

L'ACTIVATION DU RÉCEPTEUR I₁ PAR LA MOXONIDINE OPPOSE LES EFFETS DE LA NORÉPINÉPHRINE DANS LES CELLULAIRES CARDIAQUES

Aceros H, Farah G, Mukaddam-Daher S.
Centre de recherche du CHUM St-Luc, Département de pharmacologie, Université de Montréal.

Des études antérieures ont montré que le traitement des rats hypertendus avec moxonidine diminue l'hypertrophie du ventricule gauche. Mais le type cellulaire affecté par la moxonidine, les effets sur la croissance/survie cellulaire et les voies de signalisation en cause sont inconnus.

Méthodes: Cardiomyocytes et fibroblastes isolés des rats néonataux sont incubés dans un milieu DMEM+0,1% sérum bovin fœtal (FBS) (milieu de starvation). Les cellules ont été incubées avec norépinéphrine (NE, 10⁻⁵ M), pour 15 min pour des mesures moléculaires (MAPK et AKT) par Western Blot ou pendant 24-48h pour la mesure de la prolifération/survie cellulaire par le test MTT.

Résultats: L'incubation dans DMEM+10% FBS augmente la viabilité des cardiomyocytes (132±4%, P<0,05) et fibroblastes (152±4% P<0,05), en comparaison avec le milieu de starvation (100%). De plus, la NE augmente la viabilité des cardiomyocytes (147±2% P<0,05) et des fibroblastes (165±2% P<0,05). Dans les cardiomyocytes, la NE augmente (p<0,05) la phosphorylation de l'AKT (147±12%), ERK (128±14%) et JNK (146±20%) mais pas p38 MAPK. Par contre, dans les fibroblastes, la NE augmente la phosphorylation d'ERK (163±50%) et p38 (157±43%), mais pas JNK et AKT. L'effet de NE sur la prolifération cellulaire est opposé par moxonidine. Les mécanismes en jeu sont l'inhibition d'ERK dans les cardiomyocytes et l'inhibition d'ERK et p38 dans les fibroblastes.

Conclusion: Dans les cellules cardiaques néonatales, l'activation des récepteurs aux imidazolines oppose les effets pro-hypertrophiques et prolifératifs de la norépinéphrine. Les effets sont plus importants dans les fibroblastes, ce qui pourrait suggérer une sensibilité majeure de ces cellules au traitement.

RÔLE DU RÉCEPTEUR DE LA (PRO)RÉNINE DANS LE DÉVELOPPEMENT DE L'OBÉSITÉ, UNE NOUVELLE THÉORIE

Ahmed B, Michel C, Seda O, Lavoie JL.
Département de physiologie de l'Université de Montréal;
Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

Le récepteur de la (Pro)rénine [(P)RR] est un nouveau membre du système rénine-angiotensine. Nous avons récemment démontré dans notre laboratoire que l'expression du (P)RR est augmentée dans les tissus adipeux des souris obèses et que l'injection d'un bloqueur du (P)RR est accompagnée par une prise de poids et un appétit réduit. Pour mieux illustrer le rôle du (P)RR dans le développement de l'obésité, nous avons émis l'hypothèse que les souris déficientes en (P)RR uniquement dans le tissu adipeux (KO) seront résistantes à la prise de poids par rapport à leurs congénères de type sauvage (WT).

Méthode: Les souris KO ont été créées à l'aide de la technologie *Cre / LoxP*. Les femelles KO *hétérozygotes* et WT ont été maintenues pendant 4 semaines sur une diète normale suivie par 7 semaines sur une diète riche en gras, tandis que les mâles KO et WT ont été maintenus pendant 12 semaines sur une diète normale. La consommation alimentaire hebdomadaire et la prise de poids ont été mesurées. Un *echoMRI* a été fait au début et à la fin de chaque diète pour analyser la composition corporelle. Des cages *PHYSIOSCAN* ont été utilisées pour l'évaluation du métabolisme de base et de l'activité. À la suite de ces mesures, les souris ont été sacrifiées et les tissus adipeux, le foie, le cœur et les reins ont été collectés et pesés. Le sérum a été recueilli pour mesurer les niveaux de leptine.

Résultats: Les souris KO étaient significativement plus petites que les souris WT à la fin de chaque diète. Ceci résulte d'une diminution de leur masse grasse, alors qu'une augmentation significative de leur masse maigre a été mesurée par rapport aux WT. En accord avec ces résultats, les niveaux de leptine étaient plus faibles chez les KO. Toutefois, aucune modification de l'appétit n'a été observée. Par contre, nous avons observé une augmentation importante de l'activité.

Conclusion: Nos résultats suggèrent donc que le (P)RR dans le tissu adipeux peut jouer un rôle important dans le développement de l'obésité. Toutefois, des expériences additionnelles seront nécessaires afin de déterminer les mécanismes en cause.

EFFETS BIOLOGIQUES DE L'OCYTOCINE SUR LES PARAMÈTRES CARDIOVASCULAIRES

Aliou Y, Lavoie LJ, Jankowski M, Gutowska J.
Laboratoire de biochimie cardiovasculaire, Centre de recherche CHUM Hôtel-Dieu, Montréal.

L'ocytocine (OT) était connue pour ses effets lors de la parturition et de la lactation. La découverte de l'OT et de son récepteur dans le cœur et les vaisseaux a suggéré un rôle fonctionnel de cette hormone dans le système cardiovasculaire. Il subsiste une controverse concernant le rôle de l'OT dans la régulation de la pression artérielle (PA). Des études additionnelles sont donc requises afin de déterminer le rôle de l'OT dans le contrôle de la PA chez les sujets hypertendus.

Objectif: Étudier par télémétrie l'effet de l'administration systémique de l'OT sur la PA et la fréquence cardiaque (FC) afin d'établir les conditions optimales de traitement de l'hypertension chez les rats hypertendus (SHR).

Méthodes: Les cathéters d'implants de télémétrie ont été insérés dans l'aorte abdominale des rats normotendus Sprague-Dawley (SD) et SHR. Après 10 jours de récupération, la PA et la FC ont été mesurées de façon continue. Des doses de 0,1, 0,2 et 0,4 mg/kg ont été administrées en une seule fois par voie intraveineuse (i.v.). Après chaque dose, la PA et la FC sont suivies jusqu'à la normalisation avant injection de la prochaine dose. D'autre part, cinq injections consécutives d'OT ont été faites pour chacune des doses (0,5 et 1 mg/kg) en sous-cutanées (s.c.).

Résultats: Les doses s.c. d'OT diminuent significativement la PA chez les SHR alors que chez les SD la baisse a été significative seulement la nuit et avec la dose la plus élevée (1 mg/kg). La FC a diminué significativement chez les deux souches. Les doses de 0,1 et 0,2 mg/kg d'OT en i.v. diminuent la PA chez les SHR et les SD. La dose de 0,4 mg augmente la PA en journée chez les SD et la diminue pendant la nuit. Cela suggère que la dose élevée activerait les récepteurs de la vasopressine. Quant à la FC, elle a diminué chez les 2 souches pendant la nuit.

Conclusion: Les effets de l'OT sur la PA sont très complexes et dépendent des souches de rats, de la voie et la durée d'administration, de la dose administrée et du moment d'enregistrement. Les SHR sont plus sensibles à l'administration de l'OT que les SD. En somme l'OT a un rôle antihypertenseur et son action dépend de la dose injectée.

LES ANTAGONISTES DES RÉCEPTEURS DE L'ENDOTHÉLINE DE TYPE A PRÉVIENNENT LES EFFETS DÉLÉTÈRES DE L'ÉRYTHROPOÏÉTINE SUR LE SYSTÈME CARDIOVASCULAIRE DANS UN MODÈLE DE SOURIS SUREXPRESSANT L'ENDOTHÉLINE-1

Barhoumi T, Briet M, Kasal D, Paradis P, Laurant P, Schiffrin EL.
Unité de recherche en hypertension artérielle et maladies vasculaires, Institut Lady Davis, Hôpital général juif - SMBD, Université McGill, Montréal.

Une augmentation de la pression artérielle a été associée au traitement par érythropoïétine recombinante humaine (rhEPO) chez les patients ayant une maladie rénale chronique et chez certains modèles animaux. Cependant, les mécanismes en cause dans l'atteinte cardiovasculaire associée au traitement par rhEPO restent à déterminer. Nous avons fait l'hypothèse que les récepteurs de l'endothéline (RET_A et RET_B) seraient en cause. Nous avons développé des souris transgéniques surexprimant la preproET-1 (eET-1) dans l'endothélium qui présentent une augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation, une dysfonction endothéliale et un remodelage hypertrophique sans hypertension artérielle.

Méthodes: Un total de 24 souris eET-1 traitées ou non par EPO (100 U/kg, s.c., 3 fois/semaine) ont reçu un antagoniste RET_A ou RET_B pendant 8 semaines. La réactivité vasculaire à l'acétylcholine (ACh) a été testée au niveau des artères mésentériques sur un myographe pressurisé.

Résultats: L'hypertension artérielle induite par l'administration de rhEPO chez les souris eET-1 (+20%, P<0,05) a été prévenue par l'administration d'un antagoniste RET_A (P<0,01) mais pas par un antagoniste RET_B. L'activité de la NADPH oxydase a été multipliée par deux dans l'aorte (P<0,01) et le cœur (P<0,01) des souris eET-1 traitées par rhEPO par comparaison avec les souris eET-1 non traitées, effet prévenu par l'administration d'un antagoniste RET_A (P<0,01). La réponse vasodilatatrice à l'ACh était significativement réduite chez les souris eET-1 traitées par rhEPO comparées aux souris eET-1 non traitées (relaxation maximale 68% vs 91% respectivement, P<0,01), effet non modifié par l'administration d'un antagoniste RET_A et aggravé par un antagoniste RET_B (relaxation maximale 36% vs 68%, P=0,04).

Conclusions: Nos résultats suggèrent que les effets délétères de rhEPO chez les souris eET-1 sur la pression artérielle, le stress oxydatif sont en partie médiés par les récepteurs ET_A. Les récepteurs ET_B semblent avoir un effet protecteur.

UNE EXPOSITION NÉONATALE À L'OXYGÈNE MÈNE À UNE DYSFONCTION CARDIAQUE CHEZ LE RAT ADULTE

Bertagnoli M, Huyard F, Youndje K, Barbier A, Cloutier A, Nuyt AM.
Centre de recherche CHU Ste-Justine, Montréal.

L'exposition à l'oxygène (O₂) chez les ratons nouveau-nés peut avoir des conséquences vasculaires à long terme dont, à l'âge adulte, une hypertension artérielle (HTA) et une dysfonction vasculaire. En considérant que le cœur est encore en développement actif lors des premiers jours après la naissance chez les rats, nous postulons que les conditions délétères après la naissance ont un impact significatif sur le développement de la structure et la fonction cardiaque. **Objectif:** Déterminer si une exposition néonatale à l'O₂ conduit à une hypertrophie et à une dysfonction cardiaque chez l'adulte, de base et après une infusion d'angiotensine II (AngII). **Méthodes:** Des ratons Sprague-Dawley sont exposés à 80% (H) ou 21% O₂ (Ctrl) du 3^e au 10^e jour de vie. À 12 semaines, des pompes osmotiques contenant du salin ou de l'AngII (100 ng/kg/jour i.v.) sont installées pour 4 semaines. La tension artérielle (TA) et la fonction du ventricule gauche (VG) sont étudiées par un cathéter intra ventriculaire mesurant les pressions diastoliques (LVEDP) et systoliques, les dérivations de contractibilité (+dP/dT) et de relaxation (-dP/dT). L'index d'hypertrophie cardiaque (CHI) est déterminé par le ratio poids cœur/animal. Les données sont exprimées avec la moyenne ± SD. **Résultats:** Les animaux H présentent une LVEDP élevée (19,3±4,3 vs 13,6±2,6 mmHg), une diminution du +dP/dT (1707±149 vs 1947±223) et du -dP/dT (-1486±115 vs -1616±272) ainsi qu'une augmentation du CHI (2,81±0,09 vs 2,66±0,15) comparativement au groupe Ctrl. Après une infusion chronique d'AngII, le groupe H (vs Ctrl) présente une augmentation plus prononcée de la TA (137±11 vs 124±8 mmHg), de la LVEDP (24,2±7,5 vs 18,0±3,7 mmHg), ainsi qu'une diminution significative de +dP/dT (1228±235 vs 1692±136) et de -dP/dT (-1061±217 vs -1357±193), indiquant une importante dysfonction et une défaillance cardiaque. Après infusion d'AngII, les Ctrl présentent une légère dysfonction cardiaque avec augmentation du LVEDP et diminution des dérivations, comparativement à leurs valeurs de base. Le CHI est également significativement augmenté dans le groupe H vs Ctrl avec infusion d'AngII. **Conclusions:** Une exposition néonatale à l'O₂ conduit, chez le rat adulte, à une hypertrophie cardiaque et à une dysfonction diastolique du VG. De plus, la dysfonction cardiaque est amplifiée après l'infusion d'AngII chez le groupe H, indiquant une diminution de la capacité d'adaptation cardiaque de ces rats soumis à une hyperoxie néonatale.

EFFETS D'UN TRAITEMENT CHRONIQUE AU TEMPOL SUR LA VOIE DE SIGNALISATION DE L'INSULINE CHEZ LE RAT INSULINO-RÉSISTANT

Bourgoin F, Pitre M, Larivière R, Bachelard H.
Centre de recherche CHUQ, Québec.

Une réduction de la disponibilité du NO endothélial, par sa séquestration ou son inactivation par les radicaux libres, induit par une diète riche en gras et en sucre (HFHS), pourrait expliquer le lien entre la dysfonction endothéliale et la résistance à l'insuline. **Objectif:** 1- Caractériser les effets d'un traitement chronique avec le tempol, un mimétique de la SOD, perméable aux membranes et neutralisateur des radicaux libres, sur la voie de signalisation de l'insuline et les altérations vasculaires induites, chez des rats, par un régime HFHS. 2- Démontrer que l'augmentation de la disponibilité du NO pourrait contribuer aux changements observés suivant le traitement au tempol. **Méthodes:** Des rats mâles âgés de 5 semaines, divisés en 4 groupes. Un groupe de rats a été nourri avec de la nourriture chow, alors que les 3 autres ont reçu le régime HFHS pendant 8 semaines. Parmi les animaux nourris avec le régime HFHS, un groupe a été traité avec le tempol (1,5 mmol/kg/jour dans l'eau) pour toute la durée de la diète, alors qu'un deuxième groupe a reçu le tempol pendant les 4 dernières semaines de la diète. Les rats ont été sacrifiés et de la réactivité vasculaire *in vitro* a été réalisée sur des anneaux d'aortes isolés. L'expression et/ou la phosphorylation des protéines de la voie de signalisation de l'insuline, eNOS, iNOS, NAD(P)H, p38 MAP kinase et GLUT4, en plus de la formation des nitrotyrosines dans l'aorte et/ou le muscle gastrocnémus ont été évaluées par Western Blot. Les niveaux plasmatiques de glucose, insuline, triglycérides et acides gras non-estérifiés (NEFA) ont été évalués. De plus, les niveaux d'immunofluorescence de la protéine eNOS et ED1 ont été mesurés. **Résultats:** Des améliorations significatives de la réactivité vasculaire, une augmentation de l'expression et/ou phosphorylation des protéines de la voie de signalisation de l'insuline, d'eNOS et de GLUT4 et une diminution de l'expression et/ou phosphorylation des protéines iNOS, NAD(P)H et p38 ont été observées dans les 2 groupes de rats HFHS traités au tempol. Une diminution des niveaux plasmatiques de glucose, d'insuline, de triglycérides et de NEFA a aussi été notée. Finalement, une augmentation des niveaux d'immunofluorescence de eNOS et une diminution de ceux d'ED1 ont été mesurés. **Conclusion:** La neutralisation des radicaux libres en plus d'une augmentation de la disponibilité du NO pourrait expliquer les effets bénéfiques notés dans notre modèle animal, suivant le traitement au tempol.

L'INHIBITION DU TONUS CARDIOACCELLÉRATEUR SYMPATHIQUE EST MÉDIÉE PRINCIPALEMENT PAR LES RÉCEPTEURS AUX IMIDAZOLINES I₁ ET LES RÉCEPTEURS α_2 -ADRENERGIQUES CHEZ LES RATS HYPERTENDUS

Cobos-Puc LE, Mukaddam-Daher S, Centurion D.

Centre de recherche CHUM et Département de pharmacologie, Université de Montréal;
Centre de recherche et des hautes études, CINVESTAV-Mexique.

La stimulation centrale des récepteurs α_2 -adrénergiques et aux imidazolines I₁ (dans le tronc cérébral et le bulbe rostro-ventrolatéral, respectivement) diminue la pression artérielle par inhibition de l'activité sympathique. Toutefois, les récepteurs aux imidazolines I₁ sont exprimés dans le cœur et régulés à la hausse chez les animaux hypertendus, tandis que les récepteurs α_2 -adrénergiques sont régulés à la baisse dans la région RVLM, la moelle épinière et le cœur de rats spontanément hypertendus (SHR). Notre hypothèse est que les changements décrits dans l'expression des récepteurs α_2 -adrénergiques et aux imidazolines I₁ dans l'hypertension artérielle peuvent modifier l'effet pharmacologique des agonistes I₁ (agmatine) et α_2 (B-HT 933) sur les nerfs sympathiques cardiaques.

Méthodes: Nous avons analysé l'effet d'une perfusion intraveineuse continue d'agmatine (1000 et 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) et B-HT 933 (30 et 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) sur la tachycardie induite par la stimulation électrique (0,03-3 Hz) des fibres sympathiques chez des rats décérébrés et démyélinisés SHR et Wistar Kyoto (WKY).

Résultats: La stimulation électrique augmente la fréquence cardiaque en fonction de la fréquence de stimulation chez les deux souches de rats, mais les hausses ont été plus élevées chez les SHR. Agmatine inhibe la tachycardie induite électriquement chez les WKY et SHR. L'inhibition sympathique induite par agmatine 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ était plus élevée chez les SHR, en revanche, l'inhibition sympathique cardiaque induite par B-HT 933 (30 et 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) était plus faible chez les SHR.

Conclusion: Dans l'hypertension, l'effet inhibiteur des agonistes imidazoliques sur le tonus cardioaccélérateur sympathique pourrait être associé principalement avec les récepteurs aux imidazolines I₁ et, en moindre mesure, avec les récepteurs α_2 -adrénergiques, en comparaison avec des animaux normotendus.

UN NOUVEAU TRAITEMENT POUR L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE CIBLANT MIR-204 COMME RÉGULATEUR DE LA VOIE STAT3/NFAT

Corboulain A, Paulin R, Giguère NJ, Saksouk N, Paquet E, Côté J, Simard MJ, Bonnet S.
Centre de recherche, Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval.

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une pathologie vasculaire avec remodelage caractérisé par une prolifération et une résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses de l'artère pulmonaire (CMLAP). Le maintien de ce phénotype nécessite l'activation de facteurs de transcription (NFAT, STAT3) dont les mécanismes d'activation restent inconnus. Par leur interaction avec l'ARNm, les microRNAs (miRNAs) jouent un rôle central dans la répression post-transcriptionnelle de nombreux gènes. **Méthodes/Résultats:** La technique de TaqMan à haut débit, nous a permis d'identifier 7 miRNAs dont l'expression est aberrante dans les CMLAP humaines de patients HTAP (CMLAP-HTAP) versus sains (n=4). Parmi eux, seul miR-204 est diminué dans les CMLAP-HTAP (p<0,05), suggérant un rôle critique de ce dernier dans la pathologie. Une analyse *in silico* (TargetScan 5.1) a permis d'identifier des cibles potentielles de miR-204: Jak2, SHP2. Alors que Jak2 n'est pas augmenté dans nos CMLAP-HTAP, nous avons démontré que l'augmentation de SHP2 expliquait l'activation de Src dans les CMLAP-HTAP (western blot), conduisant à l'activation de STAT3/NFAT de façon miR-204 dépendante. La restauration de l'expression de miR-204 (par mimic) dans les CMLAP-HTAP a ainsi montré une diminution de SHP2 (n=3, p<0,05) et de l'activation de la voie Src/STAT3/NFAT. Tandis que la diminution de miR-204 (par antagonisme) dans les CMLAP-saines augmente la prolifération (n=50, p<0,05, PCNA), la résistance à l'apoptose (n=50, p<0,05, TUNEL&TMRM) via une augmentation de l'activation de NFAT (n=5, p<0,05, essai luciférase). Inversement, la restauration de l'expression de miR-204 dans les CMLAP-HTAP renverse ces anomalies. Comme chez l'homme, l'expression de miR-204 est diminuée chez un modèle de rat HTAP-monocrotaline (n=8, p<0,001). *In vivo*, l'inhibition de miR-204 (antagonisme) chez des rats sains provoque une augmentation de la pression et du remodelage vasculaire, alors que la restauration de miR-204 (mimic) chez les rats HTAP-monocrotaline (n=5, i.t. 2 semaines) permet de renverser l'HTAP. **Conclusion:** Nous avons décrit miR-204 dans l'activation de la voie Src/STAT3/NFAT comme étant cruciale au développement de l'HTAP et nous avons montré que miR-204 est une nouvelle cible thérapeutique intéressante pour le traitement de cette pathologie.

IDENTIFICATION ET VALIDATION DES GÈNES EN CAUSE DANS L'HYPERTENSION CHEZ DES SOUCHES CONGÉNÉTIQUES DE RATS

Crespo K, Chauvet C, Blain M, Ménard A, Roy J, Deng AY.
Technopôle Angus, Centre de recherche CHUM, Montréal.

Afin d'identifier les mécanismes responsables de l'hypertension, nos recherches porteront sur la découverte de gènes ou QTLs (*quantitative trait locus*) qui jouent un rôle dans la régulation de la pression artérielle. **Méthodes:** Ainsi des modèles animaux de rongeurs ayant développés de l'hypertension essentielle ont été créés. Notre laboratoire utilise des souches congénétiques de rats, c'est-à-dire des souches où un petit fragment chromosomique sélectionné a été remplacé par la région homologue du même chromosome provenant d'une autre souche. L'analyse des QTLs pour la pression artérielle est alors facilitée grâce à ces souches congénétiques puisqu'on peut remplacer un fragment chromosomique contenant un allèle qui agit en augmentant la pression par un allèle qui agit en diminuant la pression. Le but de la recherche sera donc l'identification des gènes contenant des mutations chez le rat par séquençage des régions codantes et des régions régulatrices de ces gènes potentiels, ainsi que de réduire au maximum les régions d'intérêt chromosomique par identification de *Crossing-Over* (CO) chez nos congénétiques. On pourra alors vérifier si les régions qui trouvent leurs homologues chez l'humain ont des effets sur la fonction physiologique, sur l'hypertension, à partir de nos souches congénétiques de rats. **Résultats:** L'article de K. Crespo, et al. intitulé *Normotension in Lewis and Dahl-salt-resistant rats is governed by different genes*, soumis récemment (2010) au *Journal of Hypertension*, identifie trois gènes candidats (*Nxph4*, *Tac2*, *Rdh2*) positifs pour un QTL situé sur le chromosome 7 murin, responsables de la diminution de la pression artérielle chez une souche congénétique. De plus, le séquençage de deux autres gènes dans ce QTL (*Cyp11b1* et *Cyp11b2*) a permis de poser les bases génétiques de la spécificité des populations qui peut s'avérer déterminante dans l'identification de gènes régulant la pression artérielle. En effet, différents gènes sont responsables de la normotension chez deux souches normotendues de rats, Lewis et Dahl-salt-resistant (DSR). **Conclusion:** Une fine dissection congénétique, couplée à la découverte de mutations dans des gènes candidats donnera suite à des études *in vitro* et *in vivo* destinées à tester l'effet de ces gènes sur la fonction physiologique. Ainsi des techniques de diagnostic ou de thérapie contre l'hypertension pourront voir le jour.

LE PEPTIDE OXYTOCINE-GLY-LYS-ARG INTERAGIT AVEC LE RÉCEPTEUR DE L'OXYTOCINE ET LE RÉCEPTEUR DE VASOPRESSINE IA

Danalache B, Gutkowska J, Jankowski M.

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

L'ocytocine (OT), synthétisée dans le cœur, a la capacité de régénérer le cœur en promouvant la cardiomyogénèse à partir de cellules embryonnaires (D3) des cellules souches d'embryocarcinome (P19 EC) et des cellules souches cardiaques adultes (CSCs). Récemment, nous avons signalé que la molécule OT-GKR, une forme moléculaire intermédiaire de l'OT, contribue aussi à augmenter la différenciation des cellules souches en cardiomyocytes (CM) et à améliorer l'incorporation du glucose dans les CM de rat nouveau-né, et ce, à un niveau supérieur que par une stimulation avec OT.

Méthodologie et Résultats principaux: Une modélisation informatique moléculaire a révélé que le OT-GKR se lie aux sites actifs du récepteur de l'ocytocine (OTR) et du récepteur de la vasopressine V1a (V1aR). Dans les cellules embryonnaires P19, OT-GKR a induit l'apparition de colonies de cellules battantes et de marqueurs de CM ventriculaires de façon plus importante que l'OT. Ces effets étaient supprimés par des antagonistes des OT et des (si) RNA spécifiques pour OTR. L'antagoniste du récepteur V1aR et (si) RNA spécifiques pour V1aR ont également réduit significativement la cardiomyogénèse stimulée par OT-GKR dans les cellules P19.

Conclusions: L'interaction virtuelle d'OT-GKR avec les modèles de V1aR et d'OTR ainsi que l'inhibition partielle de l'apparition de colonies de cellules battantes dans les cellules P19 par l'antagoniste spécifique et le si-ARN lors de la stimulation OT-GKR suggèrent que durant la cardiomyogénèse l'OT-GKR peut se fixer et activer V1aR ainsi que OTR.

L'UBIQUITINATION: UNE NOUVELLE AVENUE THÉRAPEUTIQUE POUR LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES EN LIEN AVEC L'ANGIOTENSINE II

Doyon P, Servant MJ.

Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

L'angiotensine II (Ang II) est en cause au niveau de pathologies cardiovasculaires en influençant, entre autres, l'expression de gènes proinflammatoires étant sous le contrôle du facteur de transcription NF κ B. Il est donc essentiel de démystifier les processus moléculaires couplant le récepteur AT1 de l'Ang II (AT1R) à NF κ B, afin d'accroître les probabilités de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques. Nous avons démontré que l'activation de NF κ B par l'Ang II dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) est dépendante de l'activation de la protéine kinase I κ B beta (IKK β) par la TGFB β -activating kinase (TAK1) et les p90 ribosomal S6 kinases (RSKs). Ces protéines kinases sont des cibles potentielles et l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques sélectifs supporte ce concept. Une seconde modification post-traductionnelle essentielle à l'activation de IKK β par l'Ang II est la formation de chaînes d'ubiquitine en lysine 63 (K63-polyubi). Nos résultats démontrent que la protéine TNF receptor associated factor-6 (TRAF6), une E3 ubiquitine ligase, est en cause dans ce processus.

Méthodes: Immunoprécipitations de la kinase IKK β de CMLV traitées à l'Ang II suivi d'un immunobuvardage avec un anticorps visant K63-polyubi. Utilisation de l'ARN interférant (shRNA) diminuant de manière stable l'expression de TRAF6 dans les CMLV. Utilisation de la désubiquitinase isopeptidase T (IsoT) recombinante sur les extraits des immunoprécipitations.

Résultats: L'Ang II induit au niveau des CMLV, une K63-polyubi de IKK β ou de l'une des protéines qui lui est associée via TRAF6. Par contre, contrairement au dogme selon lequel ces chaînes sont liées covalamment aux protéines d'intérêts, nous observons que lors de l'activation de IKK β par l'Ang II, les K63-polyubi sont libres puisque l'utilisation de l'isoT (une enzyme clivant seulement les chaînes polyubiquitines libres) inhibent complètement le signal K63-polyubi dépendant de TRAF6.

Conclusions: Puisque TRAF6 est en cause dans l'activation de IKK β , et donc de NF κ B, il est un effecteur majeur des processus inflammatoires causés par l'Ang II, donc une cible thérapeutique possible. De plus, la démonstration de la production de chaînes K63-polyubi libres représente un impact important au niveau de la biologie moléculaire, puisque nous proposons la découverte d'un nouveau second messager pour les récepteurs couplés aux protéines G.

L'ANP EST EN CAUSE DANS LA DIFFÉRENCIATION CARDIAQUE MÉDIÉE PAR L'OXYTOCINE

Fadainia C, Danalache B, Gutkowska J, Jankowski M.

Laboratoire de biochimie cardiovasculaire, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôtel-Dieu, Montréal.

L'ocytocine (OT) et son récepteur (OTR) sont présents dans le cœur et régulent la libération du peptide natriurétique auriculaire (ANP). Les OTR sont aussi présents dans les cellules souches embryonnaires (CSE) et sont en cause dans la différenciation des CSE en cardiomyocytes (CM) fonctionnels. GATA4, un marqueur cardiaque, interagit directement avec le facteur de transcription Nkx2.5 pour réguler l'expression du promoteur ANP. Le but de notre expérience est de trouver les voies de signalisation en cause dans la différenciation des CSE P19 en CM. Nous avons émis l'hypothèse que la stimulation de l'ANP contribue à induire la cardiomyogénèse des CSE traitée à l'OT.

Méthodes: Les cellules P19, un modèle murin de CSE, ont été multipliées jusqu'à confluence de 60-70% dans un milieu de culture α -MEM supplémenté de FBS et Pen/Strep et différenciées selon la méthode du *hanging-drops*. Pour induire la différenciation, les CSE ont été traitées avec ANP 10⁷ M, OT 10⁷ et 10⁸ M, pour des durées différentes (0, 15, 30, 60 et 360 min), puis l'ARN et les protéines des CSE P19 ont été extraits pour les analyses de RT-PCR (GATA4, Nkx2.5, MEF2C, ANP) et western blot (ERK 1/2, Akt, OTR).

Résultats: OT induit la différenciation des CSE P19 en colonies de cellules battantes (CCB) (environ 30%), exprimant des marqueurs spécifiques aux CM tels que GATA4, Nkx2.5, MEF2C et ANP par RT-PCR. La différenciation des CSE lorsque stimulées par l'ANP a été associée à l'augmentation de l'ARNm de GATA4. Les analyses par western blot ont montré que les CSE P19 traitées avec l'OT ont augmenté significativement la phosphorylation de ERK 1/2 (P44: 30% et P42: 80%) et Akt (15%) en comparaison aux cellules non traitées.

Conclusion: Nos analyses suggèrent que ERK 1/2 et Akt sont impliquées dans la différenciation des CSE P19 induites par l'OT en CM. L'ANP est augmenté dans les CSE P19 différenciées et pourrait contribuer davantage au processus de différenciation.

L'ACTIVATION DES RÉCEPTEURS AUX IMIDAZOLINES I₁ OPPOSE LES EFFETS DE TNF- α DANS LES FIBROBLASTES CARDIAQUES EN CULTURE

Farah G, Aceros H, Mukaddam-Daher S.

Centre de recherche, CHUM, Hôpital St-Luc; Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

Les récepteurs aux imidazolines I₁ sont des récepteurs non adrénergiques identifiés dans la région rostro-ventrolatérale médullaire du tronc cérébral où ils sont en jeu dans la régulation de la pression artérielle à travers l'inhibition de l'activité sympathique centrale. Notre laboratoire a montré la présence des récepteurs I₁ dans le cœur, au niveau cellulaire dans les cardiomyocytes et les fibroblastes. La fonction des récepteurs I₁ cardiaques reste inconnue. À la suite de la régulation de l'hypertrophie du ventricule gauche par moxonidine, un agoniste des récepteurs I₁, nous avons supposé que les récepteurs I₁ sont en cause dans la survie/mort des cellules cardiaques.

Méthodes: Dans cette étude, nous avons évalués, dans des fibroblastes en culture, l'effet de la moxonidine sur la mort/survie cellulaire et l'activation des MAP kinases (p38, ERK, JNK) et Akt induite par TNF- α . Les fibroblastes cardiaques isolés de rats nouveau-nés (1-2 jours d'âge) ont été utilisés dans le 2^e passage. Les cellules sont rendues quiescentes par incubation dans le DMEM F12+0,1% sérum fœtal bovin (FBS), avant leur incubation avec TNF- α (10 ng/ml) en absence ou en présence de moxonidine (10⁻⁷ M et 10⁻⁶ M) pendant 15 min pour la mesure de l'expression protéique (totale et phosphorylée) des MAPKs et Akt par Western Blot et pendant 48 h pour la mesure de la prolifération par MTT.

Résultats: Les mesures densitométriques des bandes ont montré qu'en comparaison aux fibroblastes incubés avec DMEM (100%), la TNF- α n'avait pas d'effet significatif sur la phosphorylation de Akt (106±32%) mais augmente la phosphorylation (P<0,05) de p38 (173±33), ERK (231±67) et JNK (449±134). La co-incubation avec moxonidine (10⁻⁷ M et 10⁻⁶ M) augmente (P<0,05) la phosphorylation de Akt (203±24% et 202±41%) et p38 (231±14 et 261±49%) mais oppose ERK (96±20 et 83±34%) et JNK (230±53% et 191±83%). La MTT révèle que moxonidine n'affecte pas l'effet de TNF- α sur la prolifération des fibroblastes.

Conclusion: L'activation des récepteurs I₁ inhibe l'activation de JNK et ERK mais augmente la phosphorylation de p38 et Akt induite par TNF- α .

RIGIDITÉ ARTÉRIELLE ET CALCIFICATION VASCULAIRE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

Gauthier-Bastien A, Mac-Way F, Basoni C, Lebel M, Larivière R, Agharazii M.

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

La rigidité aortique et la calcification vasculaire sont des facteurs de risque cardiovasculaire (CV) pouvant expliquer la surmortalité CV en insuffisance rénale chronique (IRC). Nos travaux récents montrent que la calcification aortique peut être induite chez le rat en IRC après 5-6 semaines de suppléance en Ca/P et en vit D, qui est associée à une augmentation de la rigidité artérielle. Bien que la calcification vasculaire puisse avoir un impact sur la rigidité artérielle, le lien temporel entre ces deux conditions n'a pas été étudié.

Objectifs: Déterminer l'interrelation temporelle entre la rigidité artérielle et la calcification vasculaire chez le rat en IRC avec calcification vasculaire.

Méthodes: L'IRC est induite chez le rat par néphrectomie subtotale. La calcification vasculaire est induite par l'administration d'une diète riche en Ca/P et d'une dose physiologique de vit D active. Après 3 semaines, la vélocité de l'onde de pouls carotido-fémorale (VOP c-f) est mesurée par la détermination du temps de transit entre les pieds de l'onde de pression de la carotide et de l'artère fémorale. L'examen macroscopique et la coloration au von Kossa sont utilisés pour déterminer le degré de calcification vasculaire.

Résultats: Comparaison à la diète normale, la suppléance en Ca/P et en vit D cause une augmentation de la calcémie (2,43±0,07 vs 2,59±0,08 mM; p<0,05) et de la phosphorémie (2,22±0,07 vs 3,1±0,3 mM; p<0,05). Bien qu'il n'y a aucune différence de la pression artérielle systolique et diastolique dans les deux groupes, la pression pulsée (38±3 vs 65±15 mmHg; p<0,05) et la VOP c-f (540±100 vs 830±110 cm/s; p<0,05) sont plus élevées chez les rats en IRC supplémentés avec la diète riche en Ca/P et la vit D. Il n'y a cependant aucune évidence histologique de calcification vasculaire après 3 semaines, et ce, malgré l'augmentation de la rigidité aortique et l'augmentation de la pression pulsée.

Conclusion: Dans ce modèle d'IRC avec induction de la calcification vasculaire, la rigidité aortique et l'augmentation de la pression pulsée précèdent l'apparition de la calcification vasculaire.

EFFET PROTECTEUR DE L'ENTRAÎNEMENT PHYSIQUE DANS UN MODÈLE MURIN DE PRÉÉCLAMPSIE SUPERPOSÉE À DE L'HYPERTENSION CHRONIQUE

Genest DS, Falcao S, Michel C, Lacasse AA, Vaillancourt C, Gutkowska J, Lavoie JL.

Centre de recherche, CHUM; Département de physiologie, Université de Montréal.

La prééclampsie, superposée à de l'hypertension chronique (SPE), se développe fréquemment pendant la grossesse chez les femmes hypertendues et est caractérisée par une hausse de pression artérielle et une nouvelle apparition de protéinurie. Bien que la prééclampsie soit la cause première de mortalité/morbidité périnatale, les traitements disponibles sont limités. Puisque l'entraînement physique (EP) est bien connu pour ses effets bénéfiques chez les personnes atteintes de maladies cardiovasculaires, notre objectif était d'évaluer son impact sur les symptômes de SPE dans un modèle murin.

Méthodes: Les souris surexprimant la rénine et l'angiotensinogène humaine (R+A+) sont hypertendues et développent les symptômes de SPE pendant leur grossesse, un modèle murin récemment caractérisé dans notre laboratoire. Les femelles (R+A+ et non transgéniques) sont placées en cage d'exercice, où elles peuvent s'entraîner sur une base volontaire, 4 semaines avant et pendant leur grossesse. Ces animaux ont été comparés à des femelles sédentaires. La pression artérielle a été mesurée par télémetrie. Au jour 18 de gestation, les animaux sont sacrifiés puis le cœur, le placenta et les fœtus sont retirés, pesés et congelés ou fixés pour analyses futures. Les altérations placentaires ont été caractérisées par histologie et immunohistochimie, en utilisant les marqueurs cytotératines et histones H3 pour identifier respectivement les trophoblastes et les cellules trophoblastiques géantes.

Résultats: Aucune augmentation de la pression artérielle n'a été observée pendant la gestation chez les souris R+A+ entraînées, contrairement aux femelles sédentaires. Quoique le ratio du poids des cœurs sur le poids corporel des souris R+A+ soit exacerbé avec l'EP, ceci n'était pas accompagné par une augmentation exagérée du poids du ventricule gauche. Ceci suggère que le cœur entier est hypertrophié de façon physiologique. De plus, les altérations placentaires étaient normalisées, ce qui a amené une abolition de la restriction de croissance intra-utérine normalement observée dans notre modèle.

Conclusion: Cette étude suggère que l'entraînement physique, avant et pendant la grossesse, pourrait donc avoir un effet protecteur autant pour les mères hypertendues que pour leurs fœtus.

EFFETS DU DÉSÉQUILIBRE EFFORTS-RECONNAISSANCE AU TRAVAIL SUR LA TENSION ARTÉRIELLE: UNE ÉTUDE PROSPECTIVE AUPRÈS DE COLS BLANCS QUÉBÉCOIS

Gilbert-Ouimet M, Brisson C, Vézina M, Milot A, Blanchette C.

Centre de recherche FRSQ du Centre hospitalier affilié universitaire de Québec, Université Laval.

Les maladies cardiovasculaires (MCV) constituent la principale cause de mortalité et de morbidité au Canada. Une tension artérielle (TA) élevée est l'un des principaux facteurs de risque de MCV. Des études épidémiologiques suggèrent qu'un déséquilibre entre les efforts fournis au travail et la reconnaissance perçue en échange soit porteur d'effets délétères sur la santé cardiovasculaire. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet d'une exposition cumulée au déséquilibre efforts-reconnaissance (DER) au travail sur la TA ambulatoire. L'objectif secondaire est d'évaluer l'effet modifiant potentiel du surinvestissement et de l'âge sur l'association entre l'exposition cumulée au DER et la TA ambulatoire.

Méthodes: Cette étude repose sur un devis prospectif. La cohorte est composée de 1595 cols blancs (629 hommes et 966 femmes) de trois entreprises québécoises du secteur public de l'assurance. La collecte des données a été réalisée à deux reprises; au recrutement et après un suivi moyen de 3 ans. Le DER et le surinvestissement ont été mesurés par questionnaire, sur la base d'échelles validées. La TA diurne a été prise aux 15 minutes, durant environ sept heures de travail. Les moyennes de TA ambulatoire ont été modélisées par analyse de covariance et les incidences cumulatives d'hypertension ont été analysées par régression log-binomiale. **Résultats:** Aucune association n'a été observée entre l'exposition cumulée au DER et la TA des hommes. Chez les femmes de moins de 45 ans, l'exposition cumulée au DER était associée à des moyennes de TA supérieures (122,0/78,8 mm Hg versus 120,4/77,3 mm Hg). Chez les femmes de 45 ans et plus, l'exposition cumulée au DER était associée à une incidence cumulative d'hypertension 2,73 fois plus élevée. Le surinvestissement était également associé à la TA: en comparaison aux hommes et aux femmes non surinvestis, les travailleurs surinvestis avaient des moyennes de TA systoliques et diastoliques supérieures (hommes: 128,7/78,0 mm Hg versus 127,2/76,8 mm Hg; femmes: 121,9/78,0 mm Hg versus 120,5/76,9 mm Hg). **Conclusion:** Selon l'âge des femmes, une exposition cumulée au DER au travail conduit à de légères augmentations de la TA ou à un risque accru de développer de l'hypertension. De plus, les hommes et les femmes surinvestis présentent des moyennes de TA plus élevées.

EFFET CARDIOPROTECTEUR DE L'OCYTOCINE DANS L'HYPOTENSIE ET DANS UN MODÈLE D'ISCHÉMIE/RÉOXYGÉNATION

Gonzalez-Reyes A, Danalache B, Gutkowska J, Jankowski M.

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

Le préconditionnement cardiaque avec l'ocytocine (OT) et sa forme allongée, l'OT-Gly-Lys-Arg (OT-GKR), stimule la captation du glucose par les cardiomyocytes (CM) en conditions hypoxiques *in vitro* et protège les cœurs de rats du dommage résultant de l'ischémie/reperfusion *in vivo*. Le mécanisme de cette cardioprotection n'est pas connu. **Objectif:** Déterminer si l'OT protège les CM contre l'apoptose suivant une hypoxie chimique induite par l'agent découplant la phosphorylation oxydative, le 2,4-dinitrophénol (DNP), et dans un modèle d'ischémie/réoxygénation (IR) *in vitro*, et élucider les mécanismes responsables de cette cardioprotection. **Méthode:** Des CM de rats nouveau-nés et la lignée cellulaire cardiaque de rats H9C2 ont été utilisés pour étudier les effets cardioprotecteurs de l'OT/OT-GKR. La viabilité des cellules cardiaques a été évaluée par CellTiter après 2 heures de traitement avec DNP, avec ou sans pré-conditionnement de l'OT/OT-GKR pendant 15 minutes. L'apoptose induite par le DNP pendant 2 heures d'incubation a été évaluée par TUNEL et par cytométrie en flux pour l'annexin V avec ou sans pré-conditionnement de l'OT/OT-GKR (1h). La production intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) a été évaluée par CM-H₂DCFDA. La spécificité de l'effet de l'OT/OT-GKR a été testée par l'administration d'un antagoniste spécifique au récepteur de l'OT (OTA). L'IR a été induite par le remplacement du milieu de culture avec un tampon ischémique et en cultivant les cellules dans une chambre anoxique (5% CO₂ +95% N₂). **Résultat:** Le traitement avec 0,1mM de DNP a réduit la viabilité cellulaire de 10-20%, a augmenté (P<0,05) l'apoptose (60-70%) et la production des ROS (20-25%). Le prétraitement avec l'OT (10⁻⁸M) et l'OT-GKR (10⁻⁸M) protège les cellules des effets du DNP. Cette cardioprotection a été bloquée par l'OTA 10⁻⁸M. Le modèle de l'IR a atteint un effet optimal en 2 heures d'ischémie suivies par 1 heure de réoxygénation. Des résultats préliminaires indiquent un effet protecteur de l'OT et de l'OT-GKR sur la viabilité cellulaire en IR. **Conclusion:** Le préconditionnement des cardiomyocytes avec l'OT et l'OT-GKR prévient la production des ROS et l'apoptose induits par l'hypoxie et l'anoxie *in vitro*.

LES PROSTANOÏDES: RÉGULATEURS DU TONUS VASCULAIRE PLACENTAIRE HUMAIN?

Hausermann L, Sicotte B, St-Louis J.

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

Les vaisseaux placentaires étant dénués d'innervation autonome et étant sensibles à de nombreux stimuli vasoactifs, nous faisons l'hypothèse que les prostanoides pourraient être les molécules endogènes capables de contrôler le tonus vasculaire placentaire. De cette façon, nous avons mesuré les effets de l'U-46619 (un mimétique de la thromboxane A₂) et de la 8-iso-PGE₂ (une isoprostane) dans le lit vasculaire placentaire humain. Afin d'étudier le rôle des prostanoides endogènes sur la régulation du tonus vasculaire, nous avons également mesuré les effets d'un inhibiteur des cyclo-oxygénases sur la pression de perfusion et les réponses à l'U-46619.

Méthodes: Les placentas, de femmes normotensives, sont récupérés après délivrance, au CHU Sainte-Justine. Les cotylédons placentaires sont installés dans un circuit de perfusion et reçoivent une solution physiologique de KREBS à une vitesse de 4 mL/min. Les effets des prostanoides sont mesurés en l'absence et en présence de bloqueurs spécifiques des récepteurs EP (PGE₂), l'AH6809 ou TP (thromboxane), l'ICI192605 et le SQ29548.

Résultats: L'U-46619 et la 8-iso-PGE₂ augmentent fortement la pression de perfusion dans les cotylédons. Les courbes dose-réponse à ces agonistes sont déplacées vers la droite en présence des bloqueurs des récepteurs TP et EP, démontrant le caractère compétitif des antagonistes. Par ailleurs, en présence de faibles doses d'U-46619, l'ibuprofène augmente significativement la pression de perfusion, ce qui n'est pas observé avec les fortes doses.

Discussion: Les importants effets vasomoteurs de l'U-46619 et de la 8-iso-PGE₂ s'exerceraient via les récepteurs EP et TP. L'inhibition des cyclo-oxygénases augmente la pression de perfusion en présence de faibles doses de vasoconstricteur. Ceci suggère que les prostanoides joueraient un rôle important dans la régulation du tonus vasculaire placentaire. Ainsi, ces vaisseaux pourraient compenser une augmentation de pression en libérant des substances vasodilatatrices.

LE L-NAME INHIBE LA RÉGRESSION DE L'HYPERTROPHIE AORTIQUE INDUITE PAR L'ÉNALAPRIL CHEZ LE SHR ET AUGMENTE LA PROLIFÉRATION DES CML AORTIQUES

Huot-Marchand JE, deBlois D.

Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal.

L'administration d'énalapril chez le rat spontanément hypertendu (SHR) reverse l'hypertrophie aortique en induisant l'apoptose et inhibant la prolifération des cellules de muscles lisses (CML). Nous avons démontré que cette apoptose était dépendante du récepteur B1 des kinines et, possiblement, de la relâche de NO.

Objectif: Cette étude préliminaire vise à déterminer le rôle du NO comme modulateur de la prolifération et de l'apoptose des CML aortiques dans ce modèle.

Méthodes: Des SHR ont été traités pendant 10 ou 21 jours avec: placebo, énalapril (30mg/kg/j), L-NAME (20mg/kg/j; 10 jours seulement) ou la combinaison énalapril + L-NAME. Le bromodeoxyuridine (BrdU) en infusion continue (0,8 mg/kg/j s.c.) a permis de déterminer l'index de prolifération (nombre de CML ayant répliqué leur ADN durant la période d'infusion). Le nombre de CML aortiques a été déterminé histologiquement.

Résultats: L'index de prolifération était significativement augmenté ($p<0,01$) après 10 jours dans les groupes L-NAME (339 \pm 99 CML) et L-NAME + énalapril (158 \pm 42) vs placebo (26 \pm 11) ou énalapril seul (11 \pm 9). Un patron similaire a été observé à 21 jours avec un index de prolifération augmenté dans le groupe L-NAME + énalapril (299 \pm 60) vs placebo (140 \pm 74) ou énalapril seul (51 \pm 28). Comme rapporté précédemment, l'énalapril seul a diminué le nombre de CML aortiques (114 \pm 19 CML/um) comparativement au placebo (159 \pm 19). En revanche, le groupe énalapril + L-NAME n'a montré aucun changement dans le nombre de CML aortiques (149 \pm 45) comparativement au placebo. La quantification des CML en apoptose active est présentement en cours.

Conclusion: L'ajout de L-NAME a prévenu la réduction de l'hyperplasie aortique chez le SHR traité à l'énalapril. Toutefois, cet effet s'accompagne d'une augmentation résiduelle marquée (6X) de l'index de prolifération. Ces données suggèrent que le NO agit comme inhibiteur de la prolifération plutôt qu'inducteur d'apoptose dans ce modèle.

DIMINUTION DE LA CAPACITÉ PROLIFÉRATIVE DE CELLULES MUSCULAIRES LISSSES D'AORTE EMBRYONNAIRE APRÈS UNE BRÈVE EXPOSITION À L'OXYGÈNE

Huyard F, Germain N, Cloutier F, Bertagnolli M, Cloutier A, Anstey Z, 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, 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, comme la diminution de capacité proliférative et la présence de bris à l'ADN, après un stress hyperoxique. **Méthodes:** Des cellules musculaires lisses d'aorte de rat embryonnaire d'origine commerciale ont été étudiées après une brève exposition à l' O_2 de 24 heures et après 96 heures de récupération en condition contrôle. Des comptes cellulaires, des expériences d'incorporation de bromodeoxyuridine (BrdU) pour tester la prolifération cellulaire, des tests de cytotoxicité (libération de lactate déshydrogénase dans le milieu de culture) et des marquages du suppresseur de tumeur p53 se liant à la protéine 1 (53BP1), marqueur de bris à l'ADN, ont été effectués. **Résultats:** Les cellules exposées à l' O_2 sont en nombre similaire aux cellules contrôles immédiatement après l'exposition à l' O_2 mais présentent déjà une diminution significative du taux d'incorporation de BrdU comparés aux contrôles (389 613 \pm 33412 vs 233 606 \pm 28 347 rlu/s, $p<0,05$, $n=4$). Après 96 heures, les cellules qui ont été exposées à l' O_2 sont significativement moins nombreuses: diminution de 14% (10-19%, $p<0,05$) comparés aux contrôles. Les marquages montrent une augmentation des foci nucléaires de 53BP1 immédiatement après l'exposition et après le temps de récupération chez les cellules exposées à l' O_2 , suggérant des bris à l'ADN persistant. Les tests de cytotoxicité se sont révélés négatifs. **Conclusion:** L'exposition néonatale à l' O_2 diminue la capacité proliférative des cellules vasculaires, sans augmentation de mort cellulaire, et accompagnée d'une augmentation de bris à l'ADN persistant à long terme. L'hypothèse que ce défaut de prolifération et ces bris à l'ADN sont des caractéristiques de vieillissement accéléré devra être validée dans des cultures primaires.

ATTÉNUATION DE LA SIGNALISATION ET DES EFFETS PROLIFÉRATIFS ET HYPERTROFIQUES DE L'ENDOTHÉLINE-1 PAR LA CURCUMINE DANS LES CMLV

Kapakos G, Srivastava AK.

Laboratoire de signalisation cellulaire, Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal.

Objectif: La curcumine, qui est généralement utilisée comme épice culinaire, est le pigment principal de l'herbe *Curcuma longa*. Elle est reconnue pour plusieurs de ses propriétés bénéfiques pour la santé, parmi elles, des propriétés anti-oxydantes et antiprolifératives. Nous avons démontré précédemment que l'*insuline-like growth factor-1 receptor* (IGF-1R) joue un rôle dans la transduction des effets d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) tel que l' H_2O_2 et des peptides vasoactifs, ou encore l'endothéline-1 (ET-1), conduisant à la phosphorylation de la protéine kinase B (PKB) ainsi qu'une augmentation dans l'hypertrophie et la prolifération cellulaire. Parce que les peptides vasoactifs provoquent leurs réactions par la production de ROS, nous avons examiné si la curcumine, via ses pouvoirs anti-oxydants, pouvait inhiber la signalisation proliférative induite par l'ET-1 dans les cellules de muscle lisse vasculaire (CMLV), en mesurant l'hypertrophie et la prolifération cellulaire et en étudiant la phosphorylation d'IGF-1R, PKB et ERK1/2, molécules clés en cause dans ces phénomènes.

Méthode: La phosphorylation a été mesurée par immunobuvardage de type *Western* en utilisant des anticorps phospho-spécifiques pour les sites de phosphorylation en thréonine, en tyrosine et en sérine de IGF-1R, PKB et ERK1/2. La synthèse des protéines a été analysée par l'incorporation d'[3H] leucine dans la fraction précipitable dans 5% d'acide trichloroacétique et la synthèse d'ADN a été analysée par l'incorporation de [3H] thymidine dans les CMLV. La détection de l'apoptose fut analysée par la méthode de Hoechst.

Résultats: Le traitement avec l'ET-1 induit la phosphorylation de l'IGF-1R, PKB et ERK1/2 dans les CMLV de type A10. Le prétraitement avec la curcumine a diminué la phosphorylation de l'IGF-1R, PKB et ERK1/2 induite par l'ET-1 d'une façon dose-dépendante. De plus, la synthèse protéique et la synthèse de l'ADN induites par ET-1 furent atténuées par la curcumine.

Conclusion: En conclusion, ces données suggèrent que la curcumine atténue l'activation des voies prolifératives et hypertrophiques induites par l'ET-1 via l'inhibition de la phosphorylation des protéines IGF-1R, PKB et ERK1/2, dans les CMLVs.

INHIBITEURS DE TNF: NOUVEAUX OUTILS THÉRAPEUTIQUES DANS LE TRAITEMENT DES MALADIES VASCULAIRES À REMODELAGE

Lambert C, Roy M, Meloche J, Robitaille G, Agharazii M, Richard DE, Bonnet S.

Centre de recherche du CHUQ, Université Laval, Québec.

Les maladies vasculaires à remodelage (MVR) sont associées à une hyperprolifération et une résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Ce phénotype est attribué à une dysfonction métabolique des CMLV et à une augmentation des processus inflammatoires. Le mécanisme de maintien du phénotype dans le temps a été attribué à des facteurs de transcription tels que le facteur inducible à l'hypoxie (HIF-1) où celui-ci peut être activé par des cytokines tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF) montré comme étant augmenté dans les MVR. Nous avons émis l'hypothèse que les taux élevés de TNF circulants participent au remodelage vasculaire par l'activation de HIF-1 résultant au phénotype prolifératif et résistant à l'apoptose des CMLV.

Méthodes/Résultats: Nous avons montré que les niveaux de TNF circulants sont augmentés dans du sérum de patients atteints de MVR ($n=19$) comparativement à des donneurs sains ($n=15$) ainsi que chez des rats, et ce, 4, 10 et 14 jours après avoir subi une angioplastie de la carotide. L'augmentation de TNF active HIF-1 (immunobuvardage, $n=3$, $p<0,05$) et passe par la voie PI3K/Akt (utilisation de l'inhibiteur de PI3K LY294002). L'activation de HIF-1 augmente la glycolyse (immunobuvardage de l'enzyme glycolytique hexokinase 2, $n=3$, $p<0,05$) et hyperpolarise le potentiel de membrane mitochondrial (TMRM, microscopie confocale, $n=500$ ($p<0,05$) et la colocalisation de l'hexokinase 2 à la mitochondrie par immunofluorescence). Ceci résulte en une augmentation de prolifération (immunomarquage de Ki-67 et PCNA, $n=100$, $p<0,05$) et en une résistance à l'apoptose (immunomarquage de TUNEL et Annexin V, $n=100$, $p<0,05$). *In vivo*, l'inhibition de TNF par le PEGsTNFR1, le récepteur de type 1 du TNF couplé à une molécule de polyéthylène glycol, diminue le remodelage dans un modèle d'angioplastie de la carotide chez le rat (coloration HetE), augmente l'apoptose et diminue la prolifération des CMLV (immunofluorescence sur coupe paraffinée, $p<0,05$).

Conclusion: Nous avons démontré que l'inhibition de la voie TNF/Akt/HIF-1 prévient le remodelage vasculaire. Les inhibiteurs de TNF pourraient représenter d'intéressants outils thérapeutiques contre les MVR.

RÔLE DES LYMPHOCYTES T RÉGULATEURS DANS LA PATHOGENÈSE DU SYNDROME MÉTABOLIQUE INDUIT PAR UN RÉGIME RICHE EN FRUCTOSE

Leibowitz A, Rehman A, Rautureau Y, Paradis P, Schiffrin EL.

Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif – SMBD, Université McGill, Montréal.

L'inflammation est associée au développement de l'hypertension et du syndrome métabolique. Dans ces pathologies, des classes de lymphocytes T telles que les lymphocytes T régulateurs (Treg), T effecteurs ou de type Th17 pourraient être impliquées dans l'activation du système immunitaire. L'hypothèse était que le stress oxydatif, l'inflammation et une inhibition des cellules T régulatrices sont des mécanismes aboutissant au syndrome métabolique chez un modèle de rat nourri avec un régime riche en fructose (RRF). **Méthodes:** Des rats de souche Sprague-Dawley ont eu un RRF ($n=5$) ou un régime normal (ctrl) pendant 5 semaines ($n=7$). Les conséquences vasculaires des régimes ont été caractérisées sur l'aorte. La présence de superoxyde (O_2^-) et de l'activité de la NADPH oxydase (Nox) ont été utilisées pour mesurer le stress oxydatif. L'inflammation a été déterminée, d'une part, par l'étude de l'expression des protéines d'adhésion, VCAM-1 et PECAM-1 par western blot, et d'autre part, par la détection immunohistochimique des macrophages (MØ) dans des aortes avec graisse péri-aortique. La densité de collagène a été évaluée par la coloration au rouge de Sirius. La présence des Tregs a été déterminée par l'étude de l'expression de leur marqueur spécifique, FoxP3, par western blot, tandis que leur activité dans l'organisme a été évaluée à partir du dosage d'IL10 plasmatique. **Résultats:** Le groupe RRF présentait un syndrome métabolique. La densité en collagène était augmentée dans le groupe RRF (1,34 \pm 0,17%) par rapport au ctrl (0,57 \pm 0,04%). Dans le groupe RRF, l'activité de la Nox (+99 \pm 32%, $P<0,05$), la production d' O_2^- et le nombre de MØ péri-aortiques étaient supérieurs au ctrl. VCAM-1 (71,6 \pm 9,1 UA) et PECAM-1 (68 \pm 6,6 UA) avaient une expression supérieure dans le groupe RRF par rapport au ctrl (31,2 \pm 8,1 et 20 \pm 6,6 UA, respectivement). Paradoxalement, le RRF augmentait l'expression de FoxP3 (RRF, 8,3 \pm 1,14 UA; ctrl, 4,57 \pm 0,83 UA; $P<0,05$) mais ne modifiait pas les concentrations d'IL-10 plasmatique (RRF, 43 \pm 10 pg/ml; ctrl, 37,4 \pm 6,2 pg/ml). **Conclusion:** L'inflammation et le stress oxydatif sont en cause dans le syndrome métabolique induit par un RRF. L'opposition entre les niveaux inchangés d'IL-10 plasmatique et l'augmentation des Tregs suggère qu'une réponse immunitaire compensatoire dépendante de la dysfonction des Tregs est un des mécanismes aboutissant au syndrome métabolique.

ACTIVATION DE L'AXE RAGE/STAT3/NFAT PAR LE N^e-CARBOXYMÉTHYLE) LYSINE DANS LES MALADIES VASCULAIRES À REMODELAGE

Meloche J, Paulin R, Roy M, Lambert C, Agharazii M, Bonnet S.

Unité d'hypertension, CHUQ pavillon de l'Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec.

Les maladies vasculaires à remodelage (MRV) sont caractérisées par des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) prolifératives et résistantes à l'apoptose. Ce phénotype découle d'une activation inappropriée du facteur de transcription NFAT (*Nuclear factor of activated T-cells*) mais les mécanismes d'activation de NFAT demeurent peu connus. Les produits de glycation avancée (AGE) et plus particulièrement le CML (AGE le plus abondant) sont associés au développement des lésions vasculaires. En stimulant leur récepteur (RAGE) ils augmentent la prolifération suite à une activation de STAT3 (*Signal transducer and activator of transcription 3*) et dans le cancer, STAT3 est connu comme étant un activateur de NFAT. Nous émettons donc l'hypothèse que le CML, liant RAGE, active l'axe STAT3/NFAT et provoque ainsi le remodelage vasculaire.

Méthodes/Résultats: Nous avons démontré que les niveaux plasmatiques de CML (ELISA) sont plus élevés chez les patients avec MRV ($n=52$; $p<0,05$). *In vitro*, des CMLV humaines exposées au CML (pendant 48 heures) présentent une augmentation du [Ca^{2+}]_i (mesuré par FLUO-3, $n=100$; $p<0,05$) augmentant la prolifération cellulaire (PCNA, Ki67, $n=200$; $p<0,05$) et une hyperpolarisation des membranes mitochondriales (TMRM, $n=250$; $p<0,05$), induisant une résistance à l'apoptose (AnnexinV, TUNEL, $n=250$; $p<0,05$). Nous avons démontré que le CML active l'axe STAT3/NFAT1 par essai de translocation nucléaire (immunofluorescence), par immunoblot (phosphorylation de STAT3) et par qRT-PCR (expression de NFAT). L'inhibition de RAGE par ARN interférence renverse ce phénotype. *In vivo*, l'injection i.v. de CML active l'axe STAT3/NFAT et stimule un épaississement de la média carotidienne. Dans un modèle d'injure de la carotide, l'inhibition de RAGE (ARN interférence) bloque l'activation de l'axe STAT3/NFAT dépendante du CML, diminue la prolifération et restaure l'apoptose, empêchant le remodelage vasculaire.

Conclusion: Le CML active l'axe STAT3/NFAT1 par l'entremise de son récepteur RAGE, stimulant la prolifération dans le mur vasculaire. L'inhibition de RAGE dans un modèle de rat prévient le remodelage vasculaire en inhibant l'axe STAT3/NFAT. Cette approche est d'un grand intérêt thérapeutique pour limiter l'effet CML dans les MRV.

EFFETS ANTI-HYPERTROPHIQUES DE L'OCYTOCINE ET DE SA FORME ALLONGÉE OT-GKR DANS DES CARDIOMYOCYTES EN CULTURE

Menouar A, Jankowska M, Gutkowska J.
Laboratoire de biochimie cardiovasculaire, Centre de recherche, CHUM Hôtel-Dieu, Montréal.

Objectif: La biosynthèse de l'ocytocine (OT) et de son récepteur (OTR) a été mise en évidence dans les oreillettes et les ventricules cardiaques. L'OT est une hormone cardiovasculaire qui stimule la sécrétion du peptide natriurétique auriculaire (ANP) à partir des cardiomyocytes (CM). L'OT existe aussi sous sa forme allongée OT-Gly-Lys-Arg (OT-GKR) dans le cœur de fœtus et de rats nouveau-nés. L'OT et l'OT-GKR jouent un rôle dans le maintien de la fonction des CM via la stimulation de la captation du glucose et entraînent aussi la différenciation des cellules souches en CM. L'OT réduit l'hypertrophie des CM et le dépôt de fibrose chez des rats avec infarctus du myocarde. Puisque l'ANP possède des propriétés anti-hypertrophiques et anti-fibrotiques au niveau cardiaque, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'OT et l'OT-GKR préviennent l'hypertrophie des CM à travers la stimulation de la production d'ANP.

Méthodes: Les mécanismes en jeu dans l'effet anti-hypertrophique du système OT/OT-GKR ont été explorés chez des CM de rats nouveau-nés, en culture, dont l'hypertrophie a été induite avec l'endothéline-1 (ET-1). L'hypertrophie a été évaluée par la mesure de la synthèse des protéines (évaluée par l'incorporation de [³⁵S]-méthionine) et par la mesure de l'aire des CM.

Résultats: L'ET-1 (10⁻⁸ M) a augmenté la synthèse des protéines (~30%, p<0.01) et l'aire des CM (~70%, p<0.01) après 24h de stimulation. Par ailleurs, l'ET-1, l'OT et l'OT-GKR ont augmenté de façon dose-dépendante la libération de l'ANP par les CM. Le prétraitement des CM avec l'OT (10⁻⁸ M) ou l'OT-GKR (10⁻⁸ M) prévient l'effet hypertrophique de l'ET-1 (p<0.01). L'inhibition spécifique du récepteur de l'ANP avec l'anantine et de celui de l'OT avec son antagoniste (OTA) bloque les effets anti-hypertrophiques de l'OT et de l'OT-GKR. De plus, l'analyse par Western blot a montré que l'OT et l'OT-GKR bloquent les effets de l'ET-1 sur la phosphorylation des protéines (Erk et Akt) en jeu dans les réponses hypertrophiques.

Conclusion: Ces résultats démontrent que l'ocytocine et sa forme allongée OT-GKR préviennent le développement de l'hypertrophie des cardiomyocytes induite par l'endothéline-1, et laissent suggérer que cet effet pourrait être médié par l'ANP libéré par les cardiomyocytes, à la suite de leur conditionnement avec l'ocytocine ou par sa forme allongée OT-GKR.

LA SUREXPRESSION DE L'ENDOTHÉLINE EXACERBE LE DÉVELOPPEMENT DE L'ATHÉROSCÉLÉROSE CHEZ LES SOURIS DÉFICIENTES EN APO E À LA SUITE D'UNE DIÈTE RICHE EN GRAS

Paradis P, Li MW, Kasal DA, Schiffrin EL.
Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif – SMBD, Université McGill, Montréal.

L'endothéline (ET)-1 a été en jeu dans la pathogenèse de l'athérosclérose. Les niveaux plasmatiques et coronariens de l'ET-1 sont élevés dans l'athérosclérose précoce et avancée chez l'humain. Cependant, le rôle de l'ET-1 n'a pas été défini dans l'athérosclérose. Les souris transgéniques surexprimant la prépro-endothéline (ET)-1 humaine dans l'endothélium (eET-1) présentent une dysfonction endothéliale, du remodelage hypertrophique et de l'inflammation vasculaire en l'absence d'hypertension. L'inactivation du gène de l'apolipoprotéine E (*apoE*^{-/-}) chez la souris conduit au développement d'hypercholestérolémie sévère et d'athérosclérose à la suite d'une diète riche en gras (DRG). Nous avons déterminé si la surexpression de l'ET-1 chez des souris *apoE*^{-/-} exacerberait le développement de l'athérosclérose.

Méthodes: Des souris de 8 semaines mâles sauvages (WT), eET-1, *apoE*^{-/-} et eET-1/*apoE*^{-/-} ont été nourries avec une DRG pendant 8 semaines. La pression artérielle systolique (PAS) a été déterminée avec un brassard au niveau de la queue. L'ET-1 et le profil lipidique ont été déterminés par ELISA et avec un analyseur chimique, respectivement. L'étendue de l'athérosclérose a été déterminée par coloration avec l'huile rouge O de l'aorte descendante, ascendante et du sinus aortique. **Résultats:** L'ET-1 plasmatique des eET-1 et eET-1/*apoE*^{-/-} était accrue similairement d'environ 9 fois. La DRG a accru le cholestérol plasmatique des *apoE*^{-/-} et eET-1/*apoE*^{-/-} à des niveaux comparables. La PAS des eET-1/*apoE*^{-/-} était plus élevée de 25 mmHg par comparaison aux WT mais la DRG n'a pas altérée la PAS. La DRG a augmenté les lésions athérosclérotiques dans l'aorte descendante chez eET-1 de 6 fois, *apoE*^{-/-} de 19 fois et eET-1/*apoE*^{-/-} de 79 fois. Des observations similaires ont été faites au niveau de l'aorte ascendante et du sinus. Il est intéressant de noter que 3 eET-1/*apoE*^{-/-} sur 8 présentant un anévrisme abdominal aortique alors qu'aucun n'a été détecté dans les autres groupes. **Conclusion:** Ces résultats suggèrent que la surexpression endothéliale de ET-1 a exacerbé le développement de l'athérosclérose et favorisé le développement d'anévrismes abdominaux aortiques chez les souris *apoE*^{-/-}. Ceci indique que l'ET-1 joue un rôle important dans le développement de l'athérosclérose et pourrait participer à la pathogenèse des anévrismes abdominaux aortiques.

LA DÉHYDROÉPIANDROSTÉRONE RENVERSE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE PAR L'INHIBITION DE L'AXE STAT3/PIM1/NFAT

Paulin R, Meloche J, Bonnet S.
Unité d'hypertension, CHUQ pavillon de l'Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec.

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie vasculaire obstructive caractérisée par une augmentation de la prolifération et de la résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires de l'artère pulmonaire (CMLVAP). Nous avons récemment démontré que ce phénotype est associé avec une activation de l'axe STAT3 (*Signal transducer and activator of transcription*) / Pim1 (*Provirus integration site for moloney murine leukemia virus*) / NFAT (Nuclear factor of activated T-cells). La déhydroépiandrostérone (DHEA) est une hormone stéroïdienne connue pour inhiber le remodelage vasculaire. Nous avons donc émis l'hypothèse que la DHEA a un effet sur l'activation inappropriée de l'axe STAT3/Pim1/NFAT.

Méthodes/Résultats: *In vitro*, sur des CMLV d'artères pulmonaires isolées de patients atteints d'une HTAP (n=3), nous avons démontré que la DHEA inhibe la phosphorylation de STAT3 et, donc, son activation (immunoblot et essai luciférase n=5 p<0.05). L'inhibition de STAT3 par la DHEA est associée à une diminution de l'expression et de l'activation de Pim1 et de NFAT2 (qRT-PCR, immunoblot, ChIP-PCR, n=3; p<0.05). L'inhibition de l'axe STAT3/Pim1/NFAT2 entraîne 1) une dépoliarisation des membranes mitochondriales BAD/Bcl2 dépendantes (TMRM, n=150 p<0.05), augmentant l'apoptose de 25% (TUNEL, annexin V; n=150 p<0.05); 2) une diminution du [Ca²⁺]_i (FLUO3AM, n=150, p<0.05), diminuant la prolifération d'environ 30% (PCNA, Ki-67, n=150, p<0.05). De plus, les résultats *in vivo* démontrent que la DHEA (10mg.kg⁻¹.j⁻¹ par gavage) renverse l'HTAP expérimentale (rats injectés à la monocrotaline) par une diminution de la pression dans l'artère pulmonaire et de l'hypertrophie ventriculaire droite. Ces effets sont secondaires à une inhibition de l'axe STAT3/Pim1/NFAT2.

Conclusion: Nous avons démontrés que la DHEA renverse l'HTAP par une inhibition de l'axe STAT3/Pim1/NFAT2.

RÔLE INAPPROPRIÉ DE L'AXE ONCOGÉNIQUE STAT3/PIM1 DANS LA PATHOGENÈSE DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE

Paulin R, Meloche J, Courboulain A, Bonnet S.
Centre de recherche du CHUQ, Hôtel-Dieu de Québec.

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une pathologie vasculaire caractérisée par une augmentation de la prolifération et de la résistance à l'apoptose des cellules musculaires lisses de l'artère pulmonaire (CMLAP). Le maintien dans le temps de ce phénotype requiert l'activation du facteur de transcription NFAT (nuclear factor of activated T-cells). L'onco-protéine kinase Pim1, en cause dans la prolifération et la survie cellulaire, est reconnue comme un puissant activateur de NFAT. Dans le cancer, Pim1 est principalement activé par STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), un facteur de transcription lui-même activé par des cytokines (IL-6, TNF) et des facteurs de croissance (PDGF) qui sont en jeu dans la pathogenèse de l'HTAP. Nous émettons donc l'hypothèse que l'axe STAT3/Pim1 est en cause dans l'étiologie de l'HTAP. **Résultats/Méthodes:** Nous avons montré que l'activation de STAT3 et l'expression de Pim1 sont augmentées (p<0.05; immunoblot, qRT-PCR et immunofluorescence) dans l'HTAP humaine (échantillons pulmonaires, *buffy coat* et CMLAP issus de patients atteints par une HTAP), ainsi que dans les modèles expérimentaux d'HTAP (monocrotaline M-HTAP et hypoxie CH) en comparaison des contrôles, et corréllent positivement avec les pressions moyennes et les résistances vasculaires (p<0.05 n=30 patients). De plus, cet axe est à l'origine de l'expression et de l'activation de NFAT puisque l'inhibition de STAT3 (ARN interférence) diminue l'expression de NFAT (p<0.05 n=5; qRT-PCR) alors que l'inhibition de Pim1 diminue son activation (p<0.05, n=5; essai luciférase et translocation nucléaire). L'inhibition de l'axe STAT3/Pim1 augmente l'apoptose de 25% (n=150 p<0.05, TUNEL et TMRM); et diminue la prolifération de 30% (PCNA et FLUO3 n=150, p<0.05). *In vivo*, l'inhibition de Pim1 par inhalation d'ARN interférents chez les rats M-HTAP (n=10; p<0.05) montre un effet thérapeutique caractérisé par une inhibition spécifique de NFAT dans les APs; et une baisse des pressions pulmonaires, du remodelage vasculaire et de l'hypertrophie ventriculaire droite (échographie et cathétérisation). Pour finir, les souris Knock-out pour Pim1 sont résistantes à l'induction d'HTAP (n=20). **Conclusion:** Nous avons démontré pour la première fois que Pim1 présente un potentiel thérapeutique considérable et que cette protéine pourrait être un bio-marqueur intéressant permettant un diagnostic précoce de l'HTAP.

RÔLE DU SYSTÈME OXYTOCINE DANS LA PROTECTION ANTI-APOPTOTIQUE CARDIAQUE DE L'ACIDE RÉTINOÏQUE CHEZ DES SOURIS OB/OB

Plante E, Manolescu DC, Danalache B, Wang D, Broderick T, Bhat PV, Jankowski M, Gutkowska J.
Laboratoire de biochimie cardiovasculaire, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôtel-Dieu, Montréal.

L'acide rétinoïque (AR) joue un rôle crucial lors du développement embryogénique cardiaque. L'AR a aussi des propriétés anti-hypertrophique, anti-fibrotique et anti-apoptotique dans le cœur. L'ocytocine (OT) est maintenant reconnu pour son rôle majeur dans la régulation cardiovasculaire. Lors de l'embryogenèse, l'AR interagit avec l'OT stimulant son expression. À l'inverse, un antagoniste du récepteur de l'OT (OTR) inhibe la différenciation *ex vivo* de cellules souches en cardiomyocytes (CM) induite par l'AR. L'OT favorise aussi la synthèse et la sécrétion des peptides natriurétiques, lui conférant des effets contrant le remodelage myocardique et l'apoptose des CM. De plus, l'AR et l'OT se sont tous les deux avérés avoir des propriétés antidiabétiques et, dans le cas de l'OT, cardioprotectrices. Dans cette étude, nous avons émis comme hypothèse que l'AR procure un effet anti-apoptotique lors de cardiomyopathie diabétique chez des souris ob/ob sous l'influence et l'interaction du système OT.

Méthodes: De l'AR (100µg/100µl/jour), ou un véhicule, a été administré par intubation gastrique pendant 16 jours chez des souris ob/ob âgées de 9 semaines présentant une hypertrophie cardiaque (n=7/gr). Des souris ob/+ ont servi de contrôle (n=10). L'apoptose des CM a été évalué par TUNEL sur une portion midventriculaire. La portion restante du cœur, incluant les oreillettes, a servi à déterminer le contenu en protéine et l'expression de gènes en cause dans le système ocytocine ou dans la protection anti-apoptotique. **Résultats:** Le traitement avec l'AR a permis de normaliser un taux d'apoptose des CM significativement plus élevé chez les souris ob/ob vs les souris contrôles. Concernant le système ocytocine, l'AR a normalisé la *down regulation* de l'OT, de l'OTR et du BNP présente chez les souris ob/ob. De plus, l'AR a significativement augmenté l'expression de GATA4, un important facteur de transcription de BNP et OTR. Concernant la régulation de l'apoptose des CM, l'AR a significativement haussé la signalisation de deux protéines connues pour leurs propriétés anti-apoptotique, soit Bcl2 et Bcl-x1. **Conclusion:** Dans un modèle de souris ob/ob diabétique, nous présentons pour la première fois une évidence que l'AR prévient l'apoptose des CM via une régulation émanant possiblement du système ocytocine-BNP.

OMÉGA-3 MEMBRANAIRES ET FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASULAIRE : COMPARAISON DE DEUX POPULATIONS MARITIMES DE L'ARCTIQUE CANADIEN ET DU PACIFIQUE SUD

Proust F, Dewailly É.
Axe Santé des populations et environnement, Centre de recherche du CHUL, Québec.

Les populations polynésiennes et inuits sont parmi les plus grandes consommatrices de poissons dans le monde. Ceux-ci sont naturellement riches en acides gras polyinsaturés n-3 EPA et DHA, dont les niveaux élevés ont été associés à une diminution du risque de maladie coronarienne; leur effet antithrombotique pourrait partiellement expliquer la rareté des maladies ischémiques dans ces populations. Cependant, des changements dans les schémas alimentaires de celles-ci ont été associés à une prévalence accrue des facteurs de risque cardiovasculaire tels que l'obésité, l'hypertension et des lipides sanguins élevés. **Objectif:** Comparer l'association entre les concentrations de n-3 et les niveaux de lipides plasmatiques dans deux populations géographiquement distinctes, grandes consommatrices de poissons. **Méthodes:** Des questionnaires et des examens cliniques ont été menés auprès de 188 Polynésiens et 714 Inuits, de ≥18 ans. Les concentrations de n-3 et les lipides plasmatiques ont été analysés dans les échantillons sanguins. Une analyse de variance et des régressions multivariées ont été utilisées pour comparer les niveaux de n-3 entre les groupes, et évaluer leur association avec les niveaux de lipides plasmatiques. **Résultats:** Les Polynésiens de notre étude avaient des concentrations relatives moyennes de n-3, d'EPA+DHA et un ratio n-6:n-3 très similaire aux participants inuits, bien que leurs profils d'acides gras différent. Les concentrations d'EPA et d'EPA+DHA étaient positivement associées aux niveaux de HDL dans le groupe inuit (β=0.12, p<0.0001 et β=0.03, p=0.0004, respectivement) et le groupe polynésien (β=0.12, p=0.013 et β=0.03, p=0.034, respectivement). À l'inverse, le ratio n-6:n-3 était positivement associé aux triacylglycérols plasmatiques dans le groupe inuit (β=0.26, p=0.003) et inversement associé aux niveaux de HDL parmi les participants inuits (β=-0.21, p=0.0001) et polynésiens (β=-0.17, p=0.031). **Conclusion:** Ces deux populations continuent de consommer une large part de produits marins qui leur fournissent des quantités élevées d'EPA et DHA, leur permettant de bénéficier de leurs effets cardioprotecteurs. Ceci pourrait expliquer que, malgré une prévalence sans cesse accrue d'obésité, les Polynésiens et les Inuits ont un taux de mortalité standardisé par infarctus du myocarde parmi les plus faibles dans le monde. Il est donc essentiel de promouvoir la consommation de poisson dans ces populations, particulièrement parmi les plus jeunes.

L'ANTAGONISTE DES MINÉRALCORTICOÏDES, CANRÉNOATE DE POTASSIUM, NE MODIFIE PAS LES PARAMÈTRES HÉMODYNAMIQUES DE LA GROSSESSE

Provencher M^{1,2,3}, Houde V^{1,2}, Théoret Y^{1,3}, Thibault G⁴, Brochu M^{1,2}, St-Louis J^{1,2,3}
¹Centre de recherche CHU Ste-Justine, Montréal; ²Département d'obstétrique-gynécologie et ³Département de pharmacologie, Université de Montréal; ⁴Institut de recherches cliniques de Montréal.

La grossesse est caractérisée par des changements hémodynamiques paradoxaux : des augmentations du volume circulant, du rythme cardiaque et du système rénine-angiotensine-aldostérone, le tout associé à des diminutions de la pression artérielle et de la résistance périphérique. Des données précédemment obtenues montrent que l'administration, durant la dernière semaine de gestation chez la rate, de canrénate de potassium (CP), un antagoniste des récepteurs des minéralocorticoïdes, induit une augmentation de la réactivité vasculaire de l'aorte.

Méthodes : Pour tenter de mieux caractériser les effets de l'aldostérone, le CP a été administré (20 ou 60 mg/kg*jr) dans l'eau de breuvage, à des rates des jours 15 à 22 de gestation. La pression artérielle, le rythme cardiaque et la pression du poulx ont été enregistrés par télémetrie. À la fin de la période d'expérimentation, du sang a été prélevé pour l'analyse des électrolytes, de l'hématocrite et des hormones (aldostérone et activité rénine plasmatique). Les taux sanguins de canrénone (le principal métabolite de CP) ont été mesurés par HPLC.

Résultats : Dans les trois groupes de rates, la baisse de pression artérielle caractéristique de la grossesse n'a pas été modifiée par le traitement au CP, tout comme le rythme cardiaque et la pression du poulx. L'osmolalité s'est élevée suite au CP, alors que les électrolytes et l'hématocrite n'ont pas subi de changements. Les niveaux d'aldostérone étaient plus élevés chez les animaux recevant le traitement en comparaison avec les rates contrôles. Par contre, il n'y avait pas de différence entre les 2 doses de CP. Les niveaux sériques de canrénone n'étaient pas, non plus, différents entre les groupes recevant 20 ou 60 mg/kg*jr.

Conclusion : Nos résultats démontrent qu'un traitement efficace avec le CP ne modifie pas les paramètres hémodynamiques de la gestation. Ainsi, les niveaux élevés d'aldostérone que l'on retrouve durant la grossesse ne semblent pas en cause dans la mise en place des modifications hémodynamiques, bien que nous ayons précédemment démontré des changements de la réactivité vasculaire à la suite du traitement avec cet antagoniste des minéralocorticoïdes.

L'ATHÉROSCÉLÉROSE AGGRAVE LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE INDUITE PAR L'ENDOTHÉLINE-1

Rautureau Y, Li MW, Leibowitz A, Paradis P, Schiffrin EL.
Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif – SMBD, Université McGill, Montréal.

La concentration plasmatique et coronarienne d'endothéline-1 (ET-1) est augmentée au cours de l'athérosclérose précoce et avancée chez l'humain. Des souris transgéniques avec une surexpression endothéliale de préproendothéline (eET-1) présentent une dysfonction endothéliale. Cependant, le rôle de l'ET-1 au cours du développement de l'athérosclérose est inconnu. Les souris, dont le gène *apoE* a été inactivé, présentent une susceptibilité augmentée à l'athérosclérose. Nous avons émis l'hypothèse que le croisement de souris *apoE*^{-/-} et eET-1 aggrave les dommages vasculaires. **Méthodes :** Des souris mâles, de 8 semaines, eET-1, *apoE*^{-/-}, eET-1/*apoE*^{-/-} et contrôles (ctrl) ont été soumises à un régime riche en gras pendant 8 semaines. Des artères mésentériques (AM) de troisième ordre ont été montées sur un myographe et pressurisées à 45 mmHg afin d'en déterminer les propriétés structurales et mécaniques. Dans la même configuration et après pré-contraction avec la noradrénaline des courbes concentrations-relaxation à l'acétylcholine (ACh) ont été construites. Lorsque nécessaire, les courbes ont été réalisées en présence d'inhibiteur après un prétraitement de 30 minutes. **Résultats :** Les paramètres structuraux et mécaniques des AM étaient similaires dans les 4 groupes. La relaxation en réponse à l'ACh était significativement diminuée chez les *apoE*^{-/-} et eET-1 comparée au ctrl (E_{max} : 29.2 ± 2.9 et $51.8 \pm 7.9\%$ vs $80.0 \pm 2.6\%$, respectivement), tandis que celle du groupe eET-1/*apoE*^{-/-} était similaire au ctrl ($70.9 \pm 9.8\%$). En présence de N^o-nitro-L-arginine méthyl ester, un inhibiteur des synthèses de NO (NOS), la relaxation induite par l'ACh était réduite à 5% chez les ctrl, eET-1 et *apoE*^{-/-}, alors que chez les eET-1/*apoE*^{-/-} la relaxation était majoritairement préservée ($54.9 \pm 10.5\%$). La relaxation indépendante de l'endothélium en réponse au nitroprussiate de sodium était similaire dans les 4 groupes. En présence d'un bloqueur des canaux potassiques dépendants du potentiel (K_v), la 4-aminopyridine, l'inhibition de la relaxation induite par l'ACh était significativement plus élevée chez les animaux eET-1/*apoE*^{-/-} que chez les ctrl. **Conclusion :** La dysfonction endothéliale présente chez les animaux eET-1 est aggravée par un croisement avec les animaux *apoE*^{-/-}. Chez les animaux eET-1/*apoE*^{-/-}, la relaxation dépendante de l'endothélium était relativement indépendante des NOS et joue un rôle accru des K_v.

LE C21, AGONISTE SÉLECTIF DU RÉCEPTEUR DE L'ANGIOTENSINE II DE TYPE 2, AMÉLIORE LA CONDITION VASCULAIRE DE RATS HYPERTENDUS

Rehman A, Leibowitz A, Rautureau Y, Paradis P, Schiffrin EL.
Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif – SMBD, Université McGill, Montréal.

Le récepteur de type 2 (AT₂R) de l'angiotensine II (Ang II) s'oppose aux actions du récepteur de l'Ang II de type 1 (AT₁R). Le composé C21 (C21) améliore la fonction cardiaque systolique et diastolique chez des rats ayant subi un infarctus du myocarde. Chez un modèle de rats hypertendus, sensibles aux hémorragies cérébrales (SHR-sp) et nourris avec un régime riche en sel, le C21, seul ou en combinaison avec un antagoniste AT₁R, retarde le développement de la dysfonction rénale. Nous avons émis l'hypothèse que le C21 s'oppose au développement de l'hypertension et améliore la condition vasculaire de rats SHR-sp.

Méthodes : Quatre groupes de rats de 6 semaines ont été traités pendant 6 semaines, par voie orale, avec le véhicule (Ctrl), du C21 (1 mg/kg/jour), du losartan (Los, 1 mg/kg/jour) ou une combinaison de C21 et de losartan (C21+Los). La pression systolique (PSyst) caudale a été mesurée avec un brassard. La fonction endothéliale et la structure vasculaire ont été évaluées par myographie d'artères mésentériques (AM) de troisième ordre pressurisées. Le stress oxydatif était évalué à partir des mesures, d'une part, de la production d'anions superoxydes (O₂⁻) et, d'autre part, de l'activité de la NADPH oxydase (Nox) dans l'aorte, le cœur et les AM. La densité en collagène de type I et III a été mesurée par coloration de coupes transverses de cœur et d'aorte avec le rouge de Sirius.

Résultats : Les PSyst des groupes Los et Los+C21 (159.0 ± 1.9 et 161.4 ± 1.6 mmHg respectivement) étaient diminués par rapport aux groupes Ctrl et C21 (179.4 ± 3.4 et 181.1 ± 3.1 mmHg, respectivement). Seul le traitement Los+C21 augmentait la relaxation dépendante de l'endothélium en réponse à l'acétylcholine ($P < 0.001$). Les traitements C21 et Los+C21 diminuaient la rigidité vasculaire ($P < 0.001$) alors que le Los n'avait aucun effet. Le contenu en collagène de l'aorte et des artères coronaires était diminué dans les conditions C21 et Los+C21 ($P < 0.01$) et la densité interstitielle cardiaque était réduite dans la condition Los+C21 ($P < 0.01$). La production d'O₂⁻ était diminuée seulement dans le groupe Los+C21 alors que l'activité de la Nox n'était pas modifiée.

Conclusion : Le C21, seul ou en combinaison avec le losartan, améliore la fonction endothéliale, le stress oxydatif et les propriétés structurales et mécaniques vasculaires.

CONTRAINTES PSYCHOSOCIALES AU TRAVAIL ET HYPERTENSION MASQUÉE

Trudel X, Brisson C, Milot A.
Santé des populations : URESP, Centre de recherche FRSQ du Centre hospitalier affilié universitaire de Québec, Québec.

L'hypertension artérielle masquée (HM) (TA ponctuelle $\leq 140/90$ mmHg, TA ambulatoire $\geq 135/85$ mmHg) est une entité clinique récemment découverte qui est associée à l'incidence des maladies cardiovasculaires. Les facteurs contribuant au développement de l'hypertension masquée sont peu connus. Les études antérieures démontrent que certaines contraintes psychosociales au travail contribuent à une augmentation de la tension artérielle. Toutefois, aucune étude n'a évalué l'association entre les contraintes psychosociales au travail et l'HM. L'objectif de la présente étude est de déterminer si les contraintes psychosociales au travail sont associées à la prévalence de l'hypertension masquée.

Méthode : La TA a été mesurée à la fois de façon ambulatoire durant une journée complète de travail et de façon ponctuelle (mesures prises lors de l'installation de l'appareil), auprès de 2357 cols blancs. Les contraintes psychosociales ont été évaluées par le modèle demande-latitude à l'aide du JQC, un instrument validé.

Résultats : Chez les hommes, ceux ayant un emploi actif (demande psychologique et latitude dimensionnelle élevées) ont une prévalence plus élevée d'HM (RC ajusté = 2,07, 95% CI 1,30-3,31). Aucune association significative n'est observée chez les femmes.

Conclusion : L'HM est associée aux contraintes psychosociales au travail chez les hommes. L'étude suggère que l'environnement psychosocial au travail contribue au développement de l'HM chez les hommes.

RÔLE DU COMPLEXE IKK DANS LA RÉPONSE PHÉNOTYPIQUE DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES EXPOSÉES À L'ANGIOTENSINE II

van Zuijlen WJ, Servant MJ.
Faculté de pharmacie, Université de Montréal.

L'hypertension artérielle est un facteur de risque important dans le développement des maladies cardiovasculaires incluant l'athérosclérose. Cette maladie implique une croissance incontrôlée des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) ainsi que la production de cytokines proinflammatoires par ces dernières. L'angiotensine II (Ang II) est une hormone vasoactive participant de façon importante dans le développement de la plaque athéromateuse. Notamment, notre équipe de recherche a démontré le rôle essentiel de la protéine kinase IKK β dans la réponse proinflammatoire de l'Ang II dans les CMLV (Douillet, et al. *JBC* 2006, Doyon et Servant, *JBC* 2010). Une étude récente suggère également un rôle de cette kinase dans le contrôle de la machinerie traductionnelle (Lee, et al. *Cell* 2007). Ainsi, le ciblage spécifique de la protéine kinase IKK β pourrait à la fois contrôler les réponses proinflammatoires et hypertrophiques des CMLV. Donc, cette étude visait le ciblage pharmacologique et moléculaire d'IKK β dans un contexte de réponse phénotypique des CMLV exposées à l'Ang II. **Méthodes :** Le niveau d'expression de la protéine kinase IKK β dans des CMLV primaires a été diminué par l'utilisation de deux différents duplexes d'ARNi. L'activité enzymatique d'IKK β fut inhibée par l'emploi d'un inhibiteur sélectif, le MLN120B. Des immunobuvardages utilisant des anticorps phosphosélectifs contre TSC1 et p70S6K ciblaient les effecteurs de la machinerie traductionnelle et l'incorporation de [³H]-Leucine vérifiait le taux de synthèse protéique. **Résultats :** La stimulation des CMLV à l'Ang II a induit une activation de la voie TSC/mTOR telle que mesurée par la phosphorylation du modulateur négatif TSC1 (sur des sites consensus IKK β [résidus 511 et 487]) et p70S6K. De plus, ces signaux de phosphorylation furent diminués par l'utilisation de l'inhibiteur pharmacologique d'IKK β de même que l'approche ARNi. L'utilisation du MLN120B a également inhibé, de façon concentration-dépendante, l'augmentation de la vitesse de synthèse protéique induite par l'Ang II. **Conclusion :** Nos résultats démontrent que la protéine kinase IKK β est requise pour la phosphorylation de l'inhibiteur de la traduction TSC1 et la synthèse protéique dans les CMLV exposées à l'Ang II. L'utilisation d'un antagoniste pharmacologique sélectif du complexe IKK démontre donc une nouvelle approche moléculaire ciblant à la fois les propriétés proinflammatoires et hypertrophiques de l'Ang II.

RÔLE DE C-SRC DANS LA PHOSPHORYLATION DES MAPK INDUITE PAR L'ENDOTHÉLINE-1 ET L'ANGIOTENSINE II DANS LES CMLV

Vardatsikos G, Kapakos G, Srivastava AK.
Laboratoire de signalisation cellulaire, Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal.

Objectif : Nous avons démontré précédemment que c-Src, une protéine tyrosine kinase non-récepteur (PTK-NR), joue un rôle dans la transduction des effets de l'angiotensine II et de l'endothéline-1, deux importants peptides vasoactifs, conduisant à la phosphorylation du *insulin-like growth factor type-1 receptor* (IGF-1R) et de la protéine kinase B (PKB) dans les cellules de muscle lisse vasculaire (CMLV). Cependant, le rôle de c-Src dans la signalisation et l'activation des *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) reste controversé dans les CMLV aortiques. Par conséquent, dans les présentes études, nous avons étudié le rôle de c-Src dans ce processus.

Méthode : La phosphorylation a été mesurée par immunobuvardage de type Western en utilisant des anticorps phospho-spécifiques pour les sites de phosphorylation en thréonine et en tyrosine de ERK1/2, p38MAPK et JNK/SAPK. Aussi, des inhibiteurs pharmacologiques, ainsi que la transfection des cellules avec des siRNA, ont été utilisés pour inhiber l'activité protéine tyrosine kinase de c-Src.

Résultats : Le traitement des CMLV avec l'ET-1 et Ang II induit la phosphorylation d'ERK1/2, JNK et p38MAPK dans les CMLV de type A10, ainsi que dans les CMLV isolées des aortes de rats *Sprague Dawley* (SD CMLV). PP2, un inhibiteur de la famille des PTK-NR Src, a diminué la phosphorylation de ERK1/2, JNK et p38MAPK induite par l'ET-1 et Ang II d'une manière dose-dépendante. En outre, le *knockdown* de c-Src par siRNA a également montré une réponse similaire et a inhibé la phosphorylation de ERK1/2, JNK et p38MAPK induite par l'ET-1 et Ang II.

Conclusion : En conclusion, ces données suggèrent que l'angiotensine II, ainsi que l'endothéline-1, cause l'activation d'ERK1/2, JNK et p38MAPK, membres de la famille des MAPK, par un mécanisme dépendant de c-Src, dans les CMLV.

LE TRANSFERT ADOPTIF DES CELLULES T RÉGULATRICES MODULE LES EFFETS VASCULAIRES ET L'ÉLEVATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE INDUITE PAR L'ALDOSTÉRONÉ

Barhoumi T.^{1,3,*}, Kasal D.A.^{1,2,*}, Neves M.F.², Shbat L.¹, Laurant P.³, Paradis P.¹, Schiffrin E.L.¹

¹Unité de recherches en hypertension artérielle et recherche vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif - SMBD, Université McGill, Montréal, Québec;

²Université d'état de Rio de Janeiro, Brésil; ³Physiologie et physiopathologie des adaptations cardiovasculaires à l'exercice Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.

Introduction. L'aldostérone contribue au développement de l'hypertension, 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 14 semaines ont été injectées i.v. avec du PBS, 3×10^5 Tregs ou des cellules T effectrices (Teff), 2 fois à 1 semaine d'intervalle, puis traitées ou non avec de l'aldostérone (600 µg/kg/j, s.c.) pendant 2 semaines. La pression artérielle a été mesurée avec un brassard au niveau de la queue et par télémétrie, la fonction endothéliale des artères mésentériques (AM) par myographe pressurisé, l'activité de la NADPH oxydase avec la lucigénine, la production d'anion superoxyde (O_2^-) avec le dihydroéthidium et l'infiltration aortique par des macrophages et lymphocytes par immunofluorescence.

Résultats. L'aldostérone a augmenté la PAS de 25 mmHg et réduit de 47 % la relaxation endothélium-dépendante à l'acétylcholine des AM ($P < 0.05$). L'aldostérone a augmenté le ratio média sur lumière de 60 % et la surface transverse de la média de 58 % à une pression intralumière de 45 mmHg ($P < 0.05$). L'aldostérone a accru l'activité NADPH oxydase de 82 % dans l'aorte et de 114 % dans le cœur ($P < 0.05$) et la production de O_2^- dans l'aorte. L'aldostérone a accru l'infiltration de macrophages et de lymphocytes dans l'aorte. Tous les effets de l'aldostérone ont été prévenus par le transfert adoptif de Tregs ($P < 0.05$) mais pas par le transfert adoptif de Teff.

Conclusions. Ces résultats suggèrent qu'une approche immunomodulatrice peut prévenir le développement de l'hypertension, le stress oxydatif cardiovasculaire, l'inflammation et la dysfonction endothéliale induits par l'aldostérone.

LE TRANSFERT ADOPTIF DES CELLULES T RÉGULATRICES MODULE LES EFFETS VASCULAIRES ET L'ÉLEVATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE INDUITE PAR L'ANGIOTENSINE II

Barhoumi T.^{1,3,*}, Kasal D.A.^{1,2,*}, Neves M.F.², Shbat L.¹, Laurant P.³, Paradis P.¹, Schiffrin E.L.¹

¹Unité de recherches en hypertension artérielle et recherche vasculaire, Institut Lady Davis de recherches médicales, Hôpital général juif - SMBD, Université McGill, Montréal, Québec;

²Université d'état de Rio de Janeiro, Brésil; ³Physiologie et physiopathologie des adaptations cardiovasculaires à l'exercice Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.

Introduction. L'angiotensine II contribue au développement de l'hypertension, 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'angiotensine II.

Méthodes. Des souris C57BL/6 mâles de 12 semaines ont été injectées i.v. avec du PBS, 3×10^5 Tregs ou des cellules T effectrices (Teff), 3 fois à 2 semaines d'intervalle, puis traitées ou non avec l'angiotensine II (Ang II, 1 µg/kg/min, s.c.) pendant 2 semaines. La pression artérielle a été mesurée avec un brassard au niveau de la queue et par télémétrie, la fonction endothéliale des artères mésentériques (AM) par myographe pressurisé, l'activité de la NADPH oxydase avec la lucigénine, la production d'anion superoxyde (O_2^-) avec le dihydroéthidium, l'expression du VCAM-1 par immunobuvardage et l'infiltration aortique par des macrophages et lymphocytes par immunofluorescence.

Résultats. L'Ang II a augmenté la PAS de 40 mmHg ($P < 0.001$) et réduit de 70 % la relaxation endothélium-dépendante à l'acétylcholine des AM ($P < 0.001$). L'Ang II a augmenté la rigidité vasculaire démontré par un déplacement vers la gauche de la courbe « stress-strain ». L'Ang II a augmenté l'activité NADPH oxydase 1.5 fois dans l'aorte et 1.8 fois dans le cœur ($P < 0.05$) et la production de O_2^- dans l'aorte. L'Ang II a induit une augmentation de 2 fois de VCAM-1 et de 7 et 5 fois de l'infiltration de macrophages et de lymphocytes dans l'aorte, respectivement ($P < 0.001$). Tous les effets de l'Ang II ont été prévenus par le transfert adoptif de Tregs ($P < 0.05$) mais pas par le transfert adoptif de Teff.

Conclusions. Ces résultats suggèrent qu'une approche immunomodulatrice peut prévenir le développement de l'hypertension, du stress oxydatif cardiovasculaire, de l'inflammation et la dysfonction endothéliale induits par l'angiotensine II.