

## Résumés des communications / Sciences fondamentales

### LA SUREXPRESSION ENDOTHÉLIALE DE L'ENDOTHÉLINE-1 HUMAINE CHANGE L'EXPRESSION DES GÈNES *AQP1*, *KHDRBS3* ET *LY6E* DANS LES ARTÈRES MÉSENTÉRIQUES

Berillo O<sup>1</sup>, Coelho SC<sup>1</sup>, Huo K<sup>1</sup>, Ouerd S<sup>1</sup>, Richer C<sup>3</sup>, Mahjoub N<sup>1</sup>, Ferreira NS<sup>1</sup>, Sinnott D<sup>3,4</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut Lady Davis Pour La Recherche Médicale et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif, Université McGill, <sup>3</sup>Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Des souris transgéniques ieET-1 ayant une surexpression dans les cellules endothéliales (CE) de l'endothéline (ET)-1 humaine inducible avec le tamoxifène (TAM) présentaient une élévation de la pression artérielle (PA) après 3 semaines et 3 mois d'induction et des dommages vasculaires après 3 mois d'induction. Cependant, il demeure inconnu si la surexpression de l'ET-1 est accompagnée d'une altération de l'expression génique. Nous avons émis l'hypothèse que l'induction de la surexpression de l'ET-1 altère l'expression génique dans les artères méésentériques (AM).

**Méthodes :** Des souris mâles de 10-12 semaines ieET-1 et contrôles ieCre exprimant une protéine Cre recombinase inducible par le TAM dans les CE ont été traitées avec TAM (1 mg/jour/5 jours, SC) et utilisées 3 semaines et 3 mois plus tard. L'ARN total a été extrait des AM et séquencé sur la plateforme Illumina HiSeq2500. Les gènes exprimés différentiellement (ED) ont été déterminés avec un  $P < 0.005$  et des changements de 1.4 fois. Les résultats de séquençage ont été validés avec un autre groupe de souris et les types de cellules vasculaires exprimant les gènes ED ont été déterminés par transcription inverse et PCR quantitative (RT-qPCR).

**Résultats :** Des gènes ED ont été identifiés chez les souris ieET-1 comparativement aux ieCre 3 semaines (15↑ et 39↓) et 3 mois (4↑ et 3↓) après l'induction. Les changements d'expression de 3 de 7 ARNm ED ont été validés par RT-qPCR: *Khdrbs3* (KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 3), *Aqp1* (Aquaporin 1) et *Ly6e* (Lymphocyte antigen 6 complex locus E). L'expression de *Khdrbs3* et *Ly6e* était augmentée et diminuée respectivement 3 semaines et 3 mois après l'induction, pendant que celle d'*Aqp1* était augmentée seulement 3 mois après l'induction. Chez la souris, *Khdrbs3* et *Ly6e* étaient exprimés dans les CE, cellules musculaires lisses (CML) et fibroblastes (FB) et *Aqp1* était plus exprimé dans les CE et FB. Chez l'homme, *KHDRBS3* était exprimé dans les 3 types de cellules vasculaires, mais *LY6E* était plus exprimé dans les FB et *AQP1* dans les CE.

**Conclusions :** La surexpression endothéliale de l'ET-1 humaine induit des changements d'expression de *Khdrbs3*, *Ly6e* et *Aqp1* dans les AM. Les cellules vasculaires exprimant ces gènes ont été identifiées. Cependant, il reste à déterminer si les changements d'expression de ces gènes jouent un rôle dans le développement des dommages vasculaires.

### LES LYMPHOCYTES T $\gamma\delta$ CONTRÔLENT L'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T $\alpha\beta$ DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

Antoine Caillon<sup>1</sup>, Pierre Paradis<sup>1</sup> et Ernesto L. Schiffrin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut Lady Davis pour la Recherche Médicale et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital Général Juif, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Récemment, nous avons démontré qu'une petite sous-population de lymphocytes T considérée « comme innée », exprimant le récepteur des cellules T (RCT)  $\gamma\delta$  plutôt que le RCT  $\alpha\beta$  dont font partie les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, joue un rôle clé dans l'initiation de l'hypertension et des lésions vasculaires. Nous avons démontré une augmentation du nombre et de l'activation (CD69<sup>+</sup>) des lymphocytes T  $\gamma\delta$  lors du développement de l'hypertension chez des souris infusées avec l'angiotensine (Ang) II. L'absence de lymphocytes T  $\gamma\delta$  a empêché le développement de l'hypertension, ainsi que l'activation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> induite par l'Ang II chez les souris. Nous avons émis l'hypothèse que les cellules T  $\gamma\delta$  jouent un rôle crucial dans l'activation des cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> dans l'hypertension.

**Méthodes :** Des souris mâles C57BL/6J âgés de 11-13 semaines ont été infusées ou non avec de l'Ang II (490 ng/kg/min, SC) pendant 7 ou 14 jours (n = 5-7). Les cellules  $\gamma\delta$  et  $\alpha\beta$  T ont été isolées des ganglions lymphatiques périphériques et de la rate de souris âgés de 8-9 semaines avec des billes magnétiques. Les cellules  $\alpha\beta$  T ( $5 \times 10^5$  cellules) ont été cultivées seules ou avec des cellules  $\gamma\delta$  T ( $10^5$  cellules) en présence d'anticorps anti-CD3 et traitées avec Ang II (100 nM) ou le véhicule pendant 3 jours. Le profil des cellules T a été déterminé par cytométrie en flux.

**Résultats :** Après 7 jours de traitement à l'Ang II, une forte corrélation était observée entre le nombre (#) des cellules  $\gamma\delta$  T CD69<sup>+</sup> et le # des cellules T CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.74$ ,  $P < 0.01$ ) et des cellules T CD8<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.64$ ,  $P < 0.01$ ). Une corrélation était également démontrée entre le # des cellules T  $\gamma\delta$  CD69<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup> avec le # des cellules T CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.76$ ,  $P < 0.001$ ) et des cellules T CD8<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.65$ ,  $P < 0.01$ ). *In vitro*, la fraction des cellules T  $\alpha\beta$  CD69<sup>+</sup> était augmentée par l'Ang II de 1.25 fois seulement quand celles-ci étaient cultivées en présence de cellules T  $\gamma\delta$  ( $P < 0.001$ ). Nous avons également observé une corrélation *in vitro* entre la fraction des cellules T  $\gamma\delta$  CD69<sup>+</sup> et T  $\alpha\beta$  CD69<sup>+</sup> après le traitement avec l'Ang II ( $r^2=0.69$ ,  $P < 0.001$ ). La culture des cellules T  $\alpha\beta$  en présence de cellules T  $\gamma\delta$  provenant de souris infusées avec l'Ang II a augmenté 2 fois la fraction des cellules T  $\alpha\beta$  CD69<sup>+</sup> ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que les lymphocytes T  $\gamma\delta$  sont requis pour l'activation des cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> par Ang II. Le ciblage thérapeutique des cellules T  $\gamma\delta$  pourrait contribuer à réduire l'inflammation dans l'hypertension.

**AUGMENTATION DES LYMPHOCYTES T RÉGULATEURS CD39+ DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE INDUITE PAR LA SUREXPRESSION ENDOTHÉLIALE DE L'ENDOTHÉLINE-1**

Ferreira N<sup>1</sup>, Berillo O<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin E<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Institut Lady Davis Pour La Recherche Médicale et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital Général Juif, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Le système immunitaire joue un rôle dans l'hypertension et les dommages vasculaires. Les cellules T régulatrices (Treg) peuvent contrecarrer le développement de l'hypertension et des lésions vasculaires. Cependant, leur nombre diminue dans l'hypertension induite par l'infusion d'angiotensine II. Très peu de mécanismes anti-inflammatoires ont été étudiés dans l'hypertension. Le développement des lésions vasculaires entraîne la libération d'ATP qui contribue à l'activation du système immunitaire. L'un des mécanismes immunosuppresseurs des Treg est leur capacité à dégrader l'ATP en AMP par CD39 (ectonucléoside triphosphate diphosphohydrolase 1), puis en adénosine par CD73 (ecto-5'-nucleotidase). Cette dernière supprime l'activité des cellules T pro-inflammatoires et favorise l'expansion des Treg. Des souris transgéniques ieET-1 ayant une surexpression endothéliale de l'endothéline (ET)-1 humaine inductible par le tamoxifène (TAM) présentaient une élévation de la pression artérielle et des dommages vasculaires après 3 mois d'induction. Cependant, il demeure inconnu si ceci est accompagné par une altération des Treg. Nous avons émis l'hypothèse que l'induction de la surexpression de l'ET-1 entraîne une diminution des Treg exprimant CD39.

**Méthode :** Des souris mâles âgés 10-12 semaines ieET-1 et leurs contrôles (ieCre) ont été traitées avec le TAM (1 mg/jour pendant 5 jours, SC) et 3 mois plus tard le profil des lymphocytes T a été déterminé dans la rate par cytométrie en flux.

**Résultats :** Dans les souris ieET-1, la fréquence des cellules T CD4+ exprimant le marqueur d'activation CD69 (% de CD4+ : 57.4±2.7 vs 24.0±3.9) et des cellules T  $\gamma\delta$  CD69+ (16.6±1.0 vs 8.6±0.7) était plus élevée comparé aux souris ieCre. La fréquence des Treg (CD4+CD25+FoxP3+, 2.5±0.3 vs 0.81±0.1) et des Treg CD39+ (57.4±2.7 vs 24.0±3.9) était augmentée dans les souris ieET-1 comparé aux souris ieCre.

**Conclusion :** Nos résultats montrent que la fréquence des cellules T CD4+ et T  $\gamma\delta$  activées et des Treg CD39+ augmente dans la rate des souris rendues hypertendues par la surexpression endothéliale de l'ET-1 humaine. L'absence de diminution de la fréquence des Treg pourrait agir comme mécanisme compensatoire qui réduit le degré d'élévation de pression artérielle dans ce modèle d'hypertension expérimentale surexprimant l'ET-1 humaine.

**EFFET CARDIOPROTECTEUR DE L'ACIDE MARGARIQUE SUR L'INFARCTUS DU MYOCARDE CHEZ LE RAT**

Gagné M-A, Barbeau C, Lacroix-Ouellette P, Gilbert K, Rousseau G

Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction :** L'acide margarique est un acide gras saturé que l'on retrouve dans les membranes cellulaires et qui démontre des effets cardioprotecteurs. L'acide margarique interagirait avec le récepteur FFA1 pour induire une signalisation cellulaire. Le but de ce projet est de démontrer que l'acide margarique peut limiter les dommages causés par l'occlusion d'une artère coronaire et de confirmer l'implication du récepteur FFA1 dans un modèle murin.

**Méthode :** Pour ce faire, 1 $\mu$ g d'acide margarique est injecté 10 minutes suivant l'occlusion de l'artère coronaire descendante gauche chez des rats anesthésiés. Afin de démontrer l'effet du récepteur FFA1, 2,5 mg de DC260126, un antagoniste du récepteur FFA1, est injecté dans un sous-groupe en présence d'acide margarique. La taille de l'infarctus est mesurée à 24h de reperfusion et l'activité des caspases 1 et 3 est évaluée dans la région endocardique à 15 min de reperfusion.

**Résultats :** La taille de l'infarctus est significativement plus petite en présence d'acide margarique (23,2 ± 3,2% de la zone à risque) comparativement à des rats ayant reçu le véhicule (42,6 ± 2,9%). De plus, l'injection de DC260126 annule l'effet protecteur observé avec l'acide margarique (37,3 ± 3,2%). L'activité de la caspase-3 est plus faible en présence d'acide margarique (40,4 ± 12,8%) comparativement au groupe saline (100,0 ± 11,5%). Cette diminution de l'activité disparaît en présence du DC260126 (138,6 ± 18,1%). Des résultats similaires sont également observés avec l'activité de la caspase-1.

**Conclusion :** L'acide margarique diminue significativement la taille de l'infarctus et l'activation des caspases-1 et-3 dans la région endocardique, par un mécanisme impliquant le récepteur FFA1.

## L'INACTIVATION DU TRANSPORTEUR IONIQUE KCC3 S'ACCOMPAGNE D'ANOMALIES NEUROLOGIQUES, CARDIOMÉTABOLIQUES ET RÉNALES CHEZ LA SOURIS

Garneau AP<sup>1,2,3</sup>, Pepin É<sup>2</sup>, Noël M<sup>3</sup>, Isenring P<sup>3,4</sup>, Lavoie JL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>École de kinésiologie et des sciences de l'activité physique, Université de Montréal, Montréal, Québec

<sup>2</sup>Axe cardiométabolique, CRCHUM, Montréal, Québec

<sup>3</sup>Axe endocrinologie-néphrologie, CRCHU de Québec, Québec, Québec

<sup>4</sup>Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Québec

**Introduction :** Le cotransporteur K-Cl de type 3 (KCC3) réalise l'export de ses substrats de façon électroneutre dans différents types cellulaires tels les neurones, les myocytes et les épithéliocytes rénaux. L'inactivation (KO) de KCC3 entraîne une neuropathie dégénérative, et les modèles animaux de cette maladie sont décrits comme hypertendus et ayant une plus petite masse corporelle. Par contre, les mécanismes derrière ces anomalies sont mal connus.

**Méthodes :** Nous avons mesuré, dans une lignée murine constitutivement KO pour *Kcc3*, la composition corporelle (par résonance magnétique), la dépense énergétique (par calorimétrie indirecte) et la régulation glucidique (par un test de tolérance au glucose oral). Nous avons aussi mesuré la réactivité de vaisseaux résistifs *in vitro*. Enfin, quelques souris ont reçu une diète hypersodique pour en étudier l'effet sur la régulation hydrominérale.

**Résultats :** Les souris KO ont une diminution de 59 % de l'adiposité sans changement de masse maigre, de même qu'une augmentation significative des taux circulants d'adiponectine alors que ceux de la leptine sont réduits comparativement aux témoins. De plus, leur dépense énergétique est plus élevée que celle des témoins. De façon intéressante, ils ont aussi une meilleure tolérance au glucose malgré une insulïnémie plus faible. Par ailleurs, leurs vaisseaux résistifs ont une sensibilité accrue à l'endothéline-1. Enfin, en réponse à une surcharge sodique, les souris KO ont une polydipsie plus marquée et une perte urinaire accrue de Na, K et Cl.

**Conclusion :** La minceur observée chez les KO semble découler de la dépense énergétique accrue, dont l'origine reste à préciser, mais qui semble également contribuer à un meilleur profil métabolique. Des changements du côté des vaisseaux résistifs et de la régulation hydrominérale pourraient être impliqués dans le phénotype hypertensif préalablement rapporté, mais des mesures de pression artérielle par télémetrie couplées à différents stress sont en cours et devraient nous renseigner sur les mécanismes impliqués. Ces résultats laissent toutefois entrevoir l'intérêt de KCC3 comme cible dans le traitement de l'hypertension et de troubles métaboliques.

## FONCTION LYMPHATIQUE : EFFET PLÉIOTROPIQUE DE L'INHIBITION DU PCSK9?

Jarry S, Smaani A, Ardo N, Fortin C, Vachon L, Jean G, Mayer G, Martel C  
Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction :** Depuis la publication de Dre Martel et de ses collaborateurs en 2013, on associe l'athérosclérose au mauvais transport lymphatique. Bien que l'absorption des substances périphériques se fasse adéquatement via les capillaires lymphatiques, c'est plutôt au niveau des vaisseaux lymphatiques (VLs) collecteurs servant à propulser la lymphe vers la veine sub-clavière que le défaut apparaît dans un premier temps dans les premières phases de l'athérosclérose. Cette dysfonction qui peut être observée avant même l'apparition de la lésion est indépendante des niveaux de cholestérol circulant. Les souris déficientes en proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9), une proprotéine qui dégrade le LDLR, ont une fonction lymphatique améliorée, alors que les souris qui sont dépourvues de LDLR, incluant sur les cellules endothéliales lymphatiques (CELs), souffrent d'une dysfonction lymphatique. L'objectif du présent projet est de déterminer si et comment le PCSK9 agit via le LDLR pour moduler l'intégrité des cellules endothéliales lymphatiques et perturber la propulsion de la lymphe par les VLs collecteurs.

**Méthodes :** Des souris *pcsk9*<sup>-/-</sup> seront injectées avec un *Adeno-Associated Virus Serotype 1* (AAV1) non répliquant contenant des petits Acides ribonucléiques (ARN) en épingle à cheveux (shRNA) pouvant réduire l'expression du LDLR à la surface des CELs. L'expression du LDLR sur les CELs, la présence de PCSK9 dans la lymphe ainsi que la fonction lymphatique seront mesurées *in vivo* et *ex vivo*.

**Résultats :** *In vitro*, l'ajout de PCSK9 diminue également l'expression de LDLR par les CELs. Une diminution du LDLR n'affecte pas la production du PCSK9 par les CELs, qui est à priori nulle. Par conséquent, nous avons procédé à des injections intrapéritonéales de l'AAV1, qui se sont avérées optimales en comparaison avec les injections intradermales, pour diminuer l'expression du LDLR sur les CELs des souris *pcsk9*<sup>-/-</sup>. Cette stratégie nous permettra de déterminer si une inhibition du PCSK9 peut continuer à soutenir le transport lymphatique sans son interaction avec le LDLR.

**Conclusion :** Ces résultats préliminaires nous permettront de mieux comprendre les mécanismes par lesquels la fonction lymphatique peut être affectée dans des conditions pathologiques où le LDLR est déficient ou modifié, comme dans l'hypercholestérolémie familiale, et nous permettra de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de l'athérosclérose.

## LES LYMPHOCYTES T $\gamma\delta$ V $\gamma$ 6+ POURRAIENT ÊTRE IMPLIQUÉS DANS L'HYPERTENSION ET LES DOMMAGES VASCULAIRES INDUITS PAR L'ANGIOTENSINE II

Ahmad Mahmoud<sup>1</sup>, Antoine Caillon<sup>1</sup>, Pierre Paradis<sup>1</sup> and Ernesto L. Schiffrin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut Lady Davis pour la Recherche Médicale et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital Général Juif, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Récemment, nous avons montré qu'une petite sous-population de lymphocytes T considérée «comme innée», exprimant le récepteur des cellules T (RCT)  $\gamma\delta$  plutôt que le RCT  $\alpha\beta$  dont font partie les cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, joue un rôle clé dans l'initiation de l'hypertension et des lésions vasculaires. Le nombre et l'activation des cellules T  $\gamma\delta$  étaient accrues après 7 jours d'infusion d'angiotensine (Ang) II et l'absence de cellules T  $\gamma\delta$  a empêché le développement de l'hypertension, la dysfonction endothéliale des artères de résistance ainsi que l'activation des cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> induites par 14 jours d'Ang II chez les souris. Les cellules T  $\gamma\delta$  peuvent être subdivisées en fonction des variantes (V) des chaînes du RCT, au nombre de 7 pour la chaîne  $\gamma$  chez la souris, qui leur confère une spécificité tissulaire. Cependant, les V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  impliquées dans l'hypertension sont inconnues. Nous avons émis l'hypothèse que les cellules T  $\gamma\delta$  impliquées dans l'hypertension sont dépendent d'un type de V $\gamma$ .

**Méthodes :** Des souris mâles C57BL/6J âgées de 11-13 semaines ont été infusées ou non avec l'Ang II (490 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours (n=5-14). Le profil des V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  a été déterminé dans la rate, les ganglions lymphatiques mésentériques (GLM) et la graisse périvasculaire (GPV) des artères mésentériques (AM) et l'aorte thoracique (AT) par cytométrie en flux.

**Résultats :** Nous avons observé dans la rate et les GLM que les V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  les plus abondantes étaient les sous-types V $\gamma$ 1,2+ et V $\gamma$ 4+ suivies par les V $\gamma$ 6+, V $\gamma$ 5+ and V $\gamma$ 7+, alors que V $\gamma$ 6+ était la V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  la plus abondante suivie de V $\gamma$ 4+, et V $\gamma$ 1,2+. V $\gamma$ 5+ et V $\gamma$ 7+ étaient peu présentes dans les GPV. L'Ang II a augmenté la fréquence des cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6+ 1.9 fois dans la rate et 1.6 fois dans la GPV des AT par rapport aux souris contrôles ( $P < 0.01$ ). Dans la rate, 93% des cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6+ étaient CD27+, 60% CD44<sup>hi</sup>, 40% CXCR3+, 26% CCR6+ et 14% CD69+. L'Ang II a élevé la fréquence des cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6+ exprimant CXCR3 (13%) et CD69 (33%) dans la rate par rapport aux souris contrôles ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion :** Une distribution différentielle des V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  a été observée dans les organes lymphoïdes par rapport aux GPV. Les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6+ pourraient être impliquées dans l'hypertension. V $\gamma$ 6 pourrait être une cible thérapeutique pour réduire l'inflammation dans l'hypertension.

## LE PHOSPHATE INORGANIQUE ACTIVE LA VOIE WNT/ $\beta$ -CATÉNINE DANS UN MODÈLE DE CALCIFICATION DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES VASCULAIRES

Mayemba CN, El-Alaoui C, Ung R-V, Agharazii M, Larivière R, Richard DE, Mac-Way F

Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, L'Hôtel-Dieu de Québec, 10, rue McMahon, Québec, Québec, Canada GIR 3S3

**Introduction :** L'hyperphosphatémie est associée aux complications cardiovasculaires de l'insuffisance rénale chronique (IRC). Il est connu que le phosphate inorganique (Pi) stimule la transdifférenciation ostéogénique des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLVs) menant à la calcification artérielle médiale. Nos travaux antérieurs ont montré qu'une dose élevée en Pi active et stabilise le facteur de transcription induit par l'hypoxie, HIF-1, conduisant à la progression de la calcification vasculaire (CV). Comme la voie Wnt/ $\beta$ -caténine est impliquée dans la régulation du remodelage osseux, son rôle dans la CV a été suggéré. L'objectif de cette étude est d'élucider l'implication de la voie Wnt/ $\beta$ -caténine et HIF-1 au cours de la CV.

**Méthodes :** Étude *in vitro* sur des CMLVs isolées de l'aorte thoracique de rats Wistar âgés de 6 semaines, puis cultivées dans du DMEM contenant 10% de sérum fœtal bovin. Les conditions hypoxiques ont été obtenues en plaçant des cellules dans une chambre hypoxique scellée avec 1% d'O<sub>2</sub> et 5% de CO<sub>2</sub>. La calcification a été induite par une exposition des CMLVs à une dose de 2.5 mM de Pi pendant 6 jours en conditions normoxiques et hypoxiques. La réponse cellulaire au Pi a été évaluée en western blot. La calcification a été évaluée par la coloration de von Kossa.

**Résultats :** La concentration élevée en Pi induit la calcification des CMLVs caractérisée par des dépôts noirâtres à la coloration de von Kossa après 6 jours de traitement. On note une augmentation de l'expression du facteur de transcription *Runt-related transcription factor 2* (RUNX2), suggérant un déséquilibre minéral. L'analyse de la signalisation initiée par le Pi montre une nette augmentation de la quantité protéique totale de  $\beta$ -caténine, ainsi que son activation traduite par la phosphorylation de son résidu sérine-675 de manière temps-dépendant. Une activation plus accentuée de HIF-1 $\alpha$ , la sous-unité active de HIF-1, en présence de Pi s'observe parallèlement en conditions hypoxiques. L'expression relative des gènes d'intérêt est en cours afin de déterminer le profil d'expression des gènes cibles au cours de la CV.

**Conclusion :** Ces résultats indiquent que la CV au cours de l'IRC s'accompagne d'une activation de la voie Wnt/ $\beta$ -caténine, possiblement accentuée par l'hypoxie, pouvant corrélérer avec les manifestations cliniques extrarénales.

## LE TRAITEMENT PAR ANGIOTENSINE-(1-7) DURANT L'ENFANCE PRÉVIENT LES DYSFONCTIONS CARDIOVASCULAIRES CHEZ LE RAT HYPERTENDU

<sup>1,2,3</sup>Pontes, CNR, <sup>1</sup>Bessa, ASM, <sup>1</sup>Junior, MDF, <sup>1</sup>Campos, HM, Costa, MD, Ghedini, PC, <sup>1</sup>Mendes, EP, <sup>1</sup>Colugnati, DB, <sup>1</sup>Gomes, RM, <sup>1</sup>Pedrinho, GR, <sup>1</sup>Castro, CH. <sup>1</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, Brazil. <sup>2</sup>CHU Sainte-Justine Research Center, Montréal, <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Université de Montréal.

**Introduction :** Une modification de l'activation de gènes régulés par le système rénine-angiotensine lors des phases précoces de la vie pourrait contribuer au développement de l'hypertension artérielle (HTA). Notre objectif était de déterminer si un traitement par angiotensine-(1-7) (Ang-(1-7)) pendant l'enfance pouvait diminuer la dysfonction cardiovasculaire observée chez le rat spontanément hypertendu (SHR) adulte.

**Méthodes :** Des pompes osmotiques délivrant de l'Ang-(1-7) (24 µg/kg/h) étaient implantées chez le rat SHR à l'âge de 4 semaines et retirées après 3 semaines. La pression artérielle systolique (PAS) était mesurée par pléthysmographie de la queue et la fonction cardiaque par échocardiographie. À la 18<sup>e</sup> semaine de vie, le cœur et les reins étaient collectés pour analyse histologique, western blot et mesure de l'activité antioxydante.

**Résultats :** Le traitement par Ang-(1-7) ne modifiait ni la PAS, ni la fonction cardiaque, mais prévenait l'augmentation de l'épaisseur du septum interventriculaire, l'hypertrophie des cardiomyocytes (Wistar:10.38±0.08 µm, SHR:11.48±0.09 µm, et SHR+Ang-(1-7):10.08±0.10 µm, p<0.05) ainsi que la fibrose interstitielle et périvasculaire cardiaque. L'expression protéique de ACE2, ACE, AT1, AT2, collagène-1, GSK3B et de la calcineurine dans le cœur était similaire entre les groupes. pAKT était diminué et pERK1/2 était augmenté chez le rat SHR. Le traitement par Ang-(1-7) ne modifiait pas pAKT, mais diminuait pERK1/2 et augmentait MMP9. L'Ang-(1-7) augmentait l'expression protéique de SOD-1 et l'activité de la catalase, et réduisait le taux de Tbars, montrant une activation de voies métaboliques antioxydantes. L'Ang-(1-7) prévenait aussi l'épaississement de la capsule rénale et du glomérule.

**Conclusion :** Ces données montrent que le traitement par Ang-(1-7) dans l'enfance prévient le développement de lésions cardiaques et rénales dues à l'HTA par l'activation de voies métaboliques antioxydantes, indépendamment de changements de pression artérielle.

## ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DE L'APOPTOSE DANS LE DÉVELOPPEMENT DU PRÉÉCLAMPSIE

Raguema N<sup>1</sup>, Moustadraf S<sup>1</sup>, Marc C<sup>1</sup>, Lavoie JL<sup>2</sup>, Rousseau G<sup>1</sup>, Bertagnolli M<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal (HSCM), Université de Montréal, Québec, Canada, <sup>2</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier universitaire de Montréal (CRCHUM), Montréal, Québec, Canada

**Introduction :** La prééclampsie (PE) est un trouble hypertensif de la grossesse. Elle affecte 10% globalement. Le mécanisme de tolérance immunitaire entre le semi-allogreffe du fœtus et le système immunitaire maternel reste mal compris. Une apoptose accrue des trophoblastes a été observée dans le placenta des femmes atteintes de PE contribuant à une mauvaise placentation. Dans ce contexte, notre but est d'évaluer le système de Fas/Fas Ligand (voie extrinsèque), ainsi que les marqueurs Bax, pro-apoptotique et Bcl-2, anti-apoptotique, (voie intrinsèque) dans des tissus placentaires humains et de modèle murin de PE.

**Méthode :** Des biopsies du placenta ont été collectés des femmes ayant une PE et une grossesse normale (n = 8/groupe). Parallèlement, des échantillons de placenta ont été prélevés au jour 18,5% de gestation chez des souris gestantes contrôles et transgéniques surexprimant l'angiotensinogène humain et la rénine humaine (R + A +, n = 8/groupe), qui sont chroniquement hypertensives et développent spontanément la PE. Les expressions des protéines du récepteur Fas, du ligand Fas (FasL), de Bax et de Bcl-2 dans les tissus placentaires ont été évaluées par la technique Western blot.

**Résultats :** Nos résultats obtenus chez les souris ont démontré une activation de la voie extrinsèque de l'apoptose avec une augmentation de l'expression du récepteur Fas (P = 0,01) et FasL (p = 0,02) dans le placenta de souris transgéniques avec PE. Cependant, la voie intrinsèque était inactivée dans les placentas de souris transgéniques avec une expression accrue de la protéine Bcl-2 (P = 0,02), une diminution du taux de Bax (P = 0,04) et un ratio Bax/Bcl2 plus faible par rapport aux placentas des témoins. Chez la femme, un profil différent a été observé dans les placentas des grossesses avec PE. Alors que la voie extrinsèque était inhibée avec une expression réduite de la protéine du récepteur Fas (P = 0,001) et aucun changement significatif du FasL, la voie intrinsèque était activée avec une expression accrue de Bax (P = 0,04) et un ratio Bax/Bcl2 plus élevé (P = 0,03) par rapport aux témoins.

**Conclusion :** Nos résultats démontrent l'activation de l'apoptose dans les placentas avec PE. Nous avons observé une activation de voie extrinsèque dans le placenta des souris et de la voie intrinsèque dans le placenta humain pendant la grossesse avec PE. Les Différences des profils d'activation d'apoptose peuvent être dues à différents processus pathologiques de PE et des réponses aux stress dans le placenta humain et de souris.

## POSSIBLE ALTÉRATION DE LA SENSIBILITÉ DE L'ENDOTHÉLIUM AUX CONTRAINTES DE CISAILLEMENT CHEZ LES FEMMES POST-MÉNOPAUSÉES

Ravanelli N<sup>1,2</sup>, Coovadia Y<sup>3</sup>, Usselman CW<sup>3,4</sup>, Romero SA<sup>5</sup>, et Gagnon D<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centre ÉPIC de l'Institut de Cardiologie de Montréal

<sup>2</sup>Département de pharmacologie et physiologie, Université de Montréal

<sup>3</sup>Cardiovascular Health and Autonomic Regulation Laboratory, McGill University

<sup>4</sup>McGill Research Centre for Physical Activity and Health, McGill University

<sup>5</sup>University of North Texas Health Science Center, Fort Worth, Texas, United States

**Introduction :** La carence en œstrogènes qui survient durant la ménopause est associée avec une dysfonction endothéliale qui prédispose les femmes post-ménopausées à un risque accru d'hypertension et de maladies cardiovasculaires. Bien que l'exercice physique soit l'intervention la plus efficace pour améliorer la fonction endothéliale chez les personnes âgées, les études n'ont démontré des bienfaits que chez les hommes. À l'inverse, l'exercice physique n'exerce aucun bienfait sur la fonction endothéliale chez les femmes post-ménopausées. Notre étude a pour but de déterminer les mécanismes potentiels qui pourraient sous-tendre cette observation. Nous avons émis l'hypothèse que les femmes post-ménopausées démontrent une sensibilité réduite de l'endothélium aux contraintes de cisaillement durant l'exercice comparativement à des hommes du même âge.

**Méthodes :** Jusqu'à présent, 7 femmes post-ménopausées (68 ± 6 ans) et 2 hommes (70 ± 2 ans) en bonne santé ont été recrutés. Lors d'une visite en laboratoire, la sensibilité de l'endothélium aux contraintes de cisaillement est quantifiée par échographie de l'artère brachiale lors d'un protocole de préhension rythmique de la main (20 contractions/min pendant 4 min) à 3, 6 et 9 kg.

**Résultats :** Selon les données recueillies jusqu'à présent, la pente de la relation entre le pourcentage de dilatation de l'artère brachiale et la contrainte de cisaillement semble plus élevée chez les hommes (0,025 ± 0,004 %/s-1) que chez les femmes (0,015 ± 0,015 %/s-1).

**Conclusion :** Ces données préliminaires suggèrent que les femmes post-ménopausées présentent une sensibilité réduite de l'endothélium aux contraintes de cisaillement, ce qui pourrait expliquer l'absence d'une amélioration de la fonction endothéliale chez cette population à la suite d'une intervention par l'exercice physique.

## L'INVALIDATION GÉNÉTIQUE DU RÉCEPTEUR PURINERGIQUE P2X7 CHEZ LA SOURIS RÉDUIT L'ÉLEVATION DE PRESSION PULSÉ INDUITE PAR L'ANGIOTENSINE II

Brandon Shokoples<sup>1</sup>, Pierre Paradis<sup>1</sup> and Ernesto L. Schiffrin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut Lady Davis pour la Recherche Médicale et <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital Général Juif, Université McGill, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Les lésions vasculaires induites par une tension artérielle (TA) élevée causent la libération d'ATP qui peut induire l'activation de l'inflammasome dans les cellules immunitaires innées via la liaison aux récepteurs purinergiques P2X7 (P2RX7), ce qui va stimuler la libération d'interleukine (IL)-1β et l'activation de lymphocytes T. Des niveaux élevés d'ATP ont été observés dans le liquide interstitiel rénal de rats perfusés avec l'angiotensine (Ang) II, et le traitement avec un inhibiteur non sélectif des récepteurs P2 a prévenu l'inflammation et les lésions rénales induites par l'Ang II. Le knockout de *P2rx7* (*P2rx7*<sup>-/-</sup>) a empêché l'élévation de la TA et les lésions rénales induites par un traitement avec acétate de désoxycorticostérone et sel. Cependant, il demeure inconnu si l'élévation de la TA induite par l'Ang II sera réduite chez les souris *P2rx7*<sup>-/-</sup>.

**Méthodes :** Des souris mâles C57BL/6J sauvages (WT) et *P2rx7*<sup>-/-</sup> âgées de 10-12 semaines ont été infusées ou non avec l'Ang II (1000 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours. La TA a été mesurée par télémetrie. Le profil d'expression de P2RX7 dans les cellules immunitaires a été déterminé dans la rate par cytométrie en flux. La sécrétion d'IL-1β à partir de macrophages (MΦ) ou de cellules dendritiques (CD) dérivés de moelle osseuse de souris WT et *P2rx7*<sup>-/-</sup> a été évaluée par ÉLISA.

**Résultats :** La stimulation avec des lipopolysaccharides (LPS) et de l'ATP a provoqué la sécrétion d'IL-1β dans les MΦ WT (339±162 pg/mL), mais pas dans les MΦ *P2rx7*<sup>-/-</sup>. Le LPS a induit la libération d'IL-1β dans les CD WT (206±92 pg/mL) et *P2rx7*<sup>-/-</sup> (74±27 pg/mL). L'addition d'ATP a augmenté la sécrétion d'IL-1β seulement dans les CD WT (840±407 pg/mL). L'Ang II a accru l'expression de P2RX7 dans les cellules dendritiques (1.9 fois), les macrophages (1.2 fois), les neutrophiles (2.4 fois), et les cellules T (2.1 fois) et B (1.6 fois). Les souris *P2rx7*<sup>-/-</sup> présentaient une réduction de la TA systolique induite par l'Ang II à fin du traitement (160±3 vs 172±2 mm Hg; *P*<0.05) et une TA pulsée réduite avant (28±2 vs 34±2 mm Hg, *P*<0.05) et après l'infusion d'Ang II (54±3 vs 37±5 mm Hg; *P*<0.05) par rapport aux souris WT.

**Conclusion :** L'élévation de TA induite par l'Ang II est accompagnée par un accroissement de l'expression de P2RX7 dans les cellules immunitaires. Le knockout de *P2rx7* atténue l'élévation de la TA systolique et réduit la TA pulsée, ce qui pourrait prévenir les dommages aux organes cibles.

## LES VÉSICULES EXTRACELLULAIRES AU COEUR DU TRANSPORT LYMPHATIQUE DANS L'ATHÉROSCLÉROSE

Vachon L, Jean G, Farhat M, Jarry S, Fortin C, Martel C

Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada et Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec, Canada

**Introduction :** L'Athérosclérose maladie souvent instiguée et exacerbée par l'hypertension artérielle, est caractérisée par l'accumulation de cholestérol, de cellules immunes et vésicules extracellulaires (VEs) dans la paroi des vaisseaux sanguins. Le cholestérol peut être mobilisé hors de la lésion athérosclérotique en empruntant d'abord les capillaires lymphatiques situés dans l'adventice des vaisseaux sanguins, avant de rejoindre la circulation sanguine via la veine sub-clavière. Mais qu'en est-il est autres composantes qui constituent la plaque? Ayant publié que la lymphe de souris athérosclérotiques est riche en VEs, incluant de globules rouges (GRVEs) et de plaquettes (PVEs), notre objectif est maintenant de déterminer si et comment les VEs interagissent avec le système lymphatique pour en moduler la fonction.

**Méthodes :** Les plaquettes ont un rôle protecteur dans la fonction lymphatique, mais sont très peu présentes dans la lymphe. Or, puisque la lymphe contient des niveaux élevés de PVEs, nous croyons que ces dernières protégeraient l'endothélium lymphatique contre les effets destructifs des autres sous-types de VEs. Pour ce faire, grâce à l'expertise unique de notre laboratoire, nous utiliserons une approche à la fois *in vitro* et *in vivo*. Ainsi, une monocouche de cellules endothéliales lymphatique (CELS) sera traitée avec des concentrations physiologiques de PVEs et de GRVEs pour en voir les effets sur l'intégrité des CELs. Ensuite, des souris, femelles et mâles, seront injectées avec des VEs triées par cytométrie en flux, et leurs effets sur la fonction lymphatique mesurée chez l'animal.

**Résultats :** Nos résultats préliminaires suggèrent que PVEs protègent l'endothélium lymphatique contre les effets délétères des GRVEs *in vitro*, entre autres en diminuant la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS), la nécrose cellulaire et l'expression de CD31.

**Conclusion :** Les VEs circulant dans la lymphe semblent affecter la fonction lymphatique, qui à son tour modulera la capacité des VEs à circuler dans la lymphe. D'améliorer la fonction lymphatique très tôt chez des sujets prédisposés à développer l'athérosclérose pourrait limiter les dommages reliés à cette pathologie.

## UNE CYTOKINE PROINFLAMMATOIRE CONTRIBUE AUX EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LE COUPLAGE NEUROVASCULAIRE

Youwakim, J<sup>1</sup>; Vallerand, D<sup>1</sup> et Girouard, H<sup>1</sup>

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

**Introduction :** L'hypertension artérielle constitue le premier facteur de risque après l'âge pour les démences vasculaires et de type Alzheimer. L'angiotensine II (Ang II), une hormone impliquée dans développement et le maintien de l'hypertension artérielle, altère le couplage neurovasculaire (CNV) qui constitue le lien dynamique entre l'activité neuronale et l'apport sanguin local. Une altération du CNV résulte en une rupture de l'homéostasie cérébrale et en une augmentation de la vulnérabilité aux démences telle la maladie d'Alzheimer. L'Ang II est aussi connue pour accroître le stress oxydatif (SO) et moduler le système immunitaire. Parmi ces effets, apparaît l'augmentation de la production de la cytokine proinflammatoire IL17A par les cellules T qui peut à son tour augmenter le SO. Ainsi, notre hypothèse stipule que l'IL-17A joue un rôle clé dans les effets de l'angiotensine II sur le CNV en potentialisant la production de radicaux libres.

**Méthode :** Des souris mâles ont été injectées i.p. avec un anticorps neutralisant anti IL-17A ou avec un témoin isotope IgG (0.5 µg/µL) tous les 4 jours, durant 14 jours en commençant au jour 0 de l'implantation sous-cutanée d'une pompe osmotique libérant l'Ang II (600 ng/kg/min). Le débit sanguin cérébral est mesuré par débitmétrie laser Doppler suite à une stimulation des vibrisses. Le niveau de SO a été étudié à l'aide d'un marquage au dihydroéthidium. L'effet de l'IL-17A a été évalué chez des souris ayant reçu une implantation sous-cutanée d'une pompe osmotique libérant de l'IL-17A recombinant (50 pg/kg/h, 7 jours) simultanément à l'administration chronique d'un antioxydant (Tempol, 1mM) dans l'eau de boisson.

**Résultats :** La déplétion d'IL-17A normalise le CNV altéré par l'Ang II et démontre une réponse comparable aux valeurs obtenues pour les groupes témoins. De plus, la déplétion d'IL-17A réduit le SO au niveau de l'hippocampe et du cortex somatosensoriel. L'administration chronique d'IL-17A recombinant altère le CNV, et ce, de manière dose dépendante. L'administration simultanée d'un antioxydant rétablit le CNV.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que l'IL-17A joue un rôle crucial dans les effets de l'Ang II sur le CNV et que cet effet est médié par le SO. Un traitement par un anticorps contre l'IL-17A pourrait donc prévenir les dysfonctions cérébrovasculaires chez les hypertendus et diminuer l'incidence des maladies neurodégénératives associées à l'hypertension artérielle.

**L'IMPACT DES ANTIHYPERTENSEURS SUR LA CALCIFICATION VASCULAIRE EN INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE**

Zair O<sup>1</sup>, Ung R<sup>2</sup> et Agharazii M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Département de biologie médicale, Université Laval, Québec, Québec.* <sup>2</sup>*Centre de recherche du CHUQ, Département de médecine, Université Laval, Hôtel-Dieu de Québec, Québec, Québec*

**Introduction :** La calcification vasculaire (CV) est un problème majeur chez les sujets avec l'insuffisance rénale chronique (IRC) en raison du déséquilibre du métabolisme minéral osseux (DMMO). Nous avons émis l'hypothèse que la réduction de la pression artérielle moyenne (PAM) peut réduire l'étendue de la CV.

**Méthodes :** Dans un modèle animal d'IRC (néphrectomie 5/6ième) avec CV induite par un DMMO (diète riche en Ca/P avec supplément de vitamine D active), nous avons utilisé deux régimes de traitement antihypertenseurs : 1) Losartan (un antagoniste du récepteur de l'angiotensine II) et 2) combinaison d'Hydrochlorothiazide (un diurétique couramment utilisé en clinique) et Hydralazine (un vasodilatateur) comme traitement neutre (HCT/HY).

**Résultats :** Les résultats montrent que le Losartan a diminué la PA sans réduction de la CV (coloration de von Kossa) par rapport au groupe témoin. Bien que le groupe HCT/HY a montré une réduction de la PAM, il montrait une accentuation de la CV caractérisé par la transdifférenciation des cellules musculaires lisses (VSMC) en cellule de type ostéoblastique (taux significativement plus élevés d'ostéocalcine et de FGF23 par immunohistochimie, plus bas de SM22alpha), accompagné d'infiltration de macrophages (ED1).

**Conclusion :** Sachant que les diurétiques thiazidiques stimulent la différenciation des ostéoblastes dans l'os par inhibition du cotransporteur NaCl (NCC), indépendamment de leurs actions rénales, nous avons examiné par plusieurs méthodes (immunohistochimie, immunofluorescence, western Blot et qPCR) la présence du NCC dans les vaisseaux calcifiés. Bien que nous n'avons pu démontrer la présence de NCC, ceci n'infirmes pas encore l'implication des NCC, car ceci pourrait être dû à son expression extrêmement faible dans les vaisseaux calcifiés. En somme, l'abaissement de PA n'a pas eu d'impact sur la réduction de la CV, et l'HCT/HY a accéléré le processus de la CV caractérisé par la différenciation ostéoblastique des VSMC.

Il n'y a pas de conflits d'intérêts à déclarer.