

In conclusion, reduction of IH effects with Tempol suggest that IH induced cardiac infarction aggravation involves free radical pathway rather than metabolic or angiogenic modifications.

F013

INHIBITION DE L'OUVERTURE DU PORE DE TRANSITION DE PERMÉABILITÉ MITOCHONDRIAL ET PROTECTION CELLULAIRE DANS L'ARRÊT CARDIO-CIRCULATOIRE

M. COUR^{1,2}, J. LOUFOUAT¹, M. PALLIARD¹, L. GOMEZ¹, A. GHARIB¹, M. OVIZE¹, L. ARGAUD^{1,2}

¹ Inserm U886, Cardioprotection, Lyon, France

² Service de Réanimation Médicale, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Lyon, France

Introduction – L'arrêt cardio-circulatoire (ACC) réanimé est une modalité d'ischémie reperfusion (I/R) globale. L'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondrial (mPTP), inhibé par la ciclosporine A (CsA), est un événement majeur à l'origine des lésions cellulaires (nécrose et apoptose) et de la dysfonction cardio-circulatoire secondaires à l'I/R. Le but de l'étude a été de vérifier que l'inhibition pharmacologique du mPTP concomitante de la réanimation cardio pulmonaire (RCP) pouvait limiter in vivo les lésions cellulaires et leurs conséquences fonctionnelles.

Matériels et Méthodes – Des lapins NZW ont été soumis à 15 min d'ACC hypoxique suivi d'une RCP (massage cardiaque et adrénaline) et de 120 min de reperfusion. Trois groupes ont été étudiés (ACC sans autre intervention, CsA 5mg/kg administrée au début de la RCP, sham) dans deux protocoles expérimentaux (n = 7-12/groupe) : (1) hémodynamique invasive (incluant sonomicrométrie, débit aortique et dP/dt) et mesure de la taille d'infarctus myocardique (triphényltétrazolium), (2) dosage de troponine Ic et mitochondries isolées avec mesure fluorimétrique de la capacité de rétention calcique (CRC) et oxygraphie.

Résultats – Le succès de la RCP et la survie étaient améliorés de façon significative dans le groupe CsA avec des doses d'adrénaline plus faibles que dans le groupe ACC (p < 0,05). L'ensemble des paramètres hémodynamiques altérés par l'ACC était significativement amélioré par la CsA (p < 0,05 vs ACC). L'aire myocardique nécrosée était moindre dans le groupe CsA vs ACC (p < 0,05). La CRC, significativement diminuée dans le groupe ACC (p < 0,01), était restaurée par la CsA (p = ns vs sham). Comparativement au groupe sham, la consommation maximale d'oxygène (état 3) était significativement diminuée dans le groupe ACC et restaurée par la CsA. L'augmentation significative de la troponine Ic observée dans le groupe ACC comparativement aux animaux sham était limitée par la CsA (p < 0,05 vs ACC).

Conclusion – Ces résultats montrent que l'inhibition pharmacologique in vivo du mPTP par la CsA, administrée au début de la RCP de l'ACC, limite (1) les dysfonctions mitochondriales, (2) les lésions myocardiques irréversibles, (3) la défaillance cardio-circulatoire.

F014

LA BASSE PRESSION DE REPERFUSION ET LA CYCLOSPORINE A PROTÈGENT LE COEUR ISCHÉMIQUE MÊME APRÈS LE DÉBUT DE LA REPERFUSION

S. BENHABBOUCHE¹, B. LI¹, M. OVIZE¹, R. FERRERA¹

¹ Inserm U 886, Lyon, France

Objectif – Le but du présent travail a été de tester l'efficacité de la BP de reperfusion après un décalage de son application au moment de la reperfusion.

Méthodes – Des cœurs de rat isolés subissent une ischémie (I) globale de 40 minutes suivie de 60 minutes de reperfusion (R). Trois méthodes de cardioprotection sont randomisées à la reperfusion. Les cœurs subissent une manœuvre de post-conditionnement, consistant en 2 séquences de 30 sec de R suivies de 30 sec d'I (Groupe POST-C), ou une manœuvre de R à basse pression (Groupe BP), ou encore un inhibiteur du pore de transition de perméabilité mitochondriale, MPTP, (la ciclosporine A à 250µm) est rajouté dans le milieu de perfusion (Groupe Cyclo). Ces 3 méthodes de cardioprotection (POST-C, BP et Cyclo A) sont appliquées soit à l'initiation, soit après un décalage de 10 minutes après le début de la reperfusion.

La nécrose myocardique est ensuite évaluée de 2 façons : par la mesure des LDH libérées dans les effluents coronaires et par l'analyse histologique au TTC.

Résultats – Comme attendu, la cardioprotection réalisée à l'initiation de la reperfusion est similaire dans les 3 groupes (fonction post-ischémique améliorée, moindre nécrose). Toutefois, le PostC perd son efficacité cardioprotectrice s'il est appliqué après un délai de 10 min après l'initiation de la reperfusion. De façon surprenante, les groupes BP et Cyclo, dans les mêmes conditions de décalage temporel, ne perdent pas leur efficacité anti-nécrotique. Ainsi, le niveau de LDH libérées ainsi que la zone infarctée sont significativement plus basses dans les groupes BP et Cyclo décalés que dans le groupe POST décalé (p < 0,01, quelque soit le paramètre considéré).

Conclusion – La BP, mise au point dans notre laboratoire, semble être une méthode de choix permettant de protéger le cœur ischémique, soit à l'initiation de la reperfusion (comme le PostC) ou plus tardivement, après un décalage temporel de 10 min. L'ajout décalé de ciclosporine à la reperfusion induit le même effet cardioprotecteur, ce qui suggère l'implication du MPTP.

F015

ROLE DES FIBROBLASTES CARDIAQUES DANS LA TOLÉRANCE DES CARDIOMYOCYTES À L'ISCHÉMIE REPERFUSION

N. CHERIAA¹, F. IVANES¹, D. ANGOULVANT¹, M. OVIZE¹, R. FERRERA¹

¹ Inserm U 886, Lyon, France

Objectif – Les fibroblastes cardiaques sont la population cellulaire majoritaire du tissu cardiaque. Leurs possibles implications au cours de la séquence ischémie-reperfusion n'a jamais été étudiée. Le présent travail a donc pour but de déterminer si les fibroblastes sont impliqués dans une modulation de la cardioprotection.

Matériel et Méthodes – Nous avons utilisé dans cette étude un modèle de cardiomyocytes de rats nouveau-nés soumis à une séquence d'ischémie-reperfusion simulées. Les cellules ont été isolées à partir de ventricules de rats nouveau nés. Les myocytes cardiaques ont été purifiés par attachements différentiels puis cultivés en présence d'un milieu de culture supplémenté en cytosine arabinoside (Ara C, 10 µm). Les cardiomyocytes et les fibroblastes ont été cultivés séparément puis placés en contact direct (cultures mixtes) ou indirect (insert). Ces co-cultures ont subi une ischémie de 3H en absence de nutriments et d'O₂ suivie d'une reperfusion de 20H en présence de nutriments et d'O₂. Des tests de viabilité (test MTT) et de mortalité cellulaire (dosage de l'activité LDH et Troponine I) ont été effectués à la fin de la reperfusion.

Résultats – Nous avons montré qu'il était possible de simuler des séquences d'ischémie reperfusion et d'induire une souffrance cellulaire détectable pour une durée d'ischémie de 3H et de reperfusion de 20H. Dans les cultures mixtes (cardiomyocytes + fibroblastes), les tests MTT et LDH ont montré une amélioration de la viabilité cellulaire globale en comparaison avec la viabilité spécifique de chaque type cellulaire seul. Pour les cultures placées en insert, les tests MTT et Troponine I ont montré une amélioration de la viabilité des cardiomyocytes en présence des fibroblastes ($p < 0.001$).

Conclusions – Nos résultats indiquent que les fibroblastes cardiaques semblent être impliqués dans une modulation de la cardioprotection lors de l'ischémie reperfusion. Cette modulation passe au moins en partie par des mécanismes de type paracrine et elle est dépendante de la quantité de fibroblastes en co-culture avec les cardiomyocytes.

F016

ANGIOPOIETIN-LIKE 4 PROTECTS TISSUES FOLLOWING MYOCARDIAL INFARCTION THROUGH MODULATION OF POST-ISCHAEMIC NEOVASCULARIZATION AND INFLAMMATION

A. GALAUP¹, R. SOUKTANI², E. GOMEZ¹, A. CAZES¹, R. ASSALY², J. PHILIPPE¹, M. DURAND¹, B. GHALEH², A. BERDEAUX², S. GERMAIN^{1,3}

¹ Inserm U833 – Collège de France, Paris, France

² Inserm U841, Créteil, France

³ Service d'Hématologie Biologique A, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France

Background – Angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) is a secreted protein of the Angiopoietins family involved in angiogenesis and vessel maintenance. We identified *angptl4* as a hypoxia induced gene in endothelial cells in vitro. In humans, ANGPTL4 is expressed in hypoxic areas such as vascular cells of human critical leg ischemia samples. In the heart, focal expression in myocytes, vessels and infiltrating monocytes was also evidenced in infarcted areas.

Material & Methods – We used C57/Bl6 *angptl4* knock-out mice (Regeneron pharmaceuticals, Tarrytown). The pattern of expression of *angptl4* was determined during development using Lac Z staining allowed by the insertion of a beta-galactosidase cassette. At the adult stage, myocardial infarction was induced by ligation of the left coronary artery for 45mn. The hearts were analyzed 24h, 48h and 2 weeks after reperfusion.

Results – During embryonic development, *angptl4* is expressed in endothelial cells from intersomitic, limb bud (E10,5-E11,5) and heart vessels (E12,5-E14,5). At later stages (from E15,5), *angptl4* is also expressed in skin vessels.

Angptl4 knock-out mice showed an increased infarcted area compared to wild type littermates mice (+31%, $p=0.01$) 48h after reperfusion, suggesting a cardioprotective role of ANGPTL4. Immunohistological analyzes revealed dramatic tissue damages in the *angptl4* knock-out mice in term of oedema, hemorrhages and necrosis correlated with an increased circulating monocytes infiltration (+36%, $p=0.004$). PECAM-1 stainings revealed morphologically modified angiogenic capillaries in *angptl4*KO mice compared to controls suggesting a modulated vascular permeability. No difference was observed between isolated cardiomyocytes from both groups submitted to a survival assay under hypoxia.

Conclusion – *Angptl4* is expressed by endothelial cells during embryonic and during adult stage following hypoxic stress. Experiments performed using the ischemia-reperfusion model show that ANGPTL4 has a cardioprotective role modulating both endothelium integrity and post-ischaemic inflammation.

F017

EFFET PROTECTEUR DU POST-CONDITIONNEMENT SUR LES EFFETS DÉLÉTÈRES MITOCHONDRIAUX DE L'ISCHÉMIE-REPERFUSION DU MUSCLE SQUELETTIQUE

A.-S. GUILBERT¹, A.-L. LANG¹, Z. MANSOUR¹, J. BOUITBIR¹, P. DI MARCO¹, J. ZOLL¹, F. PIQUARD¹, B. GENY¹

¹ Institut de Physiologie, Strasbourg, France

Le postconditionnement est défini par la succession de cycles d'occlusion et de reperfusion d'un vaisseau dans les premiers instants de la reperfusion, faisant suite à une ischémie prolongée. Il permet de diminuer la taille de l'infarctus et protège la fonction des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les études ont été menées jusqu'à présent sur le myocarde et objectivent des résultats encourageant. Notre objectif est d'évaluer l'effet protecteur du postconditionnement sur les capacités oxydatives mitochondriales du muscle squelettique.

40 rats Wistar ont été utilisés pour l'étude, répartis en 4 groupes : un groupe shams (C) ($n = 14$), un groupe subissant 2 heures d'ischémie et 2 heures de reperfusion (I2HR) ($n = 6$), un groupe subissant 3 heures d'ischémie et 2 heures de reperfusion (I3HR) ($n = 11$), et un groupe postconditionnement (PostC) ($n = 9$). Nous avons mis au point un modèle d'ischémie-reperfusion par clampage aortique sous-rénal chez le rat Wistar, plus proche de la réalité clinique chez l'homme. Nous avons établi qu'il était nécessaire de réaliser 3 heures d'ischémie et 2 heures de reperfusion pour obtenir des lésions mitochondriales significatives sur le muscle gastrocnémien (diminution de 27% des capacités oxydatives maximales entre le groupe C et I3HR). Le muscle soléaire oxydatif n'est pas touché.

Pour notre protocole de postconditionnement nous avons réalisé des cycles 1, 2 et 4 minutes de déclamage, suivis à chaque fois de 5 minutes de réocclusion aortique.

On note une augmentation dans le muscle glycolytique des capacités maximales d'oxydation dans le groupe PostC par rapport au groupe I3HR ($5,9 \pm 0,3$ versus $4,76 \pm 0,5$ µmol/min/g de poids sec, $p = 0,07$), ce qui correspond à 25% d'augmentation. Il n'y a pas de différence entre le groupe shams et postconditionnement. Des résultats similaires sont observés au niveau du complexe II. Ainsi nous avons démontré que le postconditionnement joue un effet protecteur sur la chaîne respiratoire mitochondriale, au niveau des complexes I et II, dans le muscle gastrocnémien glycolytique