

## résumés des communications / Sciences fondamentales

### IMPACT DU TRAITEMENT AVEC LES CELLULES ENDOTHÉLIALES FORMANT DES COLONIES SUR LA MORPHOLOGIE DU COEUR DANS UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE BRONCHODYSPLASIE PULMONAIRE

Bertagnolli M, de Araujo C, Mai-Vo T-A, Cloutier A, Thébaud B, Nuyt AM  
Centre de Recherche du CHU Ste Justine, Département de pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** La dysplasie bronchopulmonaire est une complication majeure survenant à la naissance prématurée et est caractérisée par une perturbation du développement des alvéoles et des vaisseaux pulmonaires. Cette complication est associée à des altérations structurelles des ventricules gauche (VG) et droit (VD) du cœur. Il a déjà été démontré, dans un modèle animal soumis à l'exposition néonatale à fortes concentrations d'oxygène, O<sub>2</sub>, que les cellules endothéliales formant des colonies (ECFCs) restaurent la croissance alvéolaire et des vaisseaux pulmonaires. Néanmoins, il demeure inconnu si les propriétés régénératrices des ECFCs ont un impact sur le remodelage du cœur des rats exposés à l'O<sub>2</sub>.

L'objectif de ce projet est d'étudier si les ECFC, dérivées du sang de cordon humain, rétablissent les changements cardiaques, observés après une exposition néonatale à l'O<sub>2</sub>.

**Méthodes:** Des rats Sprague-Dawley ont été exposés à 95 % d'O<sub>2</sub>, ou à l'air ambiant (AA) du jour 4 jusqu'au jour 14 (P4-P14) de vie. Chaque groupe a été randomisé: AA-contrôle (n=5), AA+ECFC (n=8), O<sub>2</sub>-contrôle (n=8) et O<sub>2</sub>+ECFC (n=7). Les cellules ECFC dérivées du sang de cordon humain ont été injectées via veine jugulaire à P14 seulement (2.5x10<sup>6</sup> cellules/rat dans 100 µL de DMEM). Les cœurs ont été prélevés (P28) pour des analyses histologiques.

**Résultats:** Malgré l'absence de différence significative de l'index de masse cardiaque total entre les groupes, l'aire de surface des cardiomyocytes (ASC, un marqueur d'hypertrophie) est significativement augmenté dans le groupe O<sub>2</sub>-contrôle. Le traitement aux ECFC réduit l'ASC du VG (121.2±12.7 vs 178.7±20.7 µm<sup>2</sup>) et du VD (117.8±12.2 vs 168.5±20.5 µm<sup>2</sup>) chez les animaux exposés à l'O<sub>2</sub>. Le groupe O<sub>2</sub>+ECFC montre une diminution significative de la fibrose interstitielle du VG (1.07±0.47 vs 1.68±0.41% total pixels) et le VD (1.01±0.74 vs 1.77±0.67% total pixels) par rapport au groupe O<sub>2</sub>-contrôle, et une réponse similaire est observée au niveau de la fibrose péri-vasculaire dans le VG des animaux O<sub>2</sub>+ECFC versus le groupe O<sub>2</sub>-contrôle (2.29±0.47 vs 3.85±1.23% total pixels). Le traitement avec des ECFC n'a eu aucun effet sur le groupe AA.

**Conclusion:** Une exposition néonatale à l'O<sub>2</sub> cause un impact significatif au développement du myocarde et contribue à un remodelage cardiaque précoce chez les rats ayant une bronchodysplasie pulmonaire. Le traitement avec des ECFC, immédiatement après l'exposition à l'O<sub>2</sub>, diminue l'hypertrophie et la fibrose cardiaque. Les données suggèrent que les ECFC pourraient être considérées comme une thérapie régénérative prometteuse pour contrer les conséquences cardiopulmonaires des conditions délétères suite à une naissance prématurée.

### EXPLORATION DES DYSFONCTIONS CÉRÉBRALES INDUITES PAR LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE ET / OU LA SUREXPRESSON DE TGFβ CHEZ LA SOURIS

Bloch S, Royea J, La Calle M, Obari D, Wang X, Hamel E, Girouard H  
Département de pharmacologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Les déficits cérébrovasculaires au cours de la maladie d'Alzheimer (MA) et la démence vasculaire (DV) sont multiples et ne se limitent pas à la pathologie amyloïde-β (Aβ). Les modifications comprennent des modifications de structure des vaisseaux sanguins telles que reproduites dans les souris transgéniques qui surexpriment le facteur TGF-β1, une cytokine accrue dans le cerveau avec démence vasculaire et les patients avec la MA. Une circulation cérébrale compromise de façon chronique comme on le voit chez les souris surexprimant la TGF-β1 peut ainsi précipiter les troubles cognitifs lorsqu'elle est combinée avec des facteurs de risque pour les démences, telle que la rigidité artérielle.

Objectif: Déterminer si la rigidité artérielle induite par calcification va aggraver les dysfonctions vasculaires cérébrales chez les souris surexprimant la TGF-β1 et déclencher des troubles cognitifs.

**Méthodes:** Nous avons testé si la rigidité artérielle induite par la calcification des artères carotides pourrait induire les troubles de la mémoire dans les souris de type sauvage et des souris surexprimant la TGF-β1. La mémoire spatiale et la consolidation de la mémoire ont été étudiées avec la Piscine de Morris et le test de reconnaissance des objets nouveaux (RON) à un, deux et quatre mois après la chirurgie servant à induire la calcification de la carotide.

**Résultats:** Aucune différence significative n'a été observée entre tous les groupes dans le test de RON spatiales (1, 2 et 4 mois post-chirurgie). Aucune différence n'a été observée à 1 ou 2 mois post chirurgie en terme de consolidation de la mémoire. Cependant, à 4 mois post-opératoire, les souris de type sauvage dont la carotide a été calcifiée ont montré une mauvaise consolidation de la mémoire par rapport à des souris sauvage non-calcifiées ( $p < 0,05$ ) alors que ces différences n'ont pas été observées entre les groupes de souris TGF-β1. Les résultats montrent également des différences significatives entre le groupe de souris de type sauvage non calcifiée et le groupe de souris TGF-β1 calcifié ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que la calcification artérielle et la surexpression de TGF-β1 peuvent agir en synergie pour aggraver les troubles de la mémoire. Par conséquent, ces deux voies pourraient constituer des cibles thérapeutiques pour prévenir les démences.

## LES LYMPHOCYTES T $\gamma/\delta$ JOUENT UN RÔLE DANS L'HYPERTENSION ET LE REMODELAGE VASCULAIRE DANS UN MODÈLE MURIN D'HYPERTENSION DÉPENDANT DE L'ANGIOTENSINE II

Caillon A<sup>1</sup>, Mian MOR<sup>1</sup>, Barhoumi T<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

**Introduction:** Les cellules T se sont avérées jouer un rôle essentiel dans l'initiation et le maintien de l'hypertension. Néanmoins, la sous-population T impliquée dans la pathophysiologie de l'hypertension reste encore inconnue. Les cellules T peuvent être classées en deux sous-populations, sur la base de leur récepteur ou TCR, une majoritaire (95%) exprime le TCR  $\alpha/\beta$ , et une minoritaire exprime le TCR  $\gamma/\delta$ . Cette dernière est décrite «comme innée» et pourrait jouer un rôle dans la communication entre les systèmes immunitaires inné et adaptatif. Cependant, le rôle des cellules T  $\gamma/\delta$  n'a jamais été évalué dans l'hypertension.

**Méthodes:** Nous avons mesuré la pression artérielle, la fonction endothéliale et le remodelage vasculaire des artères mésentériques, ainsi que le profil des cellules immunitaires de souris âgées entre 13 et 15 semaines, de type sauvage (WT) et *Tcr $\delta$* <sup>-/-</sup> (dépourvues de lymphocyte T  $\gamma/\delta$ ), perfusées ou non avec de l'angiotensine (Ang) II (490 ng/kg/min, SC) pendant 7 ou 14 jours (n = 4-9).

**Résultats:** Après 14 jours de traitement à l'Ang II, la pression artérielle systolique était augmentée de 40 mm Hg ( $P < 0.01$ ) chez les souris WT. Après 7 jours de traitement à l'Ang II, la fraction des cellules T  $\gamma/\delta$  était augmentée ( $4 \pm 1\%$  vs  $2 \pm 1\%$ ,  $P < 0.05$ ) ainsi que leur activation ( $11 \pm 1\%$  vs  $7 \pm 1\%$ ) marquée par l'expression de CD69. Après 14 jours de traitement à l'Ang II, la fraction représentant les lymphocytes T  $\gamma/\delta$  était inchangée; cependant, ceux-ci restaient plus activés ( $24 \pm 2\%$  vs  $10 \pm 1\%$ ) comparé au souris non traitées. Après 14 jours, la relaxation à l'acétylcholine était diminuée de 37% ( $P < 0.01$ ) et le rapport média/lumière était augmenté de 66% ( $P < 0.01$ ) dans les artères mésentériques des souris WT traitées à l'Ang II comparé aux souris non traitées. Par ailleurs, tous les effets de l'Ang II évoqués ci-dessus étaient abrogés chez les souris *Tcr $\delta$* <sup>-/-</sup>.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que les cellules T  $\gamma/\delta$  jouent un rôle prépondérant dans l'élévation de la pression artérielle et les lésions vasculaires induits par l'Ang II. Les cellules T  $\gamma/\delta$  pourraient être les cellules-clés de la communication entre les réponses immunitaires innées et adaptatives au cours du développement de l'hypertension artérielle.

## TROIS MOIS DE SUREXPRESSION ENDOTHÉLIALE DE L'ENDOTHÉLINE-1 HUMAINE AUGMENTENT LA PRESSION ARTÉRIELLE ET CAUSENT DES DOMMAGES VASCULAIRES

Coelho SC<sup>1</sup>, Ouerd S<sup>1</sup>, Fraulob-Aquino JC<sup>1</sup>, Offermanns S<sup>3</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de Médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

<sup>3</sup> Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research, Bad Nauheim, Allemagne

**Introduction:** Les mécanismes de contrôle de la pression artérielle (PA) par l'endothéline (ET)-1 dérivée des cellules endothéliales (CE) sont complexes et demeurent incertains. Récemment, nous avons développé les souris transgéniques ieET-1 présentant une surexpression de l'ET-1 inductible avec le tamoxifène (TAM) dans les CE à l'aide du système Cre/loxP. Les souris ieET-1 présentent une élévation de la PA mais pas de dommages vasculaires après 3 sem d'induction. Une exposition prolongée à la surexpression de l'ET-1 dans les CE pourrait entraîner une élévation de la PA et des dommages vasculaires.

**Méthodes:** Des souris mâles de 10-12 sem ieET-1 et des souris contrôle ieCre exprimant une protéine Cre recombinase inductible par le TAM dans les CE ont été traitées avec TAM (1 mg/jour, SC) pendant 5 j et étudiées 3 mois plus tard. La PA par télémétrie, le sodium, potassium, créatinine et protéines dans l'urine de 24h, le débit sanguin de l'artère rénale (DSAR) par ultrasonographie, l'aldostérone plasmatique par ÉLISA, la fonction endothéliale et le remodelage des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée et la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) avec le dihydroéthidium ont été déterminés.

**Résultats:** La PA systolique était élevée de ~30 mm Hg dans les ieET-1 comparée aux ieCre ( $P < 0.001$ ). DSAR était diminué de 37% ( $P < 0.01$ ) dans les ieET-1 alors que l'excrétion urinaire de sodium, de potassium et des protéines n'étaient pas altérées. L'aldostérone plasmatique était 1.5-fois plus élevée dans les ieET-1 ( $P < 0.05$ ). La relaxation à l'acétylcholine des AM était diminuée de 35% dans les ieET-1 ( $P < 0.01$ ), alors que la relaxation au nitroprussiate de sodium, un donneur de monoxyde d'azote, n'était pas affectée. Le rapport média/lumière n'était pas altéré, mais un durcissement vasculaire indiqué par un déplacement vers la gauche des courbes de déformation/contrainte était observé dans les ieET-1 ( $P < 0.05$ ). La formation des DRO était augmentée de 1.5 fois dans la graisse périvasculaire des AM des ieET-1 ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Ces résultats démontrent qu'une exposition prolongée à la surexpression de l'ET-1 dans les CE cause une élévation soutenue de la PA et des dommages vasculaires.

## RÔLE DE L'INFLAMMASOME DANS LA DYSFONCTION VASCULAIRE DANS UN MODÈLE MURIN D'HYPERTENSION DÉPENDANT DE L'ANGIOTENSINE II

Fraulob-Aquino JC<sup>1</sup>, Caillon A<sup>1</sup>, Coelho SC<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

**Introduction:** Les cellules immunitaires innées de la lignée myéloïde (monocytes / macrophages), exprimant le marqueur CD11b, et adaptatives (lymphocytes T) jouent un rôle important dans le développement des lésions vasculaires dans l'hypertension. Il est bien connu que les cellules innées participent dans l'initiation et l'orientation de la réponse immunitaire adaptative. Ce mécanisme existe également dans l'hypertension. Cette orientation pro-inflammatoire du système immunitaire peut être initiée dans des cellules immunitaires innées via l'activation de la caspase-1, enzyme dépendante de la protéine NLRP3 aboutissant à la formation de l'inflammasome et à la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine (IL)-1 $\beta$ . Celle-ci favorise l'apparition de cellules adaptatives pro-inflammatoires. La formation de l'inflammasome et la sécrétion d'IL-1 $\beta$ , dépendant de NLRP3, pourraient être impliquées dans l'initiation des mécanismes inflammatoires aboutissant aux lésions vasculaires dans l'hypertension.

**Méthodes:** Nous avons mesuré la fonction endothéliale des artères mésentériques, ainsi que le profil des cellules myéloïdes de souris âgées entre 14 et 17 semaines, de type sauvage (WT) et *Nlrp3*<sup>-/-</sup> (incapable de produire de l'IL-1 $\beta$ ), perfusées ou non avec de l'angiotensine (Ang) II (490 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours (n = 3-5).

**Résultats:** Après 14 jours de traitement, la relaxation à l'acétylcholine était diminuée de 25% dans les artères mésentériques des souris WT traitées avec l'Ang II comparé aux souris non traitées et aux souris *Nlrp3*<sup>-/-</sup> qui n'ont pas été affectées par le traitement à l'Ang II. Par ailleurs; les souris *Nlrp3*<sup>-/-</sup> ont un nombre réduit de cellules myéloïdes activées (CD11b+, Ly-6C+) dans la rate, comparées aux souris sauvages.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que l'inflammasome joue un rôle prépondérant dans l'induction de dysfonction endothéliale par l'Ang II. Les cellules myéloïdes produisant de l'IL-1 $\beta$  pourraient être des cellules clés de la communication entre les réponses immunitaires innées et adaptatives au cours du développement de l'hypertension artérielle.

## IMPLICATION DU COTRANSPORTEUR K-CL DE TYPE 3 DANS LA PHYSIOLOGIE CARDIOMÉTABOLIQUE CHEZ LA SOURIS

Garneau AP<sup>1,2,3</sup>, Noël M<sup>1</sup>, Drolet M-C<sup>4</sup>, Couet J<sup>4,5</sup>, Larivière R<sup>1,5</sup>, Lavoie JL<sup>2,3</sup>, Isenring P<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche du CHU de Québec, Québec, Québec

<sup>2</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec

<sup>3</sup> Département de kinésiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

<sup>4</sup> Centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Québec, Québec

<sup>5</sup> Département de médecine, Université Laval, Québec, Québec

**Introduction:** Le cotransporteur K-Cl de type 3 (KCC3) exporte de façon électroneutre ses substrats dans différents types cellulaires tels les adipocytes, les cardiomyocytes, les cellules musculaires lisses et les épithéliocytes rénaux. Des désordres neurologiques ont été rapportés chez des lignées murines inactivées pour *Kcc3*, lesquelles sont également hypertendues. Par contre, leurs phénotypes vasculaire et métabolique ne sont pas bien décrits.

**Méthodes:** Pour comprendre le rôle de KCC3 dans la physiologie cardiométabolique, nous avons caractérisé une lignée murine inactivée pour *Kcc3*. Nous avons mesuré les paramètres hémodynamiques par sphygmomanométrie, échographie cardiaque et réactivité aortique *in vitro*. Différents marqueurs moléculaires et médiateurs vasoactifs ont été quantifiés par ELISA. Ces analyses ont été complétées par des dosages biochimiques.

**Résultats:** Nous avons trouvé que l'inactivation de *Kcc3* est accompagnée d'une diminution de la pression artérielle pulsée, du rythme cardiaque, de l'épaisseur de la paroi aortique et de sa réactivité à une stimulation adrénérgique. De plus, nous avons observé une augmentation de la pression diastolique, de la masse cardiaque, du diamètre télédiastolique du ventricule gauche et de l'aldostéronémie. De façon intéressante, ces animaux ont aussi une adiposité très réduite sans diminution de l'apport calorique. Des données préliminaires indiquent également une réduction significative dans les taux circulants d'adiponectine, d'ICAM-1 et de pentaxine 3.

**Conclusion:** Les traits phénotypiques observés suggèrent que les anomalies cardiovasculaires de la souris inactivée pour *Kcc3* sont causées au moins en partie par l'absence du transporteur dans le tissu cardiovasculaire et ils concordent avec des changements dans la fonction vasculaire. La maigreur des souris mutées sera analysée au travers d'études métaboliques et mécanistiques plus détaillées. Enfin, ces résultats laissent entrevoir l'intérêt de KCC3 comme cible dans le traitement de l'HTA et de l'obésité.

## EFFETS *IN VIVO* DU NITROPRUSSIATE DE SODIUM SUR LA RÉGULATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE CHEZ LES RATS SPONTANÉMENT HYPERTENDUS: MÉCANISMES MOLÉCULAIRES

Hossain E, Sarkar O, Li Y, Anand-Srivastava MB  
Département de physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Nous avons précédemment démontré que le donneur de monoxyde d'azote (NO), SNAP, diminuait l'expression élevée des protéines  $G_{i\alpha}$  et de leurs fonctions associées au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) des rats spontanément hypertendus (RSH). Étant donné que l'expression élevée des protéines  $G_{i\alpha}$  est impliquée dans la pathogénèse de l'hypertension artérielle, la présente étude a été entreprise afin d'investiguer les effets du traitement *in vivo* des RSH par le donneur de NO, nitroprussiate de sodium (NPS), sur le développement de la pression artérielle (PA) élevée, et afin d'explorer les mécanismes moléculaires responsables de cette réponse.

**Méthodes:** Des RSH ainsi que des rats Wistar Kyoto (WKY) âgés de 8 semaines ont été injectés de manière intrapéritonéale avec le NPS à concentration de 0.5 mg/kg de poids corporel deux fois par semaine pendant deux semaines. Les niveaux des protéines ont été déterminés par technique de Western blot.

**Résultats:** L'injection intrapéritonéale du NPS a atténué la PA élevée de 50 mmHg, cependant le traitement n'a pas affecté la PA chez les rats WKY. En outre, la production élevée d'anion superoxyde, du peroxynitrite, de l'activité NADPH oxydase, de la surexpression des différentes sous unités de NADPH oxydase, du superoxyde dismutase 1/2, du récepteur AT1, des protéines  $G_{i\alpha}$ , et de la phosphorylation élevée des récepteurs des facteurs de croissance, de c-Src, et de ERK1/2 des CMLV des RSH ont été réduites au niveau de contrôle des WKY par le traitement au NPS. De plus l'hyperprolifération des CMLV des RSH a également été inhibée par le traitement au NPS.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent que le traitement *in vivo* avec le NPS atténue la PA élevée chez les RSH par l'inhibition des niveaux élevés des protéines  $G_{i\alpha}$ , du stress oxydatif, c-Src et de l'activation des récepteurs des facteurs de croissance et des voies de signalisation de la MAPK.

## IMPLICATION D'UN CLUSTER DE MICROARN CONSERVÉ CHEZ L'HUMAIN DANS L'HYPERTENSION INDUITE PAR L'ANGIOTENSINE II

Huo K<sup>1</sup>, Barhoumi T<sup>1</sup>, Fraulob-Aquino JC<sup>1</sup>, Richer C<sup>3</sup>, Lajoie M<sup>3</sup>, Sinnott D<sup>3</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

<sup>3</sup> Centre de recherche, CHU Ste-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Les microARN (miR) et les ARN longs non codants (ARNlnc) jouent un rôle dans les maladies cardiovasculaires. Cependant, le rôle de ces ARN dans le contrôle de l'expression des ARN messagers (ARNm) liés aux lésions vasculaires dans l'hypertension est méconnu. Nous avons émis l'hypothèse que les miR et les ARNlnc induisent des changements d'expression des ARNm impliqués dans les lésions vasculaires.

**Méthodes:** Des souris C57BL/6 mâles de 10 sem ont été infusées ou non avec l'angiotensine II (AngII, 1µg/kg/min, SC) pour 14 j. La pression artérielle (PA) a été mesurée par télémétrie. L'ARN total a été extrait des artères mésentériques (AM) et utilisé pour le séquençage haut débit de l'ARN total et des petits ARN sur la plateforme Illumina HiSeq2500. Les séquences ont été alignées au génome mm10 avec STAR, annotées et comptées avec HTSeq-count ou miRDeep2 et l'expression différentielle déterminée avec R avec un seuil de changement de 1.5 fois et un taux de faux positif de 0.05. Les interactions entre les miR exprimés de façon différentielle (ED) et les ARNm ou ARNlnc avec ED inversement corrélée ont été prédites avec Targetscan. Les éléments de réponse des facteurs de transcription ED ont été prédits avec MEME suite dans les promoteurs des gènes encodant les ARNm, ARNlnc et miR ED. Cytoscape a été utilisé pour intégrer les profils d'expression et les interactions décrites plus haut et obtenir un analyse d'enrichissement fonctionnel.

**Résultats:** L'AngII a accru la PA systolique de ~30 mm Hg ( $P < 0.001$ ). L'ANGII a induit des changements d'expression d'ARNm (550 ↑ & 266 ↓), d'ARNlnc (7 ↑ & 42 ↓), et de miR (23 ↑ & 12 ↓) ( $q < 0.05$ ). Un réseau de miR-ARNm ED est enrichi pour la matrice extracellulaire et les processus développementaux ( $q < 1E-20$ ). Dix miR ED présentent une corrélation avec la PA ( $P < 0.05$ ) ont été identifiés, 9 de ces miR sont localisés dans un cluster de miR conservé chez l'homme.

**Conclusion:** Nous avons identifié un cluster de miR qui pourrait jouer un rôle pivot dans la genèse des dommages vasculaires. Un sous-réseau de gènes participant dans les interactions entre le cluster de miR et d'autres ARN corrélés avec la PA a été choisi pour les études futures dont le but est d'identifier des cibles thérapeutiques.

## L'AGONISTE DU NPR-C ATTÉNUÉ L'EXPRESSION ÉLEVÉE DES PROTÉINES Gqα/PLCβ1 ET L'HYPERTROPHIE DES CMLV DES RATS SHR: MÉCANISMES MOLÉCULAIRES

Jain A, Anand-Srivastava MB

Département de physiologie moléculaire et intégrative, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** L'hypertension est associée à un remodelage vasculaire, due à l'hyperprolifération et l'hypertrophie des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Nous avons précédemment démontré l'implication de l'expression élevée des protéines Gqα et PLCβ1 au niveau des CMLV de rats spontanément hypertendus (SHR) âgés de 16 semaines. La présente étude a été entreprise afin d'investiguer si le C-ANP<sub>4-23</sub>, un agoniste spécifique du récepteur natriurétique de type C (NPR-C) qui a démontré un effet inhibiteur sur l'induction de synthèse élevée de protéines par les peptides vasoactifs au niveau des CMLV, pourrait atténuer l'hypertrophie des CMLV dans un modèle de rats présentant une hypertrophie cardiaque.

**Méthodes:** Nous avons utilisé la culture primaire des CMLV aortiques provenant de SHR âgés de 16 semaines et des rats WKY appariés pour l'âge. Le taux de synthèse protéique, marqueur d'hypertrophie, a été déterminé par l'incorporation de leucine (3H). Le taux d'expression protéique a été déterminé par l'immunobuvardage de type Western. Le niveau du stress oxydatif a été évalué par le test leucigénine et par l'activité de NADPH oxydase.

**Résultats:** La synthèse protéique était significativement élevée dans les CMLV des SHR en comparaison avec les WKY et le traitement au C-ANP<sub>4-23</sub> a atténué la synthèse élevée des protéines vers le niveau de contrôle WKY. En plus, l'expression élevée des protéines Gqα et PLCβ1 a été diminuée par le traitement au C-ANP<sub>4-23</sub>. Le traitement au C-ANP<sub>4-23</sub> a également atténué l'expression élevée de l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), l'activité de la NADPH oxydase, l'élévation de l'expression de NOX4, p47 phox et p22 phox mais aussi l'hyperphosphorylation de ERK1/2, AKT1/2 et c-Src. De plus, l'activation élevée des récepteurs aux facteurs de croissance PDGF, EGF, IGF a été atténuée par le traitement au C-ANP<sub>4-23</sub>.

**Conclusion:** En conclusion, ces résultats indiquent que l'activation de NPR-C via C-ANP<sub>4-23</sub> atténue l'hypertrophie des CMLV par sa capacité à diminuer la surexpression des protéines Gqα/PLCβ1, à réduire l'activité élevée du stress oxydatif, la voie de signalisation MAPK/AKT et des récepteurs aux facteurs de croissance. Ainsi il peut être suggéré que le C-ANP<sub>4-23</sub> pourrait être utilisé à des fins thérapeutiques pour les complications vasculaires associées à l'hypertension artérielle et l'athérosclérose.

## LE BLOCAGE DU RÉCEPTEUR ETA DE L'ENDOTHÉLINE RÉDUIT LA CALCIFICATION ET L'INFLAMMATION VASCULAIRE CHEZ LE RAT EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

Larivière R, Gauthier-Bastien A, Ung R-V, St-Hilaire J, Mac-Way F, Richard DE, Agharazii M

Centre de recherche du CHU de Québec, Axe endocrinologie et néphrologie, L'Hôtel-Dieu de Québec, Québec, Québec

**Introduction:** La calcification et le remodelage artériel sont des facteurs de risques majeurs des maladies cardiovasculaires chez les patients en insuffisance rénale chronique (IRC). Dans un modèle d'IRC avec désordre minéral, nous avons démontré que la calcification et le remodelage vasculaire sont causés en partie par l'inflammation. Nous avons aussi observé une augmentation de la production d'endothéline-1 (ET-1) suggérant un rôle de ce dernier. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet d'un antagoniste du récepteur ET<sub>A</sub>, l'atrasentan, sur les paramètres hémodynamiques et la calcification, le remodelage et l'inflammation vasculaire chez le rat en IRC avec désordre minéral.

**Méthodes:** L'IRC est induite par néphrectomie subtotale suivie de l'administration d'une diète riche en Ca/P et de doses physiologiques de vitamine D (Ca/P/VitD). Les rats CKD+Ca/P/VitD sont divisés en deux groupes et ne reçoivent aucun traitement ou l'atrasentan 10 mg/kg/jour, pendant 6 semaines. Les paramètres hémodynamiques sont mesurés de façon invasive et l'aorte thoracique est prélevée pour évaluer la calcification, le remodelage et l'inflammation, ainsi que l'expression de cytokines inflammatoires et de calgranulines A.

**Résultats:** Le traitement des rats CKD+Ca/P/VitD avec l'atrasentan réduit la pression artérielle systolique, la pression pulsée et la vélocité de l'onde de pouls carotido-fémorale (p<0.05). Ces effets de l'atrasentan sont associés à la réduction de la calcification et du remodelage vasculaire, de l'infiltration des macrophages et de l'expression de marqueurs ostéoblastiques (p<0.01). Ces changements sont reliés également à la réduction de l'expression des cytokines inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF et des calgranulines S100A8 et S100A9.

**Conclusion:** Nos résultats montrent pour la première fois que le blocage du récepteur ETA réduit la calcification et le remodelage vasculaire, ainsi que les anomalies hémodynamiques chez le rat en IRC avec désordre minéral. De plus, les effets du blocage du récepteur ETA sont reliés en partie à la réduction de l'inflammation vasculaire. Cette étude indique donc que l'ET-1 semble jouer un rôle majeur dans la calcification et le remodelage vasculaire en IRC.

## LA SIMVASTATINE NORMALISE LA RÉACTIVITÉ VASCULAIRE EN RÉPONSE AUX STIMULATIONS NEURONALES ET ASTROCYTAIRES CHEZ LES SOURIS APP TRANSGÉNIQUES

Li L, Tong XK, Hamel E, Girouard H  
Département de pharmacologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** La simvastatine, un médicament utilisé dans le traitement de l'hypercholestérolémie, peut prévenir les déficits cérébrovasculaires et de mémoire dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (MA) (souris transgéniques surexprimant la protéine précurseur de l'amyloïde (APP)). Chez ces souris, la simvastatine exerce des effets bénéfiques sur la réactivité cérébrovasculaire en réponse à l'activité neuronale appelé couplage neurovasculaire (CNV). Cependant, les mécanismes sous-jacents restent méconnus.

L'objectif de cette étude était de déterminer l'effet de la simvastatine sur la communication entre les astrocytes et les artères cérébrales chez les souris APP transgéniques.

**Méthodes:** Les souris APP et de type sauvage ont été traitées avec la simvastatine pendant 3 mois. Le niveau de  $Ca^{2+}$  des pieds astrocytaires ainsi que le diamètre vasculaire ont été mesurés simultanément par fluorescence (Fluo4-AM) et par contraste de phase en infrarouge en utilisant la microscopie multi-photons. Les augmentations de  $Ca^{2+}$  astrocytaires ont été induites par stimulation neuronale électrique ainsi que par la photolyse de  $Ca^{2+}$ .

**Résultats:** 1) La dilatation des artéioles induite par stimulation neuronale est altérée chez les souris APP. La simvastatine normalise cette réponse. Ces effets ne sont pas accompagnés par des changements des réponses calciques dans les pieds astrocytaires. 2) Suite à une libération directe de  $Ca^{2+}$  par photolyse dans les pieds astrocytaires, la réponse des artéioles est affectée chez les souris APP comparativement aux souris de type sauvage. Cette réponse est aussi rétablie par la simvastatine chez les souris APP. 3) L'agoniste des récepteurs métabotropes glutamatergiques (mGluR), le *t*-ACPD, induit la constriction artériolaire chez les souris de type sauvage et APP par une voie indépendante du  $Ca^{2+}$  astrocytaire. Étonnamment, la simvastatine inverse la réponse vasculaire au *t*-ACPD pour induire une vasodilatation autant chez les souris de type sauvage que les APP.

**Conclusion:** La simvastatine prévient l'altération des réponses cérébrovasculaires dans l'hippocampe d'un modèle murin de la MA indépendamment de la voie du  $Ca^{2+}$  astrocytaire. De plus, la simvastatine inverse la polarité de la réponse vasculaire à l'activation du mGluR chez les souris de type sauvage et APP. Ces résultats suggèrent que la simvastatine pourrait être utilisée en thérapie pour rétablir la réponse vasculaire dans la MA.

## L'HYPEROXIE NÉONATALE AUGMENTE LA SENSIBILITÉ AU RÉGIME OBÉSOGÈNE CHEZ LE RAT MÂLE ADULTE

Lukaszewski M-A, Gascon G, Dagher O, Sutherland MR, Bertagnolli M, Cloutier A, Nuyt AM  
Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Les adultes nés prématurément ont un risque élevé d'hypertension et de résistance à l'insuline, caractéristiques du syndrome métabolique. Les prématurés font face à un environnement riche en  $O_2$  induisant un stress oxydatif. Nos précédentes études ont montré qu'une hyperoxie néonatale favorise la prise de poids et de tissu adipeux, la dyslipidémie et l'intolérance au glucose chez le rat adulte.

Objectif: Déterminer l'effet d'un régime obésogène sur la régulation du métabolisme énergétique chez le rat mâle adulte, suite à une exposition néonatale transitoire à l'hyperoxie.

**Méthodes:** Des rats Sprague-Dawley et leur mère sont exposés à 80 % d' $O_2$  (groupe hyperoxié H *versus* contrôles air ambiant C) entre le 3<sup>ème</sup> et le 10<sup>ème</sup> jour de vie. À 2 mois, la moitié des 2 groupes reçoit un régime riche en gras et en fructose (GF) et l'autre reste sous régime standard (S). La prise de poids et alimentaire hebdomadaires sont suivies jusqu'au sacrifice. À 4 mois, des tests de tolérance au glucose ou aux lipides sont réalisés.

**Résultats:** Nous n'avons pas observé d'influence du régime GF sur la prise alimentaire ou de poids entre les groupes. La masse des dépôts adipeux épидидymaux et périrénaux rapportée au poids total du rat est cependant plus élevée chez les rats H (respectivement HC vs HGF 56% et HC vs HGF 85%). Bien que le poids des foies ne soit pas altéré, nous avons observé une augmentation plus importante de la concentration en triglycérides hépatiques, chez les rats H avec le régime GF (CS vs CGF 16%; HC vs HGF 21%). À 4 mois, nous n'avons pas observé de différences de la réponse glycémique entre les groupes. Bien que nous n'avons pas observé d'effet du régime chez le groupe C lors du test oral de tolérance aux lipides, la réponse lipidique est augmentée chez le groupe HC vs HGF (2way ANOVA interaction  $p = 0.005$ ).

**Conclusion:** Cette étude montre que l'exposition néonatale transitoire à l' $O_2$  sensibilise d'avantage aux altérations métaboliques dans un environnement obésogène. Le métabolisme lipidique semble tout particulièrement affecté dans notre modèle et pourrait contribuer à l'apparition de pathologies cardiovasculaires.

## ALAMANDINE ET ANGIOTENSINE-(1-7) PRÉVIENNENT LE DÉVELOPPEMENT DE LA DYSFONCTION CARDIAQUE INDUIT PAR L'EXPOSITION NÉONATALE À DE HAUTS NIVEAUX D'OXYGÈNE

Mai-Vo T-A, Dartora DR, Cloutier A, Santos RAS, Bertagnolli M, Nuyt AM  
Centre de recherche du CHU Ste-Justine, Département de pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Les enfants nés prématurément sont à risque de développer de graves complications, associées notamment à l'exposition néonatale à des niveaux d'oxygène ( $O_2$ ) plus élevés par rapport au milieu intra-utérin. Des études récentes indiquent que les conditions périnatales délétères sont liées à la programmation de l'hypertension et la dysfonction cardiovasculaire chez l'adulte. Il semblerait que la sur-activation de la voie classique du système rénine-angiotensine (SRA) contribue à ces altérations cardiovasculaires à long terme. La présente étude a pour but d'évaluer les effets préventifs potentiels de l'angiotensine-(1-7) [Ang-(1-7)] et de l'alamandine, deux contre-régulateurs du SRA, sur le développement de l'hypertrophie cardiaque et de la fibrose que nous avons décrits après une exposition néonatale des rats à l'hyperoxie.

**Méthodes:** Les rats Sprague-Dawley sont exposés avec leur mère à 80% d' $O_2$  (n=12) ou à l'air ambiant (n=12) du 3<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> jour de vie (P3-P10). Ils sont traités par gavage avec des peptides d'Ang-(1-7) ou d'alamandine (74 ng/kg/jour) encapsulés dans la cyclodextrine (CD) de P3 à P10; les rats contrôles reçoivent la cyclodextrine seule (véhicule). Les cœurs sont extraits à 4 semaines suivant la naissance, puis soumis à des colorations histochimiques.

**Résultats:** À l'âge de 4 semaines, l'exposition néonatale des rats à l' $O_2$  augmente de façon significative l'aire de la surface des cardiomyocytes au niveau du ventricule gauche (Contrôle,  $172,9 \pm 8,3 \mu m^2$ ;  $O_2$ ,  $193,5 \pm 7,8 \mu m^2$ ). Le traitement à l'Ang-(1-7) prévient cette hypertrophie cardiaque (CD,  $193,5 \pm 7,8 \mu m^2$ ; Ang-(1-7),  $168,1 \pm 8,5 \mu m^2$ ); l'alamandine n'a pas d'effet significatif sur l'hypertrophie. L'hyperoxie néonatale engendre également, à 4 semaines, une fibrose importante du ventricule gauche (Contrôle,  $0,935 \pm 0,084\%$  du total de pixels;  $O_2$ ,  $1,471 \pm 0,169\%$  du total de pixels). Ceci est inhibé par l'Ang-(1-7) et par l'alamandine (CD,  $1,471 \pm 0,169\%$  du total de pixels; Ang-(1-7),  $0,813 \pm 0,069\%$  du total de pixels; Ala,  $0,945 \pm 0,0270\%$  du total de pixels). Tous les résultats présentent des différences de  $p < 0,05$ .

**Conclusion:** La modulation du SRA à un âge précoce par des contre-régulateurs tels que l'Ang-(1-7) et l'alamandine permettrait de prévenir les changements cardiaques induits par l'exposition néonatale à un stress oxydatif.

## LA VITAMINE K PRÉVIEN LES TROUBLES COGNITIFS ASSOCIÉS À LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE DANS UN MODÈLE MURIN

Muhire G<sup>1,2</sup>, Racine M-C<sup>2</sup>, Ouliass B<sup>2</sup>, Girouard H<sup>1</sup>, Ferland G<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Département de pharmacologie, Université de Montréal, Montréal, Québec

<sup>2</sup>Centre de recherche, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec

<sup>3</sup>Département de nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Les études épidémiologiques ont démontré une corrélation positive entre l'hypertension et la rigidité artérielle qui est à l'origine des troubles cognitifs. La vitamine K est impliquée dans la prévention de la calcification vasculaire via différentes protéines VK-dépendantes qui ont besoin de subir une modification post-traductionnelle pour devenir biologiquement actives. Objectif: Dans cette étude, nous avons examiné si la vitamine K (vitamères K1 et MK-4) pouvait prévenir les effets de la rigidité artérielle sur la cognition dans un modèle murin de rigidité artérielle basée sur la calcification de l'artère carotide.

**Méthodes:** Des souris mâles C57BL/6 ont été mises à l'une des diètes suivantes: K1 - pauvre (0,1 mg/kg), normale (1 mg/kg), ou enrichie (10 mg/kg); MK-4 - pauvre (10 mg/kg), adéquate (50 mg/kg), ou enrichie (100 mg/kg), ou diète chow. Chaque groupe de diète comprenait un groupe témoin (NaCl) et un groupe avec la carotide calcifiée (CaCl<sub>2</sub>). La cognition a été évaluée avec le test de la piscine de Morris. La concentration de VK dans le cerveau a été mesurée par HPLC. Les taux de protéines VK-dépendantes (Gas6, Protéine S) ont été mesurés par immunobuvardage.

**Résultats:** Dans le groupe sur diète chow, les souris CaCl<sub>2</sub> affichaient de faibles performances d'apprentissage et une faible consolidation de la mémoire ( $p < 0,05$ ) par rapport au groupe témoin. En revanche, la calcification n'a eu aucun effet sur la performance des animaux avec toutes les doses K1 et MK-4 étudiées même si les performances s'amélioraient avec l'augmentation de la concentration de VK dans la diète ( $p < 0,05$ ). En outre, la MK-4 s'est avérée la principale forme de VK dans le cerveau chez la souris (>98%) et sa concentration était corrélée avec la concentration de VK dans la diète. Ni la K1 ou la MK-4 n'ont eue d'effet sur l'expression de Gas6 et PS totales, mais la fraction de Gla associée à ces protéines augmentaient avec la concentration de MK-4.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent qu'aux doses étudiées, la VK peut prévenir les effets de la rigidité artérielle sur la cognition, possiblement par l'augmentation de l'activité de Gas6 et PS.

## LA SUREXPRESSION DE L'ENDOTHELIN-1 EXAGÈRE LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE LIÉE AU DIABÈTE EN MODIFIANT L'ÉQUILIBRE DU STRESS OXYDATIF

Querd S<sup>1</sup>, Idris-Khodja N<sup>1</sup>, Mian MOR<sup>1</sup>, Gornitsky J<sup>1</sup>, Barhoumi T<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

**Introduction:** Le diabète est caractérisé par une dysfonction endothéliale qui précède des complications vasculaires. L'endothéline (ET)-1 plastique est élevée chez les patients diabétiques. Il a été démontré qu'une augmentation de l'ET-1 cause des dommages vasculaires. Nous avons émis l'hypothèse que la dysfonction endothéliale induite par le diabète sera exagérée par la surexpression de l'ET-1 dans les cellules endothéliales.

**Méthodes:** Le diabète a été induit par l'administration de streptozotocine (STZ, 55 mg/kg/jour, IP) pendant 5 jours à des souris mâles sauvages (SVG) et eET-1 (surexprimant l'ET-1 humain dans l'endothélium) âgées de 6 semaines. Le glucose sanguin, la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine (ACh) et le remodelage des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée, la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) mitochondriaux dans l'aorte par MitoSOX Red et l'expression de la monoxyde d'azote synthase endothéliale (*Nos3*), des superoxydes dismutases 1 (*Sod1*) et 2 (*Sod2*) dans les AM ont été évalués 14 semaines plus tard.

**Résultats:** L'induction du diabète a été confirmée par une élévation de la glycémie de 3 fois chez les SVG et les eET-1 ( $P < 0.001$ ). Le diabète a diminué la relaxation des AM de 25% chez les SVG ( $P < 0.05$ ) et de 40% dans les eET-1 ( $P < 0.001$ ). La relaxation au nitroprussiate de sodium, un donneur de monoxyde d'azote, était similaire dans les quatre groupes. Le diabète a réduit le ratio média/lumière de 25% chez les SVG et les eET-1 ( $P < 0.05$ ). Le diabète a augmenté la formation des DRO mitochondriaux de 1.8 fois chez les SVG ( $P < 0.05$ ) et de 2.3 fois chez les eET-1 ( $P < 0.05$ ). L'expression de *Nos3* était augmentée de 1.4 fois chez les eET-1 ( $P < 0.05$ ) traité avec véhicule. Le diabète a diminué l'expression de *Nos3* de 31% chez les eET-1 ( $P < 0.05$ ) mais non chez les SVG. Le diabète a augmenté l'expression de *Sod1* (52%,  $P < 0.05$ ) et *Sod2* (32%,  $P < 0.05$ ) chez les SVG, ce qui n'a pas été observé chez les eET-1.

**Conclusion:** La surexpression de l'ET-1 exagère la dysfonction endothéliale liée au diabète de type 1. Ceci pourrait être causé par une diminution de l'expression de *Nos3*, une augmentation du stress oxydatif mitochondrial et une diminution de capacité antioxydante.

## L'ENDOTHELIN-1 PROTÈGE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE CHEZ LES SOURIS PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION VASCULAIRE DE PPAR $\gamma$

Querd S<sup>1</sup>, Idris-Khodja N<sup>1</sup>, Trindade M<sup>1</sup>, Gornitsky J<sup>1</sup>, Rehman A<sup>1</sup>, Offermanns S<sup>3</sup>, Gonzalez FJ<sup>4</sup>, Barhoumi T<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institut Lady Davis de recherches médicales, Montréal, Québec

<sup>2</sup> Département de médecine, Hôpital général juif SMBD, Université McGill, Montréal, Québec

<sup>3</sup> Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research, Bad Nauheim, Allemagne

<sup>4</sup> National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, États-Unis

**Introduction:** Les agonistes des PPAR $\gamma$  réduisent l'hypertension artérielle et les dommages vasculaires. L'inactivation de *Ppar $\gamma$*  dans les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) exagère les dommages vasculaires induits par l'angiotensine II. Les souris transgéniques surexprimant l'endothéline (ET)-1 dans l'endothélium (eET-1) présentent des dommages vasculaires.

Nous proposons que l'inactivation de *Ppar $\gamma$*  dans les CMLV (*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>*) exagérerait les dommages vasculaires chez les souris eET-1.

**Méthodes:** Des souris mâles sauvages (SVG), eET-1, *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* et eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* de 11 semaines ont été utilisées. La pression artérielle systolique (PAS) par télémétrie, la réactivité vasculaire des artères mésentériques (AM) par myographie pressurisée, la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) avec le dihydroéthidium, les marqueurs d'inflammation par immunofluorescence et l'expression de *Nos2*, *Nos3*, *Ednra* et *Ednrb* par RT-QPCR ont été évalués.

**Résultats:** Comparé avec SVG, la PAS était plus élevée de ~20 mm Hg dans eET-1 et eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ) et la réponse vasodilatatrice des AM était diminuée de 37% dans *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ). La réponse contractile à l'ET-1 était plus sensible dans *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ) mais pas en présence de L-NAME, un inhibiteur du monoxyde d'azote synthétase (NOS). Le ratio média/lumière était augmenté de 20% dans eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ). La formation des DRO était augmentée respectivement de 1.7, 2.2 et 2.8 fois dans eET-1, *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* et eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ). L'infiltration des monocytes/macrophages dans la graisse périvasculaire était doublée dans eET-1 et *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* et quadruplée dans eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ). L'expression de *Nos3* était augmentée de 20% dans eET-1 ( $P < 0.05$ ) tandis que celle de *Nos2* était augmentée de  $\geq 2$  fois dans eET-1 et *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ). Le ratio *Ednra/Ednrb* était diminué de 29% dans eET-1/*cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* comparé avec *cmlvPpar $\gamma$ <sup>-/-</sup>* ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Nos résultats suggèrent que la surexpression de l'ET-1 préserve paradoxalement la fonction endothéliale chez les souris ayant une inactivation de *Ppar $\gamma$*  CMLV spécifique et ce malgré une exagération du stress oxydant et de l'inflammation au niveau vasculaire.

## L'ACTIVATION DE LA PKB CONTRIBUE À LA PHOSPHORYLATION DE L'HISTONE DÉACÉTYLASE 5 EN RÉPONSE À L'IGF-1 DANS LES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES

Pietruczuk P, Srivastava AK  
Université de Montréal, Département de médecine, CRCHUM, Montréal, Québec

**Introduction:** L'*Insulin-like growth factor-1* (IGF-1) est un mitogène et un peptide vasoactif qui joue un rôle prédominant dans la progression des maladies vasculaires. Ceci se produit grâce à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), ainsi que par l'hyperactivation des voies de signalisation qui promeuvent la croissance et l'expression aberrante des gènes. Les histones désacétylases (HDAC), par leur aptitude à modifier le statut d'acétylation des résidus lysine dans les protéines d'histones et non-histones, régulent la transcription des gènes. Des études récentes ont montré qu'une activation accrue des HDAC, notamment HDAC5, est associée à des troubles vasculaires tels que l'athérosclérose. Cependant, le rôle de l'IGF-1 dans l'activation des HDAC par phosphorylation demeure mal caractérisé.

**Méthodes:** Des cultures de cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) de type A10 ont été utilisées. À 80% de confluence, les CMLV ont été préincubées en présence ou en l'absence d'inhibiteurs pharmacologiques pendant 30 minutes, puis stimulées avec l'IGF-1 aux doses et temps indiqués. Les résultats ont été analysés après lyse cellulaire, électrophorèse et immunobuvardage.

**Résultats:** L'IGF-1 a produit une augmentation de phosphorylation de HDAC5 de manière temps- et dose-dépendante, avec un pic à 5 minutes et 50 ng/ml. La préincubation des cellules avec 10 $\mu$ M d'AG1024, un inhibiteur pharmacologique du récepteur membranaire à l'IGF-1, a significativement atténué la phosphorylation d'HDAC5 induite par l'IGF-1. Par contre, le prétraitement avec AG1478 (10 $\mu$ M), un inhibiteur du récepteur du facteur de croissance épidermique, n'a pas eu d'effet significatif sur les niveaux de phosphorylation d'HDAC5. En outre, le blocage pharmacologique de la voie MAP kinase avec les réactifs PD98059 (10 $\mu$ M) et UO126 (10 $\mu$ M) n'a pas abrogé la phosphorylation d'HDAC5, cependant les inhibiteurs de la voie PKB, SC-66 (10 $\mu$ M) et *wortmannin* (100nM), ont complètement aboli la phosphorylation d'HDAC5 induite par IGF-1. De plus, le prétraitement des cellules avec le diphenylèneiodonium (DPI) (10 $\mu$ M) et l'apocynine (10 $\mu$ M), deux inhibiteurs de la NAD(P)H oxydase, ainsi que l'antioxydant N-acétylcystéine (NAC) (10 $\mu$ M), a atténué la phosphorylation de HDAC5 et PKB par IGF-1.

**Conclusion:** En résumé, ces données suggèrent que l'IGF-1 induit la phosphorylation de HDAC5 de façon ERO et PKB-dépendante dans les CMLV.

## EFFET INHIBITEUR DE L'AGONISTE DU RÉCEPTEUR NATRIURÉTIQUE DE TYPE C SUR L'HYPERPROLIFÉRATION DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES DES RSH

Rahali S, Anand-Srivastava MB  
Département de physiologie moléculaire et intégrative, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Nous avons précédemment démontré que le traitement *in vivo* des rats spontanément hypertendus (RSH) par l'agoniste spécifique du NPR-C, le C-ANP<sub>4-23</sub>, atténue l'hyperprolifération des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Nous avons entrepris cette étude afin d'investiguer si l'effet antiprolifératif du C-ANP<sub>4-23</sub> est médié à travers l'inhibition de la surexpression des protéines du cycle cellulaire et afin d'explorer les mécanismes sous-jacents.

**Méthodes:** Des RSH et des rats Wistar Kyoto (WKY) ont été injectés en intra-péritonéal par le C-ANP<sub>4-23</sub> de 1 jusqu'à 6 semaines d'âge, deux fois par semaine et sacrifiés à la 8<sup>ième</sup> semaine. La prolifération des CMLV déterminée par incorporation de thymidine, et l'expression des protéines, ont été déterminées par technique d'immunobuvardage de type Western.

**Résultats:** Les CMLV des RSH ont démontré une prolifération élevée en comparaison avec les rats WKY et le traitement par le C-ANP<sub>4-23</sub> a atténué l'hyperprolifération à un niveau de contrôle. De plus la surexpression des cyclines D1/A/E, des kinases cycline dépendantes 2 et 4 (cdk2, cdk4), de la forme phosphorylée de la protéine du rétinoblastome et des protéines Gi $\alpha$  des CMLV des RSH a été atténuée à un niveau de contrôle. Par ailleurs, l'hyperphosphorylation d'ERK1/2, AKT, EGF-R, PDGF-R, IGF-R et de c-Src a significativement diminué par le traitement au C-ANP<sub>4-23</sub>. En outre, le niveau élevé de l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), l'activité de la NADPH oxydase et de ces sous unités chez les RSH ont été atténués par le C-ANP<sub>4-23</sub>.

**Conclusion:** Ces résultats indiquent que l'activation *in vivo* de NPR-C atténue la surexpression des protéines du cycle cellulaire via l'inhibition de l'activité élevée du stress oxydatif, de c-Src et de l'activation de EGF-R, PDGF-R, IGF-R, de la signalisation de MAPK et la surexpression des protéines Gi $\alpha$  résultant ainsi à l'inhibition de l'hyperprolifération des CMLV des RSH. Ainsi, il peut être suggéré que le C-ANP<sub>4-23</sub> pourrait être utilisé comme agent thérapeutique pour le traitement des complications vasculaires associées à l'hypertension et à l'athérosclérose.

## RÔLE DE STIM-1 DANS L'EXPRESSION DE L'EGR-1 INDUITE PAR L'ANGIOTENSINE-II DANS LES CELLULES DU MUSCLE LISSE VASCULAIRE

Simo Cheyou ER, Tan JJ, Grygorczyk R, Srivastava AK  
Université de Montréal, Département de médecine, CRCHUM, Montréal, Québec

**Introduction:** Une augmentation de l'expression du facteur de transcription Egr-1 (*Early growth response protein-1*) a été observée dans des modèles d'athérosclérose et d'hyperplasie néointimale. Egr-1 peut être induit dans les cellules du muscle lisse vasculaire (CMLV) par les peptides vasoactifs. L'angiotensine-II (Ang-II) est un des peptides vasoactifs impliqué dans la pathogenèse des maladies vasculaires. L'Ang-II provoque une augmentation des niveaux intracellulaires de  $Ca^{2+}$  par l'activation de l'entrée de  $Ca^{2+}$  dépendante de la libération des réserves (SOCE: *Store-Operated Calcium Entry*). Cette entrée SOCE requiert le couplage entre l'activation du récepteur à l'inositol-3-phosphate (IP3R) et la libération du  $Ca^{2+}$  réticulaire, et aussi la participation de la molécule STIM-1 (*Stromal Interaction Molecule-1*). La participation de la voie de signalisation IP3R/STIM-1/ $Ca^{2+}$  dans l'induction d'Egr-1 par l'Ang-II demeure inexplorée.

**Méthodes:** Nous avons examiné les niveaux de  $Ca^{2+}$  intracellulaire par les tests au FURA-2 AM, après incubation en présence ou en absence d'inhibiteurs pharmacologiques de la signalisation calcique suivie du traitement avec l'Ang-II. Nous avons également inhibé l'expression de STIM-1 par interférence ARN (siRNA).

**Résultats:** Nos résultats montrent que la chélation du  $Ca^{2+}$  intracellulaire par traitement au BAPTA-AM, l'inhibition pharmacologique du IP3R à l'aide de l'acide 2-aminoéthoxydiphényl borique (2-APB), de même que l'inhibition des récepteurs EGFR et IGF-1R (*Epidermal growth factor receptor*, *Insulin-like growth factor-1 receptor*) résultent tous en une diminution de la libération du  $Ca^{2+}$  intracellulaire en réponse à l'Ang-II dans les CMLV. Le traitement des CMLV avec ces composés atténuent aussi l'induction d'Egr-1 par l'Ang-II. De plus, l'inhibition de l'expression de STIM-1 par siRNA a significativement abrogé les niveaux d'ARNm et les niveaux protéiques de STIM-1, ce qui a résulté en une diminution de l'induction d'Egr-1 par l'Ang-II de même qu'en une réduction de la phosphorylation de la protéine ERK1/2.

**Conclusion:** Nos résultats démontrent que l'induction d'Egr-1 par l'Ang-II est médiée par STIM-1 et par la libération du  $Ca^{2+}$  intracellulaire dans les CMLV A-10. Ceci suggère une implication de STIM-1 dans la pathogenèse des maladies vasculaires.

## CONTRÔLE DYNAMIQUE DES PULSARS CALCIQUES ENDOTHÉLIAUX PAR LA MITOCHONDRIE

Toussaint F<sup>1,2</sup>, Béziau D<sup>1,2</sup>, Charbel C<sup>1,2</sup>, Blanchette A<sup>1</sup>, Mayer G<sup>1,2</sup>, Ledoux J<sup>1,2</sup>.  
<sup>1</sup>Centre de recherche de l'Institut de cardiologie de Montréal, Montréal, Québec  
<sup>2</sup>Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction:** Près de 7.5 millions de Canadiens souffrent d'hypertension artérielle (HA), pathologie dont l'étiologie nécessite davantage de recherche. Malgré des progrès importants, la caractérisation des facteurs et des mécanismes cellulaires impliqués dans la régulation inadéquate de la pression artérielle demeurent donc des thématiques modernes. L'endothélium est une composante clé dans la régulation du tonus vasculaires et dont les mécanismes sont gouvernés par le calcium ( $Ca^{2+}$ ). Nous avons récemment établi l'altération des pulsars calciques, une signalisation calcique endothéliale locale, en HA. Les pulsars consistent en une libération de  $Ca^{2+}$  via les récepteurs à l' $IP_3$  présents dans la projection myoendothéliale (PME). Les voies de signalisations présentes dans la PME semblent spécialisées dans la régulation de l'état contractile du muscle lisse sous-jacent et modulées par les pulsars. Toutefois, les mécanismes qui contrôlent les pulsars sont méconnus. Les mitochondries étant considérées comme un modulateur des dynamiques calciques, nous émettons l'hypothèse qu'elles sont un mécanisme régulateur des pulsars dans l'endothélium.

**Méthodes:** L'endothélium d'artères mésentériques de résistance de souris est étudié en configuration *en face*. L'activité mitochondriale est altérée à l'aide d'agents pharmacologiques et l'impact sur la dynamique des pulsars est évaluée par microscopie confocale à haute vitesse. De plus, la distribution des mitochondries est déterminée par microscopie électronique.

**Résultats:** L'utilisation d'agents découplants mitochondriaux induit l'apparition de nouveaux sites actifs de pulsars (+60%) ayant une fréquence plus faible (-30%). Une altération de l'entrée du  $Ca^{2+}$ , dans la mitochondrie, génère des pulsars de plus grande superficie (+30%). Par ailleurs, l'inhibition des mécanismes de sortie du  $Ca^{2+}$  de la mitochondrie hausse le nombre de sites actifs de pulsars, tout en diminuant la fréquence à ces mêmes sites. La microscopie électronique révèle une concentration des mitochondries à proximité des PME.

**Conclusion:** Ces résultats suggèrent une proximité entre les mitochondries et les pulsars qui permettrait à la mitochondrie de moduler la dynamique des pulsars et ainsi, moduler la fonction endothéliale. L'altération de la capacité mitochondriale (spatiale ou fonctionnelle), à moduler les pulsars calciques, pourrait alors être impliquée dans la dysfonction endothéliale.

## RÔLE DE HCaRG/COMMD5 DANS L'ISCHÉMIE-REPERFUSION RÉNALE

Verissimo T<sup>1</sup>, Campion CG<sup>1</sup>, Matsuda H<sup>2</sup>, Tremblay J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Québec

<sup>2</sup>Division of General Medicine, Department of internal Medicine, Nihon University School of Tokyo, Tokyo, Japan

**Introduction:** L'hypertension joue un rôle essentiel dans la progression de l'insuffisance rénale. Elle est à la fois la cause et la conséquence des lésions rénales. Parmi les dommages, l'ischémie provoque d'importantes lésions au niveau des tubules rénaux. Lors de ce stress, différents facteurs sont modifiés dont le récepteur à l'EGF et les protéines des jonctions cellulaires. De récentes études ont montré qu'une protéine dénommée HCaRG (*Hypertension-related, calcium-regulated gene*) était impliquée dans la réparation rénale, notamment après des dommages liés à l'ischémie-reperfusion. Cette petite protéine de 22.5 kDa faisant partie de la famille des COMMD est principalement exprimée dans les cellules rénales. En effet, HCaRG favorise la réparation des tubules proximaux du rein par un mécanisme entraînant à la fois une diminution de la prolifération, une augmentation de la migration de cellules réparatrices, suivie par une redifférenciation cellulaire (MET).

L'objectif de cette étude est de mieux comprendre le rôle de HCaRG/COMMD5 lorsque des dommages rénaux sont induits par l'ischémie-reperfusion.

**Méthodes:** Afin de reproduire *in vitro* un modèle d'ischémie, des cellules de tubules proximaux humains (HK-2) et des cellules primaires de reins humains (RC-124) ont été soumises à une condition d'hypoxie (<1%O<sub>2</sub>) pendant 24h suivie ou non d'une période de réoxygénation (21%O<sub>2</sub>). Une inhibition de l'expression de HCaRG par des siRNA ou une surexpression par transfection ont été réalisées afin d'étudier l'impact de cette protéine sur différents marqueurs tels que la E-cadhérine (épithélial),  $\alpha$ -SMA (mésenchymal), ainsi que l'expression du récepteur membranaire EGFR.

**Résultats:** L'ensemble des résultats montrent que l'inhibition de HCaRG/COMMD5 entraîne une modulation de l'expression du marqueur épithélial E-cadhérine ainsi que le récepteur à l'EGF et une augmentation du marqueur mésenchymal  $\alpha$ -SMA. L'hypoxie entraîne une baisse de l'expression protéique de HCaRG/COMMD5, et ce, persistant même après une période de réoxygénation.

**Conclusion:** Le rôle de HCaRG/COMMD5 dans les atteintes rénales semble peu à peu se définir. Les résultats obtenus permettront donc, non seulement d'éclaircir certains mécanismes de réparation cellulaire, mais à plus long terme, d'envisager le développement de thérapies potentielles visant à améliorer la réparation du rein après des dommages aigus liés à l'ischémie-reperfusion ou dans des pathologies chroniques telles que l'hypertension et le diabète.