires jouant un rôle dans les actions de l'Ang II ne sont pas tous élucidés. La majorité des actions de l'Ang II se fait via l'activation d'une variété de cascades de signalisation dont l'activation de la voie phosphoinositide 3-kinase (PI3K), des voies *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs); c-Jun N-terminal kinases (JNKs), p38 kinases et *extracellular signal-regulated kinases* (ERK) et l'activation du facteur de transcription NF-κB via le complexe IKK. Récemment, l'implication d'une nouvelle modification post-traductionnelle, soit la polyubiquitination en lysine 63 (K63) de IKKγ sous unité régulatrice du complexe IKK, a été démontrée dans la signalisation cellulaire du récepteur AT1. Les enzymes de conjugaison de l'ubiquitine, Ubc5, Ubc7 et Ubc13, sont impliquées dans les processus de polyubiquitination en K63. Des études ont démontré le rôle d'Ubc13 dans la polyubiquitination en K63 de IKKγ dans la voie IL-1β. Nous suggérons l'importance des enzymes de conjugaisons de l'ubiquitine, dont Ubc13, dans la signalisation cellulaire de l'Ang II, entre autres, via la polyubiquitination en K63 de IKKγ. **Méthodes :** Immunobuvardage de type Western, ARN interférent (siARN) et créer des populations stables par l'utilisation ARN en boucle d'épingle (shARN). **Résultats :** Selon des approches shARN et siARN, la diminution de l'expression protéique d'Ubc13 n'a pas d'effets sur l'activation des voies MAPKs par phosphoblot dans des CMLV. Par contre, par siARN, la combinaison de Ubc7 et de Ubc13 diminue l'activation du complexe IKK, de Akt et des MAPKs ERK, JNKs et p38. **Conclusion :** Cette étude suggère l'importance de la polyubiquitination en K63 dans les voies de signalisation de l'Ang II. Ubc7 et Ubc13 seraient des joueurs clés dans la transduction cellulaire de l'Ang II au niveau du remodelage vasculaire et de ses effets proinflammatoires. Ces études pourraient permettre d'identifier de nouveaux candidats afin de traiter les maladies cardiovasculaires.

LES CHÉMORÉCEPTEURS INFLUENCENT-ILS LA FRÉQUENCE CARDIAQUE À L'EXERCICE DES SUJETS AVEC UNE DYSFONCTION DIASTOLIQUE ?

Salamin G, Ferland A, Lacroix S, Legault S, Poirier P, Brassard P.
Centre de recherche, Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Université Laval, Québec.

La dysfonction diastolique (DD) est associée à une diminution de la capacité à l'exercice. Une réduction de la fréquence cardiaque (FC) maximale (FCmax) pourrait contribuer à cette altération. Les mécanismes sous-jacents à cette baisse de la FCmax restent ambigus. Les réflexes cardio-pulmonaires jouent un rôle majeur dans le contrôle des réponses hémodynamiques et une altération des barorécepteurs a été rapportée chez des sujets avec DD. L'influence des chémorécepteurs sur les réponses hémodynamiques en présence d'une DD n'est pas connue. **Objectif :** Évaluer les réponses hémodynamiques médiées par les chémorécepteurs lors d'une hypercapnie hyperoxique en relation avec la capacité à l'exercice. **Méthode :** Dix-neuf hommes sédentaires ont été recrutés et divisés en deux groupes sur la base de la présence (n=10) ou de l'absence (n=9) d'une DD de repos. Les réponses ventilatoires, tensionnelles et chronotropes induites par la stimulation des chémorécepteurs lors d'une hypercapnie hyperoxique, les fonctions cardiaques et pulmonaires et la capacité à l'exercice lors d'une épreuve d'effort de type rampe sur ergocycle ont été évaluées. **Résultats :** Les caractéristiques anthropométriques et la fonction pulmonaire étaient similaires entre les deux groupes. Les sujets avec DD avaient une FCmax diminuée comparativement aux sujets sans DD (152±12 vs 169±15 batt min^{-1}; p<0,01) alors que leur ventilation maximale tendait à être inférieure (93±21 vs 117±33 L min^{-1}; p=0,07). Les sujets avec DD avaient une consommation maximale d'oxygène 17% inférieure à celle des sujets sans DD (24,5±3,2 vs 29,5±3,5 ml kg min^{-1}; p<0,01). La stimulation des chémorécepteurs a induit une réponse ventilatoire similaire entre les groupes, mais une augmentation exagérée de la pression artérielle systolique (65±13 vs 42±11 mmHg; p<0,01) et une élévation moindre de la FC (7±5 vs 22±9 batt min^{-1}; p<0,01) chez les sujets avec DD comparativement aux sujets sans DD. La réponse chronotrope induite par la stimulation des chémorécepteurs corrélait avec la FCmax mesurée lors de l'épreuve d'effort (r=0,609; p<0,05). **Conclusion :** Ces résultats suggèrent que la DD est associée à une augmentation atténuée de la FC lors d'une stimulation des chémorécepteurs et pourrait être l'un des mécanismes sous-jacents à la FCmax réduite chez les sujets avec DD.

IMPLICATION D'IGF-1R ET C-SRC DANS LA PHOSPHORYLATION DE PKB INDUITE PAR L'ENDOTHÉLINE-1 ET L'ANGIOTENSINE II DANS LES VSMC

Vardatsikos G, Bouallegue A, Srivastava AK.
Laboratoire de signalisation cellulaire, Centre de recherche CHUM, Université de Montréal.

Objectif : Nous avons démontré précédemment que l'insuline-*like growth factor-1 receptor* (IGF-1R) joue un rôle dans la transduction des effets de l'H2O2, conduisant à la phosphorylation de la protéine kinase B (PKB). Parce que les peptides vasoactifs provoquent leurs réactions par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), y compris l'H2O2, nous avons cherché à savoir si la transactivation d'IGF-1R joue un rôle similaire dans la phosphorylation de PKB et les réponses hypertrophiques et proliférations induites par l'endothéline-1 (ET-1) et l'angiotensine II (Ang II) dans les cellules de muscles lisses vasculaires (VSMC).
Méthode : La phosphorylation a été mesurée par immunobuvardage de type Western en utilisant des anticorps phosphospécifiques pour les sites de phosphorylation en tyrosine d'IGF-1R et de c-Src. Aussi, des inhibiteurs pharmacologiques ont été utilisés pour inhiber l'activité protéine tyrosine kinase d'IGF-1R et de c-Src. La synthèse de protéines a été analysée par l'incorporation d'[3H] leucine dans la fraction protéique précipitable dans 5% d'acide trichloracétique (TCA) et la synthèse d'ADN a été analysée par incorporation de thymidine [3H] dans les cellules.
Résultats : AG-1024, un inhibiteur spécifique d'IGF-1R, a atténué à la fois la phosphorylation de PKB induite par l'ET-1 et l'Ang II d'une manière dose-dépendante. L'ET-1 et le traitement d'Ang II a également induit la phosphorylation des résidus tyrosines dans les sites d'autophosphorylation d'IGF-1R, qui a été bloquée par AG-1024. De plus, l'ET-1 et Ang II ont aussi évoqué la phosphorylation en tyrosine de c-Src, une protéine tyrosine kinase non-récepteur, et l'inhibition pharmacologique de l'activité de c-Src par PP-2, un inhibiteur spécifique de la famille des tyrosines kinases Src, a considérablement réduit la phosphorylation de PKB ainsi que la phosphorylation en tyrosine d'IGF-1R induite par les deux peptides vasoactifs. En outre, la synthèse protéique et de l'ADN rehaussé par l'ET-1 et Ang II ont également été atténués par l'AG-1024 et le PP-2.
Conclusion : Ces données suggèrent que les protéines tyrosines kinases IGF-1R et c-Src jouent un rôle crucial dans la médiation de la phosphorylation de PKB, ainsi que les réponses hypertrophiques et proliférations induites par l'ET-1 et l'Ang II dans les cellules A-10 VSMC.

L'EFFET DE L'EXERCISE PHYSIQUE SUR L'OCYTOCINE CARDIAQUE ET LE SYSTÈME DE PEPTIDES NATRIURÉTIQUES CHEZ LES RATS DIABÉTIQUES

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

La cardiomyopathie est une cause majeure conduisant au décès chez les patients diabétiques. L'ocytocine (OT) et ses récepteurs (OTR) sont présents et synthétisés dans le cœur. La fonction cardioprotectrice du système OT a été établie par son capacité à induire le relâchement de l'ANP, l'effet sur la contractilité cardiaque ainsi que l'incorporation du glucose dans les cellules. Des études épidémiologiques ont montré que les exercices physiques (EP) ont un effet cardiovasculaire bénéfique. Nous avons démontré que l'EP augmente la synthèse de l'OT et de NPs dans le cœur et améliore les paramètres corporels chez les rates ovariectomisées. **Objectif :** Examiner l'effet de l'EP sur l'expression du système OT-NP dans le cœur des souris obèses et les diabétiques de type 2. **Méthodes :** Les souris ob/ob âgées de 5 semaines, déficitaires en leptine, obèses ont été divisées en 2 groupes : sédentaire et EP, puis soumises à l'EP volontaire pendant 8 semaines par l'installation d'une sorte de roue dans leur cage. **Résultats :** Dans le groupe contrôle de ob/ob, l'EP n'a pas changé le poids corporel (PC), le poids du cœur, triglycérides (TG) et glucose plasmatiques mais a réduit les expressions des ARNm de l'OT (55%) et de GLUT4 (transporteur de glucose, 30%). Par ailleurs, on note dans ce groupe une augmentation des ARNm de NPR-C (190%) et eNOS (200%). Comparé à leur groupe contrôle, les ob/ob présentaient le phénotype d'obésité (PC, 53,5±1,7 vs 30,8±0,6g), une augmentation de TG plasmatique (104±9 vs 61±3mg/dl) et de glycémie (407±43 vs 208±19mg/dl). Le PCR a montré une augmentation des expressions des ARNm pour NPR-C (225%), eNOS (185%) et Nab1 (320%), puis une diminution pour OT (30%), OTR (50%), BNP (60%) et GLUT4 (30%). À la suite de l'EP, il y a une réduction du PC (44,2±1,5 vs 53,5±1,7g) mais une augmentation de TG (144±17 vs 104±9 mg/dl) et du taux de glucose plasmatiques (542±40 vs 407±43 mg/dl). Ces changements corrèlent avec une réduction des expressions des gènes cardioprotecteurs de OT (50%), ANP (72%), BNP (56%), CNP (48%), NPR-C (85%). **Conclusion :** Nos résultats suggèrent que l'EP volontaire utilisé dans ce modèle ob/ob diabétique a un effet négatif sur tous ces paramètres plasmatiques étudiés et entraîne une diminution des expressions des gènes cardioprotecteurs.

DES CHANGEMENTS VASCULAIRES STRUCTURAUX PRÉCÈDENT L'HYPERTENSION ET LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE LIÉE À UN STRESS HYPEROXIQUE NÉONATAL

Yzydorczyk C, Mivelaz Y, Barbier A, Cloutier F, Huyard F, Cloutier A, Sartelet H, DeBlois D, Comte B, Nuyt AM.
Centre de recherche CHU Ste-Justine, Université de Montréal.
INRA, Centre Clermont-Ferrand-Theix, UMR 1019, Unité de nutrition humaine, St-Genès Champanelle, France.

Nous avons récemment montré qu'une exposition néonatale à l'oxygène conduit, à l'âge adulte, à une augmentation de la pression sanguine, une dysfonction vasculaire et une raréfaction microvasculaire. Le but de cette étude est de déterminer si des changements structuraux de la paroi artérielle sont aussi associés à un stress hyperoxique néonatal et si la dysfonction vasculaire et les changements structuraux sont primaires ou secondaires à l'élévation de la pression sanguine. **Méthodes :** Des ratons Sprague-Dawley ont été exposés à 80% d'O_2 *vs* air ambiant (AA) du 3e au 10e jour de vie. À 4 semaines, la densité des fibres d'élastine (coloration de Verhoeff) et de collagène (trichrome de Masson) a été quantifiée (média aortique). La pression sanguine à la queue, la réactivité vasculaire à l'angiotensine II et au carbachol (*ex vivo*, aorte), la production d'anions superoxide (aorte, dihydroethydine), la densité microvasculaire (muscle tibia, lectine-TRITC), l'épaisseur de la média aortique et le nombre de cellules musculaires lisses (CML, média aortique) (histologie) ont été mesurés. À l'âge adulte, la vitesse d'onde pulsée a été mesurée (échocardiographie). **Résultats :** À 4 semaines chez les O_2 : i) la densité des fibres d'élastine est significativement diminuée (40%) alors que celle de collagène est significativement augmentée (24%); ii) la pression artérielle, les réponses vasomotrices, la production vasculaire d'anions superoxide, l'épaisseur de la média et le nombre de CML de la paroi aortique sont similaires; iii) la densité microvasculaire est significativement réduite (O_2 : 963 ± 47 vs AA : 1405 ± 55 capillaires/mm^2). Chez l'adulte, la vitesse d'onde pulsée est significativement augmentée (O_2 : 505 ± 18 vs AA : 421 ± 17 cm/s). **Conclusion :** Un stress néonatal hyperoxique conduit à des changements vasculaires structuraux des artères de conductance et de la microvasculature, établis avant l'élévation de la pression sanguine et de la dysfonction vasculaire. Ces éléments pourraient ainsi participer à l'élévation de la pression sanguine et à l'augmentation de la rigidité artérielle observée à l'âge adulte.