

## Sciences fondamentales

### DIFFÉRENCES ENTRE LES SEXES DANS LA PROGRAMMATION FŒTALE DE LA CARDIOMYOPATHIE INDUITE PAR LES TROUBLES HYPERTENSIFS DE LA GROSSESSE CHEZ LA SOURIS

Benizri N, Marc C, Raguema N, Achille A, Pépin E, Lavoie J, Bertagnolli M  
CIUSSS Nord-de-l'Île-de-Montréal, Montréal, QC, Canada

**Introduction :** Les troubles hypertensifs atteignent une grossesse sur 10, augmentant considérablement les taux de morbidité et de mortalité maternelles et néonatales. Les enfants nés de grossesses hypertensives peuvent ainsi développer des caractéristiques cliniques uniques compatibles avec un processus de vieillissement prématuré ou accéléré. De plus, ils démontrent des signes de remodelage cardiaque dès l'enfance. Le but de cette étude était de développer un nouveau protocole d'imagerie par ultrasons afin de pouvoir décrire les différences de sexe dans la programmation fœtale de la cardiomyopathie dans un modèle de souris génétique d'hypertension maternelle et de pré-éclampsie (PE) superposée.

**Méthode :** Nous avons réalisé une échocardiographie fœtale chez des souris transgéniques (n=4/groupe) surexprimant la rénine + angiotensinogène humaine par rapport aux groupes contrôles (C57BL/6) à 18,5 jours de gestation. Les images fœtales ont été ajustées en fonction du diamètre intracrânien comme marqueur intra-utérin de la croissance fœtale. Les progénitures mâles et femelles (n=4-8/groupe/sexe) ont été suivis par échocardiographie à 40 jours postnatals.

**Résultats :** Les données sont présentées comme moyennes  $\pm$  ET. Les fœtus de mères hypertendues avaient des parois ventriculaires gauche (VG) plus épaisses ( $0,32 \pm 0,02$  vs  $0,45 \pm 0,04$  mm,  $P < 0,01$ ) et une chambre du VG dilatée ( $0,82 \pm 0,02$  vs  $0,97 \pm 0,07$  mm,  $P < 0,01$ ), avec une masse ventriculaire augmentée ( $3,2 \pm 0,4$  vs  $4,3 \pm 0,3$  mg,  $P < 0,001$ ) par rapport aux groupes contrôles. À l'âge adulte, les progénitures mâles et femelles de mères hypertendues avaient une masse du VG augmentée (mâle :  $88 \pm 19$  vs  $139 \pm 62$  mg,  $P < 0,01$ ; femelle :  $74 \pm 21$  vs  $104 \pm 27$ ,  $P < 0,05$ ) ainsi qu'une plus grande épaisseur de paroi (mâle :  $0,70 \pm 0,03$  vs  $0,95 \pm 0,22$  mm,  $P < 0,05$ ; femelle :  $0,63 \pm 0,15$  vs  $0,91 \pm 0,17$  mm,  $P < 0,05$ ) par rapport à la progéniture contrôle. Cependant, les femmes avaient une dilatation supplémentaire au niveau de la chambre du VG ( $3,3 \pm 0,3$  vs  $3,9 \pm 0,4$  mm,  $P < 0,05$ ) et une fraction de raccourcissement réduite ( $48 \pm 9$  vs  $33 \pm 4\%$ ,  $P < 0,01$ ) par rapport aux témoins, indiquant un dysfonctionnement systolique du VG et une cardiomyopathie.

**Conclusion :** Nos résultats démontrent la faisabilité de l'utilisation de l'échocardiographie fœtale et postnatale dans le but d'évaluer la programmation de la cardiomyopathie chez les souris exposées à une grossesse hypertensive. En outre, nous avons montré que les changements de remodelage cardiaque fœtal persistaient à l'âge adulte chez la progéniture de mères hypertendues, ce qui a progressé chez les femelles vers une programmation accélérée de cardiomyopathie.

# IDENTIFICATION DE TROIS MICROARN EXPRIMÉS DANS LES CELLULES MONONUCLÉÉES SANGUINES PÉRIPHÉRIQUES DE PATIENTS HYPERTENDUS AVEC SYNDROME MÉTABOLIQUE

Berillo O<sup>1</sup>, Huo KG<sup>1</sup>, Fraulob-Aquino JC<sup>1</sup>, Richer C<sup>3</sup>, Briet M<sup>1,5</sup>, Lipman ML<sup>1,2</sup>, Sinnett D<sup>3,4</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut Lady Davis, <sup>2</sup>Département de Médecine, Hôpital général juif, Université McGill; <sup>3</sup>Division d'hématologie-Oncologie Centre de recherche, CHU Ste-Justine, <sup>4</sup> Département pédiatrique Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada, <sup>5</sup>INSERM U1083, CNRS UMR 6214, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Université d'Angers, Angers, France.

**Introduction** : L'hypertension artérielle (HTN), l'insuffisance rénale chronique (IRC) et le syndrome métabolique (SM) sont parmi les maladies les plus répandues dans le monde, causant des millions de décès par an. L'activation des cellules immunitaires joue un rôle dans l'induction par l'HTN de dommages aux organes cibles. Les microARN (miR) sont de petits ARN non codants qui régulent l'expression des gènes dans les cellules immunitaires, mais leur implication dans l'HTN reste inconnue. Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et physiopathologiques impliqués, nous voulons identifier les miR et leurs cibles, des ARN messagers (ARNm), exprimés différemment (ED) dans les cellules mononucléées sanguines périphériques (CMSP) de sujets humains avec HTN compliqués ou non avec IRC ou SM.

**Méthode** : Des sujets normotendus, avec HTN [pression artérielle systolique (PA) >135 mmHg ou diastolique de 85-115 mm Hg avec BpTRU], avec HTN et IRC (eGFR<60 mL/min/m<sup>2</sup>) ou avec HTN et au moins 2 caractéristiques de SM (tour de taille ≥102 [♂] ou ≥88 cm [♀], triglycérides ≥1.7 mmol/L, lipoprotéine de haute densité <1.29 [♂] ou 1.03 mmol/L [♂], ou glycémie à jeun ≥6.1 mmol/L) (n=15-16) ont été étudiés. Les CMSP ont été isolées des échantillons de sang, les ARN ont été extraits pour séquençage sur la plateforme Illumina HiSeq-2500. Les ARN ED ont été identifiés avec  $P<0.005$  et des changements de >1.5 fois. Des miR ED avec des changements de >2 fois et >500 séquences obtenues et avec des cibles prédites avec >300 séquences obtenues ont été sélectionnés pour confirmer les résultats de séquençage par transcription inverse-PCR quantitatif (RT-qPCR).

**Résultats** : Sur la base du séquençage, miR et ARNm ED ont été identifiés chez les sujets hypertendus (22 et 19), HTN+IRC (57 et 401) et HTN+SM (6 et 26) comparativement aux sujets normotendus. Trois miR ED sur 14 testés ont été validés par RT-qPCR: miR-409-5p (↓,  $P<0.05$ ) et miR-411-5p (↓,  $P<0.001$ ) et miR-pl-86 (nouveau miR, ↑,  $P<0.05$ ) chez les sujets SM comparativement aux normotendus.

**Conclusion** : Des miR et ARNm ED ont été identifiés dans les CMSP des sujets avec HTN, HTN+IRC ou HTN+SM. Les régulations négatives des miR-409-5p et miR-411-5p et positives du nouveau miR miR-pl-86 ont été confirmées chez les sujets HTN+SM. Il reste à déterminer le rôle de ces miR dans l'activation des cellules immunitaires.

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

Caillon A<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup> et 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, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Récemment, nous avons démontré qu'une petite sous-population de cellules 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. Nous avons démontré une augmentation du nombre et de l'activation (CD69<sup>+</sup>) des cellules T  $\gamma\delta$  lors du développement de l'hypertension chez des souris infusées avec l'angiotensine (Ang) II. L'absence de cellules T  $\gamma\delta$  a empêché le développement de l'hypertension, ainsi que l'activation des cellules 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.

**Méthode :** Des souris mâles C57BL/6J ont été infusées ou non avec de l'Ang II (490 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours (n=28). Les cellules T  $\gamma\delta$  et  $\alpha\beta$  ont été isolées des ganglions lymphatiques périphériques et de la rate de souris ou de cellules humaines mononuclées sanguine périphériques avec des billes magnétiques. Les cellules T  $\alpha\beta$  ( $5 \times 10^5$  cellules) ont été cultivées seules ou avec des cellules T  $\gamma\delta$  ( $10^5$  cellules) en présence (souris) ou non d'anticorps anti-CD3 (humain) et traitées avec Ang II (100 nM) ou le véhicule pendant 3 ou 4 jours respectivement. Le profil des cellules T a été déterminé par cytométrie en flux.

**Résultats :** Une forte corrélation était observée chez les souris traitées avec l'Ang II entre le nombre (#) de cellules T  $\gamma\delta$  CD69<sup>+</sup> et le # de cellules T CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.76$ ,  $P<0.0001$ ) et CD8<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $r^2=0.73$ ,  $P<0.0001$ ). *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  $\gamma\delta$  ( $P<0.001$ ). Lorsque les cellules T  $\gamma\delta$  provenaient de souris infusées avec l'Ang II et cultivées en présence de cellules T  $\alpha\beta$ , la fraction des cellules T  $\alpha\beta$  CD69<sup>+</sup> était augmenté 2 fois ( $P<0.01$ ) et 1.3 fois pour les cellules T  $\alpha\beta$  CCR6<sup>+</sup> ( $P<0.05$ ). Des co-cultures de cellules T  $\alpha\beta$  humaines ont montré une augmentation de 2 fois pour les cellules T CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $P<0.05$ ) et CD8<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> ( $P<0.01$ ) et 1.3 fois pour les cellules T CCR6<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ( $P<0.05$ ) lorsque celles-ci étaient cultivées en présence de cellules T  $\gamma\delta$ .

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

# RÔLE DES LYMPHOCYTES T $\gamma\delta$ MÉMOIRE DANS L'HYPERTENSION ET LES DOMMAGES VASCULAIRES ASSOCIÉS

Comeau K<sup>1</sup>, Caillon A<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup>, and Schiffrin EL<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hypertension and Vascular Research Unit, Lady Davis Institute for Medical Research and

<sup>2</sup>Department of Medicine, Sir Mortimer B. Davis-Jewish General Hospital, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

**Introduction :** Nous avons récemment démontré que les lymphocytes T  $\gamma\delta$  participent à l'initiation de l'hypertension. Par ailleurs, le développement de cellules T mémoire a été montré après un épisode initial d'hypertension qui rend les souris susceptibles de présenter une élévation de tension artérielle (TA) suite à l'exposition subséquente à un stimulus hypertensif léger. Cependant, le rôle des lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire quant au développement de l'hypertension reste inconnu. Nous proposons que les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire se développent après une exposition initiale à un stimulus hypertensif, et rendent les souris susceptibles de présenter une élévation de TA suite à l'exposition subséquente à un stimulus hypertensif léger.

**Méthode :** Des souris mâles C57BL/6J âgées de 10-12 semaines ont été infusées ou non (souris contrôles) avec l'Ang (angiotensine) II (490 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours, suivis d'une période de sevrage de 2 semaines, puis toutes les souris ont été infusées avec une dose non-hypertensive d'Ang II (140 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours. La TA a été mesurée par télémétrie et le profil des lymphocytes T a été déterminé par cytométrie en flux.

**Résultats :** Les souris exposées au premier stimulus hypertensif avaient une TA systolique plus haute de ~30 mm Hg que les souris contrôles après le second stimulus non-hypertensif ( $P < 0.001$ ). Après, le premier stimulus hypertensif, les souris traitées par l'Ang II présentaient 4.5 fois plus de lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoires effecteurs dans le tissu adipeux péri-vasculaire (TAPV) des artères mésentériques et 2.4 fois plus dans les ganglions lymphatiques mésentériques (GLm) que les souris contrôles. Après le second stimulus, les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire centraux tendaient à diminuer dans le TAPV des artères mésentériques et diminuaient de 23% dans le GLm. Cependant, les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire effecteurs tendaient à augmenter dans ces tissus.

**Conclusion :** Les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire effecteurs sont augmentés après une exposition initiale à un stimulus hypertensif et tendent à augmenter après le second stimulus hypertensif léger. Ceci suggère que les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mémoire effecteurs jouent un rôle dans l'hypertension induite par l'Ang II.

## **DIMINUTION DE L'HUMANINE CHEZ LE JEUNE ADULTE NÉ TRÈS PRÉMATURÉMENT ET ASSOCIATION AVEC LA FRACTION D'ÉJECTION**

Dartora DR<sup>1</sup>, Flahault A<sup>1</sup>, Nobre C<sup>1</sup>, Altit G<sup>2</sup>, Deprez A<sup>1</sup>, He Y<sup>1</sup>, Cloutier A<sup>1</sup>, Girard-Bock C<sup>1</sup>, Simoneau J<sup>2</sup>, Lapointe A<sup>1</sup>, Villeneuve A<sup>1</sup>, Burelle Y<sup>3</sup>, White M<sup>1</sup>, Bigras JL<sup>1</sup>, Luu TM<sup>1</sup>, Nuyt AM<sup>1</sup>.

1. Centre de recherche et département de pédiatrie, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.
2. Division de néonatalogie, Montreal Children's Hospital, Université McGill, Montréal, Québec, Canada.
3. Département de médecine cellulaire et moléculaire, Faculté de médecine, Université d'Ottawa, Ontario, Canada.

**Introduction :** La prématurité (PT) est associée à un risque accru de maladie cardiovasculaire (MCV). Nous avons identifié une dysfonction mitochondriale au ventricule gauche (VG) dans un modèle de rat mimant les conditions délétères associées à la PT. La présence de telles altérations mitochondriales et leurs effets sur la fonction du VG chez les sujets humains nés PT n'ont pas encore été confirmés. Notre objectif est de déterminer si les niveaux sériques d'humanine, un peptide cytoprotecteur dérivé de la mitochondrie, sont altérés chez le sujet humain né PT et sont associés à la fonction du VG.

**Méthode :** Les résultats proviennent de 55 jeunes adultes nés PT (<30 semaines d'âge gestationnel (GA)) et 54 contrôles nés à terme (T) du même âge. Les taux sériques d'humanine sont déterminés via ÉLISA et la fraction d'éjection du VG (FEVG) par échocardiographie. Les résultats sont présentés en médiane (étendue interquartile) et les comparaisons inter-groupes sont effectuées avec des tests non paramétriques.

**Résultats :** Les individus avaient 23.3 (21.4, 25.3) ans et la distribution de l'âge et du sexe était similaire entre les groupes. Les PT avaient un AG de 27.5 (26.2, 28.4). Les niveaux d'humanine étaient 132.9 (105.1, 189.3) et 161.1 (123.6, 252) chez les PT et les T, respectivement ( $p=0.0414$ ). La FEVG était similaire entre les groupes. Une FEVG plus basse était associée à un niveau plus bas d'humanine ( $p<0.001$ ), et cette association était observée dans le groupe T ( $p=0.002$ ) et PT ( $p=0.047$ ).

**Conclusion :** Les niveaux sériques d'humanine sont plus bas chez les PT. Puisque de bas niveaux d'humanine sont également associés avec une FEVG plus basse, nos résultats suggèrent que des altérations mitochondriales pourraient jouer un rôle dans les conséquences cardiovasculaires liées à la PT. Des analogues de l'humanine améliorent la fonction du VG dans des modèles expérimentaux. Nos résultats pavent la voie pour de futures études sur l'utilisation de l'humanine comme cible thérapeutique dans la prévention des MCV chez les individus PT.

# RÔLE DU RÉCEPTEUR DE L'INTERLEUKINE-23 DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET LES LÉSIONS VASCULAIRES INDUITES PAR L'ANGIOTENSINE II

Ferreira NS<sup>1</sup>, Shokoples B<sup>1</sup>, Higaki A<sup>1</sup>, Comeau K<sup>1</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, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Les cellules T  $\gamma\delta$  jouent un rôle dans l'hypertension (HTN) et les dommages vasculaires. Deux types de cellules T  $\gamma\delta$  sont générées au cours du développement thymique, les cellules T $\gamma\delta$ 1 et T $\gamma\delta$ 17, qui produisent respectivement l'interféron  $\gamma$  et l'interleukine (IL)-17A. Les cellules T $\gamma\delta$ 17 expriment le récepteur IL-23 (RIL-23). La sécrétion d'IL-1 $\beta$  et IL-23 par des cellules immunitaires innées peut induire la conversion extrathymique de cellules T  $\gamma\delta$  n'exprimant pas le RIL-23 dans des cellules T $\gamma\delta$ 17. Il a été montré que l'IL-17A est impliquée dans le maintien de l'HTN et les dommages vasculaires chez des souris infusées avec l'angiotensine (Ang) II. Cependant, il demeure inconnu si le RIL-23 et les cellules T $\gamma\delta$ 17 jouent un rôle dans l'HTN. Nous avons émis l'hypothèse que l'HTN induite par l'AngII est associée à une augmentation du nombre de cellules T $\gamma\delta$ 17 exprimant le RIL-23, et que la déficience de RIL-23 empêchera l'induction de l'élévation de la pression artérielle et des lésions vasculaires chez les souris infusées avec l'Ang II.

**Méthode :** Des souris mâles C57BL/6J sauvages (WT) et *Il23r*<sup>-/-</sup> âgées de 10-12 semaines ont été infusées ou non avec l'AngII (490 ng/kg/min, SC) pendant 14 jours. La tension artérielle (TA) a été mesurée par télémétrie. La fonction endothéliale et le remodelage vasculaire des petites artères mésentériques ont été mesurés par myographie pressurisée.

**Résultats :** L'Ang II a causé une augmentation plus élevée de 15 à 23 mm Hg de la TA systolique durant les jours 5 à 9 du traitement chez les souris *Il23r*<sup>-/-</sup> comparativement aux souris WT ( $P < 0.05$ ). Après 14 jours d'Ang II, le degré d'élévation de la TA systolique était similaire dans les deux groupes (WT: 167 $\pm$ 3 vs 118 $\pm$ 3 mm Hg;  $P < 0.05$ , et *Il23r*<sup>-/-</sup>: 168 $\pm$ 2 vs 124 $\pm$ 4 mm Hg;  $P < 0.05$ ). Les souris *Il-23r*<sup>-/-</sup> ne sont pas protégés contre le dysfonctionnement endothélial et le remodelage hypertrophique des petites artères mésentériques induits par l'Ang II.

**Conclusion :** Nos résultats montrent que la déficience en RIL-23 exagère l'élévation de la TA durant la première semaine d'infusion avec l'Ang II, sans pour autant affecter l'augmentation de la TA à la fin de l'étude. L'absence de RIL-23 n'a pas affecté les dommages vasculaires des petites artères induits par l'Ang II.

# EFFET DU RÔLE D'ARF6 DANS L'INVASION CHEZ LES CELLULES DU MUSCLE LISSE VASCULAIRE

Fiola-Masson<sup>1</sup>, É, Artigalas<sup>1</sup>, J & Claing, A<sup>1</sup>

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

**Introduction :** Dans le contexte pathologique du développement et de la progression de l'athérosclérose, les cellules du muscle lisse vasculaire (CMLV) tendent à migrer et envahir la couche endothéliale des vaisseaux sanguins. Ce mouvement cellulaire a comme impact d'accroître la taille de la plaque de l'athérome, pouvant entraîner des complications. Des données préliminaires ont démontré que des facteurs de croissance ou hormones tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) et l'Angiotensine II (Ang II), un peptide responsable de la l'induction et de la régulation de l'hypertension artérielle, peuvent, entre autres, mener à l'invasion des CMLV. Cependant, les mécanismes moléculaires entraînant cette action sont peu connus. Dans notre laboratoire, il a été prouvé que les GTPases de la famille des ARFs jouent un rôle dans la prolifération et la migration cellulaire des CMLV. Dans cette optique, l'hypothèse amenée serait qu'ARF6 soit impliquée dans le mécanisme d'invasion des CMLV.

**Méthode :** Un modèle cellulaire de CMLV aortiques humaines primaires a été utilisé pour les études. Pour étudier le rôle d'ARF6, les cellules sont infectées à l'aide de lentivirus contenant des *shRNA* ciblant ARF6 et ce, avec ou sans l'induction au PDGF ou à l'Ang II. Pour l'observation du phénomène d'invasion, la dégradation matricielle a été analysée en microscopie à l'aide d'un support fluorescent. De plus, des essais de chambres de Boyden enduites de matrigel ont permis de compléter les observations. Des essais de stimulation aux agonistes ont été réalisés et analysés par immunobuvardage pour vérifier la modulation de l'activité de certaines voies de signalisation (ERK1/2, AKT, PAK).

**Résultats :** Ces essais ont démontré qu'ARF6 module l'invasion des CMLV, lorsqu'activée par des agonistes. Des expériences supplémentaires tendent à expliquer un rôle d'AR6 sur l'activité de la voie de PAK et de son implication dans l'invasion. De plus, l'expression d'une métalloprotéase matricielle, MMP14, modulant aussi l'invasion cellulaire, est modifiée par l'absence d'ARF6. D'autres expériences sont en cours afin de déterminer l'impact d'ARF6 sur l'activité de cette MMP.

**Conclusion :** Ces études ont permis d'observer que les CMLV d'origine humaine avaient un profil différent d'invasion sous l'action du PDGF ou de l'Ang II, de même par l'absence d'ARF6.

# LES FEMELLES SONT PROTÉGÉES CONTRE L'ALTÉRATION NEUROVASCULAIRE INDUITE PAR LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE CHEZ LA SOURIS

Hubert, V<sup>1</sup> Muhire, G<sup>1</sup> Youwakim, J<sup>1</sup> Vallerand, D<sup>1</sup> Girouard, H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie Cérébrovasculaire, Université de Montréal, Montréal, Québec

**Introduction :** La rigidité artérielle (RA) est une condition associée aux maladies cardiovasculaires, et un facteur de risque important du vieillissement cérébral pathologique et des accidents vasculaires cérébraux (AVC). Dans les grandes artères, la RA entraîne la diminution de la capacité à amortir la pulsativité du flux sanguin suite à l'éjection ventriculaire. Chez les souris avec calcification carotidienne, cela se traduit par une pulsativité accrue du flux sanguin dans les vaisseaux cérébraux, ce qui compromet la microcirculation cérébrale. Chez l'humain, des risques accrus de maladies cardiovasculaires et d'AVC sont associés à la baisse du taux d'œstrogène lors de la ménopause. Par conséquent, nous avons émis l'hypothèse que les œstrogènes protégeraient les souris femelles contre l'altération des fonctions cérébrovasculaires associées à la RA.

**Méthode :** Nous avons travaillé dans un modèle de RA induite par calcification de la carotide, couplé chez les souris femelles à un modèle d'ovariectomie (OVX) pour induire la diminution du taux d'œstrogènes. Dans un premier temps, le débit sanguin cérébral (DSC) a été mesuré *in vivo* à l'aide d'une sonde laser Doppler chez 4 groupes expérimentaux : 1) des souris mâles C57BL/6J; et des souris femelles 2) non-OVX, 3) OVX + véhicule et 4) OVX + œstradiol. *Ex vivo*, les propriétés mécaniques des artères carotides ont été évaluées et la teneur en calcium de ces artères a été déterminée par colorimétrie.

**Résultats :** Nos résultats montrent que chez les souris mâles, la RA atténue l'augmentation du DSC associée à une tâche sensorimotrice ainsi qu'à l'injection de drogues vasodilatatrices. En revanche, les souris femelles non-OVX sont protégées de cette atteinte du DSC. Cette protection est supprimée par la déplétion des œstrogènes dans le modèle OVX et rétablie par un traitement à l'œstradiol chez les souris OVX. Nos résultats *ex vivo* n'ont pas montré d'impact de l'œstradiol sur la teneur en calcium ni sur les propriétés mécaniques des carotides.

**Conclusion :** Nos résultats démontrent pour la première fois que le système cérébrovasculaire des souris femelles est protégé des effets de la RA sur le DSC. Cette protection disparaît avec une carence en œstrogène et est rétablie avec un traitement à l'œstradiol. Par conséquent, la RA ainsi que les voies de signalisation de l'œstradiol devront être considérées comme des cibles pertinentes pour protéger le cerveau.



# LES LYMPHOCYTES T $\gamma\delta$ V $\gamma$ 6<sup>+</sup> POURRAIENT ÊTRE IMPLIQUÉS DANS L'HYPERTENSION INDUITE PAR L'ANGIOTENSINE II

Mahmoud A<sup>1</sup>, Caillon A<sup>1</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, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Nous avons précédemment démontré qu'une petite sous-population de cellules T considérée comme "innée", exprimant le récepteur des cellules T (RCT)  $\gamma\delta$  joue un rôle clé dans l'initiation de l'hypertension et la dysfonction endothéliale. Les cellules T  $\gamma\delta$  peuvent se classer en différents sous-types en fonction de l'expression des variantes (V) du RCT, ceux-ci possédant un tropisme naturel pour certains organes. En effet, une population résidente du poumon et de la peau, les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6, qui produisent de l'interleukine-(IL)-17A, répond rapidement aux inflammations de la peau et aux infections à pneumocoques. Cependant, les sous-types des cellules T  $\gamma\delta$  impliqués dans l'hypertension restent inconnus. Nous proposons que les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6 participent à la mise en place de l'hypertension dans un modèle de souris infusées avec l'angiotensine (Ang) II.

**Méthode :** 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 de l'aorte thoracique (AT) par cytométrie en flux.

**Résultats :** Nous avons observé dans la rate que les V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  les plus abondantes étaient les sous-types V $\gamma$ 1/2<sup>+</sup> (0.8% des cellules T CD3<sup>+</sup>) et V $\gamma$ 4<sup>+</sup> (0.7%) suivies par les V $\gamma$ 6<sup>+</sup> (0.5%), V $\gamma$ 5<sup>+</sup> (0.2%) and V $\gamma$ 7<sup>+</sup> (0.0%). Dans la GPV de l'AT, V $\gamma$ 6<sup>+</sup> (3.6%) était la V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  la plus abondante suivie de V $\gamma$ 4<sup>+</sup> (1.3%), et V $\gamma$ 1/2<sup>+</sup> (0.8%). V $\gamma$ 5<sup>+</sup> (0.7%) et V $\gamma$ 7<sup>+</sup> (0.0%). Dans la GPV des AM V $\gamma$ 6<sup>+</sup> (10.2%) était la V $\gamma$  des cellules T  $\gamma\delta$  la plus abondante suivie de V $\gamma$ 4<sup>+</sup> (4.0%), V $\gamma$ 7<sup>+</sup> (1.1%), V $\gamma$ 5<sup>+</sup> (0.6%) and V $\gamma$ 1/2<sup>+</sup> (0.4%). L'Ang II a augmenté la fréquence des cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6<sup>+</sup> 1.5 fois dans la rate et 1.6 fois dans la GPV de l'AT par rapport aux souris contrôles ( $P < 0.01$ ). La fréquence des lymphocytes T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6<sup>+</sup> mémoire produisant de l'IL-17A (caractérisés par CCR6<sup>+</sup>CXCR3<sup>-</sup>CD44<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>) était augmentée dans la rate (1.7 fois,  $P < 0.01$ ) et tendait à être plus élevée dans la GPV des AM dans les souris traitées à l'Ang II comparativement aux souris contrôles.

**Conclusion :** Les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6<sup>+</sup> sont les sous-types les plus abondants dans les GPV. Les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6<sup>+</sup> mémoire exprimant IL-17A pourraient être impliquées dans l'hypertension induite par l'Ang II. Les cellules T  $\gamma\delta$  V $\gamma$ 6 pourraient être une cible thérapeutique pour réduire l'inflammation dans l'hypertension.

# ACTIVATION DES MÉCANISMES ANTI-ANGIOGÉNIQUES DE LA THROMBOSPONDINE-1 DANS LES PLACENTAS ET CELLULES ENDOTHÉLIALES DE SOURIS HYPERTENDUES

Marc C, Achille A, Raguema N, Pepin E, Lavoie J, Bertagnolli M  
CIUSSS Nord-de-l'Île-de-Montréal, Montréal, Québec

**Introduction :** La thrombospondine-1 (Thbs1) est une glycoprotéine d'adhésion focale anti-angiogénique. Elle se lie aux récepteurs CD36, LRP1 et CD47, activant des mécanismes anti-prolifératifs et anti-migratoires. La prééclampsie (PE) est caractérisée par une mauvaise angiogenèse stimulée par les stress oxydants et du réticulum endoplasmiques (RE), contribuant à une insuffisance placentaire. Le stress du RE a également été lié aux actions anti-angiogéniques de la Thbs1. Cependant, bien que ce mécanisme soit actif dans la PE, il reste qu'il n'est pas compris. Notre objectif était de décrire le stress du RE et la régulation de la Thbs1 dans les tissus placentaires et les cellules endothéliales dans un modèle de souris génétique d'hypertension chronique et de PE superposée.

**Méthode :** Des placentas (n=8/groupe) ont été prélevés à 18,5 jours de gestation chez des souris transgéniques surexprimant la rénine et l'angiotensinogène humaine par rapport aux témoins (C57BL/6). Les cellules endothéliales CD31+ ont été isolées à partir de tissus placentaires par séparation magnétique. Les protéines de stress du RE, IRE1alpha et la calréticuline (CLR), ainsi que les expressions de la Thbs1 et ses récepteurs ont été quantifiées par Western blot dans les placentas. La localisation de la CLR et la Thbs1 dans les cellules endothéliales ont été évaluées par immunofluorescence. Les données sont présentées par moyenne  $\pm$  ET.

**Résultats :** L'expression de l'IRE1a était augmentée dans les placentas de souris hypertendues ( $54 \pm 24\%$   $P=0,05$ ) alors que celle de la CLR n'était pas différente. Cependant, dans les cellules endothéliales, la CLR était mobilisée du compartiment du RE vers la membrane dans les cellules endothéliales placentaires de grossesses hypertendues. La Thbs1 ( $122 \pm 51\%$   $P=.03$ ) et les récepteurs CD47 ( $51 \pm 21\%$   $P=.03$ ) et LRP1 ( $58 \pm 25\%$   $P=.04$ ) étaient plus exprimés dans les placentas des grossesses hypertendues par rapport aux témoins, tandis que CD36 n'était pas différent. Le traitement des cellules endothéliales des grossesses hypertendues avec un inhibiteur de la Thbs1, LSKL, a considérablement amélioré leur capacité angiogénique, permettant aux cellules de former des tubes vasculaires sur matrigel en comparaison avec les cellules non traitées.

**Conclusion :** Nos résultats décrivent le stress du RE et une augmentation de la régulation de la Thbs1 dans le tissu placentaire et les cellules endothéliales de grossesse hypertendue. Nos résultats suggèrent un rôle anti-angiogénique important du mécanisme de la Thbs1 dans les placentas de souris hypertendues.

# L'ANTAGONISTE DU RÉCEPTEUR AT1 ÉVITE LA PERTE DE LA VARIABILITÉ DE LA FRÉQUENCE CARDIAQUE CHEZ LES RATS ADULTES EXPOSÉS À UNE HYPEROXIE NÉONATALE

Poletto Bonetto JH<sup>1,2</sup>, Dartora DR<sup>1</sup>, Deprez A<sup>1</sup>, Wolf D<sup>1</sup>, Fernandes RO<sup>1</sup>, Casali KR<sup>3</sup>, Flahault A<sup>1</sup>, Sonea A<sup>1</sup>, He Y<sup>1</sup>, Flores MS<sup>2</sup>, Cloutier A<sup>1</sup>, Belló-Klein A<sup>2</sup>, Nuyt AM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche, CHU Sainte-Justine, Montréal, Québec, Canada

<sup>2</sup> Département de physiologie, Université fédérale de Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brésil.

<sup>3</sup> Institut des Sciences et Technologies, Université fédérale de São Paulo, São Paulo, Brésil.

**Introduction** : La programmation développementale des maladies cardiovasculaires chez l'adulte né prématurément implique divers systèmes, dont le système nerveux sympathique. Des rats exposés à de hauts taux d'oxygène (O<sub>2</sub>), un modèle de conditions délétères liées à la prématurité, développent une dysfonction cardiaque à long terme, en partie médiée par le système rénine-angiotensine. Cette étude vise à déterminer si l'exposition néonatale à des taux élevés d'O<sub>2</sub> affecte la modulation cardiaque autonome et si ces effets peuvent être modulés par le blocage précoce du récepteur AT1 de l'angiotensine II.

**Méthode** : Les rats Sprague-Dawley ont été exposés à 80% d'O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub>) ou à l'air ambiant (contrôles) du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour de vie. L'antagoniste du récepteur AT1 (Losartan) ou le véhicule H<sub>2</sub>O ont été administrés par gavage du 8<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour. À l'âge adulte (15-16 sem.), la tension artérielle (TA) et la fréquence cardiaque (FC) sont enregistrées par télémétrie deux fois par 24h (jour/nuit). Les paramètres de variabilité de la FC sont évalués par analyse spectrale chez des rats âgés de 16-17 semaines. Le ventricule gauche (VG) a été prélevé afin d'évaluer la signalisation adrénergique (*immunobuvardage*) et l'innervation sympathique (*immunofluorescence*).

**Résultats** : On observe chez le groupe O<sub>2</sub> une diminution de la variabilité de la FC (52%) et une augmentation de l'équilibre sympathovagal (130%), empêchés par le traitement au Losartan. Les animaux O<sub>2</sub> avaient une expression plus élevée du récepteur β1-adrénergique au VG (80%). La TA n'était pas différente entre les groupes, mais l'exposition élevée à l'O<sub>2</sub> a entraîné une perte de variation jour/nuit ( $\Delta O_2 = 2,88$  mmHg;  $\Delta$ contrôles = 5,16 mmHg).

**Conclusion** : L'exposition néonatale à de hauts taux d'O<sub>2</sub> affecte la variabilité de la FC et l'équilibre sympathovagal, conduit à un remodelage adrénergique et à une perte de variation de la TA jour/nuit. Le traitement néonatal au Losartan a empêché les changements de variabilité de la FC, suggérant un rôle du système rénine-angiotensine dans le dysfonctionnement nerveux autonome associé à des conditions néonatales délétères.

# LE KNOCK-OUT DU RÉCEPTEUR P2X7 CHEZ LA SOURIS RÉDUIT L'HYPERTENSION ET LES DOMMAGES VASCULAIRES INDUITS PAR L'ANGIOTENSINE II

Shokoples B<sup>1</sup>, Paradis P<sup>1</sup> and 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, Montréal, QC, Canada.

**Introduction :** Le système immunitaire joue un rôle dans le développement de l'hypertension et les dommages aux organes cibles, mais les mécanismes d'activation et de maintien de la réponse immunitaire demeurent inconnus. Des niveaux plasmatiques élevés d'adénosine triphosphate (ATP) observés chez des patients hypertendus pourraient induire l'activation du système immunitaire via l'activation des récepteurs P2X7 (P2RX7). Des antagonistes de P2RX7 ont réduit la tension artérielle (TA) chez des rats Dahl sensibles au sel nourris avec une diète riche en sel. Le knock-out de *P2rx7* a prévenu l'élévation de la TA et des dommages rénaux causés par un traitement avec désoxycorticostérone et sel. Cependant, il est inconnu si P2RX7 joue un rôle dans l'élévation de la TA et des dommages vasculaires induits par l'angiotensine (Ang) II. Nous proposons que l'élévation de la TA et les dommages vasculaires induits par l'Ang II seront réduits chez les souris *P2rx7*<sup>-/-</sup>.

**Méthode :** 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 télémétrie, la rigidité de l'aorte par ultrasons, la fonction endothéliale et le remodelage vasculaire des petites artères mésentériques par myographie pressurisée et le profil d'expression de P2RX7 dans les cellules immunitaires dans la rate et la moelle osseuse par cytométrie en flux. La sécrétion d'IL-1 $\beta$  à partir de macrophages (M $\Phi$ ) ou de cellules dendritiques (CD) dérivées de moelle osseuse de souris WT et *P2rx7*<sup>-/-</sup> a été évaluée par ÉLISA.

**Résultats :** Le knock-out de *P2rx7* a prévenu l'induction de la sécrétion d'IL-1 $\beta$  dans les M $\Phi$  et les CD induites par stimulation avec des lipopolysaccharides (LPS) et de l'ATP. L'Ang II a accru l'expression de P2RX7 dans les CD, les M $\Phi$ , les neutrophiles, et les cellules T et B dans la rate ou la moelle osseuse ( $P < 0.05$ ). L'élévation de la TA systolique et de la TA pulsée étaient réduites chez les souris *P2rx7*<sup>-/-</sup> ( $P < 0.05$ ) par rapport aux souris WT. Le knock-out de *P2rx7* a prévenu l'accroissement de la rigidité de l'aorte, et réduit l'induction de la dysfonction endothéliale et du remodelage hypertrophique des artères mésentériques causés par l'Ang II ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion :** Les résultats suggèrent que P2RX7 joue un rôle dans l'hypertension et les dommages vasculaires induits par l'Ang II. P2RX7 pourrait présenter une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement de l'hypertension.

## PRÉVENIR LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES EN CIBLANT PRÉCOCEMENT LE RÉSEAU LYMPHATIQUE VIA LE RÉCEPTEUR AU LDL

Vachon L<sup>1,3</sup>, Smaani A<sup>1,3</sup>, Tessier N<sup>1,3</sup>, Milasan A<sup>1,3</sup>, Ardo N<sup>2,3</sup>, Jarry S<sup>1,3</sup>, Mayer G<sup>2,3</sup> et Martel C<sup>1,3</sup>

1. Faculté de Médecine, UdeM, Montréal, QC, Canada
2. Faculté de Pharmacie, UdeM, Montréal, QC, Canada
3. Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, QC, Canada

**Introduction :** Un mauvais transport lymphatique est associé à l'apparition et à l'évolution de l'athérosclérose dans les modèles animaux. L'absence du récepteur aux lipoprotéines de basse densité (LDLR) semble un facteur déterminant dans l'instigation de la dysfonction lymphatique associée à l'athérosclérose. L'équipe du Dre Catherine Martel a démontré qu'une amélioration précoce de la fonction lymphatique avec le VEGF-C152s chez les jeunes souris LDLR<sup>-/-</sup> permet de retarder l'apparition de la plaque athérosclérotique et de la stabiliser, chez les souris ensuite soumises à une diète riche en gras. Notre objectif est de mieux comprendre les mécanismes par lesquels la diminution du LDLR pourrait altérer la fonction lymphatique.

**Méthode :** Nous avons diminué l'expression du LDLR dans des cellules endothéliales lymphatiques (CEL) *in vivo* chez des souris WT et PCSK9<sup>-/-</sup> de 12 semaines à l'aide d'un AAV 1 exprimant un siLDLR, puis mesuré la fonction lymphatique systémique. Afin de déterminer si et comment la fonction lymphatique pourrait être potentialisée, des CEL d'origine humaine ont été incubées avec du PCSK9 exogène ou un siARN ciblant spécifiquement l'expression du LDLR.

**Résultats :** *In vivo*, nous avons pu observer qu'une diminution de l'expression du LDLR de 50% chez les CEL altérait la capacité contractile des vaisseaux lymphatiques chez les souris WT mâles, alors qu'aucun effet n'était apparent chez les souris PCSK9<sup>-/-</sup>. *In vitro*, les CEL d'origine humaine n'expriment ni ne sécrètent le PCSK9 et peuvent lier le LDL. Alors que les traitements *in vitro* au siLDLR et au PCSK9 exogène permettent de diminuer l'expression de la protéine LDLR, seul le traitement au siLDLR permet de moduler l'expression de marqueur lymphatique membranaire. Une analyse lipidomique a révélé que le traitement au siLDLR entraînait une diminution de 18 sous-classes de lipides parmi lesquels certains sont des constituants des radeaux lipidiques, expliquant potentiellement pourquoi la modulation du LDLR affecte l'expression des marqueurs lymphatiques et leurs fonctions subséquentes.

**Conclusion :** En conclusion, cibler une diminution de l'ARNm du LDLR dans les CEL pourrait permettre le maintien de l'intégrité de l'endothélium lymphatique et conséquemment limiter l'apparition de maladies (cardio)vasculaires.

# LES FEMELLES SONT PROTÉGÉES D'UN DÉCOUPLAGE NEUROVASCULAIRE INDUIT PAR L'INTERLEUKINE-17.

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 :** Les différences sexuelles et le statut ménopausique influencent fortement l'apparition et la progression de maladies cardiovasculaires (MCV) et neurologiques. Toutes deux ont été associées à un déséquilibre entre les cellules immunitaires pro et anti-inflammatoires en faveur d'une plus grande production de cytokines pro-inflammatoires. De façon plus spécifique, l'interleukine-17 (IL17-A) a été associée à une augmentation du risque cardiovasculaire. D'une part, nos données préliminaires ont montré que l'IL-17A induisait une altération du couplage neurovasculaire (CNV), soit 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. D'autre part, il a été démontré que les femelles possèdent une protection contre les altérations cérébrovasculaires induites par l'angiotensine II et que cette protection était associée à un taux d'estradiol plus élevé. De fait, la baisse d'estradiol observée pendant la ménopause est associée à des risques accrus de MCV et d'accident vasculaire cérébral. Ainsi, notre hypothèse stipule que les estradiols protégeraient les femelles contre l'altération du CNV induit par l'IL-17A.

**Méthode :** Dans le cadre de cette étude, une implantation sous-cutanée d'une pompe osmotique libérant de l'IL-17A recombinant pendant 7 jours ainsi qu'une ovariectomie (OVX) permettant d'imiter la baisse en estradiol observée après la ménopause ont été effectuées. Le débit sanguin cérébral a ensuite été mesuré par débitmétrie laser Doppler suite à une stimulation des vibrisses chez des souris C57BL/6J mâles, des femelles non-OVX, des femelles OVX et des femelles OVX recevant de l'estradiol-17 $\beta$ .

**Résultats :** L'administration d'IL-17A altère le CNV chez les souris mâles contrairement aux femelles non-OVX ( $p < 0.01$ ). Toutefois, cette protection a été éliminée par l'OVX ( $p < 0.001$ ) et rétablie par un traitement à l'estradiol chez les souris OVX ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que les femelles sont protégées des effets délétères de l'IL-17A sur le CNV, et ce, grâce à leur taux d'estradiol plus élevé. Ainsi, un traitement à l'estradiol pourrait prévenir les dysfonctions cérébrovasculaires induites par l'IL-17A et diminuer l'incidence des maladies neurodégénératives associées à l'hypertension artérielle.