



1^{ÈRE} JOURNÉE DE SCIENTIFIQUE DE L'AXE PHARMACOLOGIE ET TOXICOLOGIE

Vendredi, 28 octobre 2016
Institut Armand-Frappier, Salle Pasteur

PROGRAMME

9:25 – 9:30 **Mot de bienvenue**
Prof. Jacques Bernier, *Chef de l'axe*

Oral session I (Toxicologie)

(Modératrice: Prof. Cathy Vaillancourt)

9:30 – 9:45 **Fabien Joao** (MSc, Labo. Delbes)
*DÉVELOPPEMENT D'UNE LIGNÉE CELLULAIRE DE GONOCYTES DE RAT POUR
L'ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX*

9:45 – 10:00 **Maxime Murphy-Marion** (MSc. Labo. Girard)
*LES NANOPARTICULES DE DIOXIDE DE TITANE INDUISENT L'ADHÉSION CELLULAIRE
DES ÉOSINOPHILES HUMAINS VIA L'ACTIVATION DE LA VOIE SIGNALÉTIQUE PI3K/AKT*

10:00 – 10:15 **Cécile Adam** (PhD, Labo. Cyr)
*ROLE DES ANDROGENES DANS LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES Cx26 ET Cx32
DANS L'ÉPIDIDYME*

10:15 – 10:30 **Pause santé**

(Modératrice: Prof. Isabelle Plante)

10:30 – 10:45 **Joey St-Pierre** (PhD, Labo. Vaillancourt)
*LE STRESS PRÉNATAL MATERNEL D'UNE CATASTROPHE NATURELLE RÉDUIT LE
NIVEAU D'ARNm DE GR-β PLACENTAIRE*

10:45 – 11:00 **Guillaume Ricaud** (PhD, Labo. Bernier)
*RÔLE DU RÉCEPTEUR AUX HYDROCARBURES AROMATIQUES DANS LE CONTRÔLE DE
LA RÉPONSE IMMUNITAIRE*

11:00 – 11:15 **Melanie Busby** (PhD, Labo. Plante)
LE RÔLE DE CX43 DÉPEND DU SOUS-TYPE DE CANCER DU SEIN

11:15 – 12:00 **Prof. Steven Laplante**
TOXICOLOGY IN PHARMA - FROM MY PERSPECTIVE

12:00 – 13:00 **Lunch/Poster**

13:00 – 14:25

Oral session II (Pharmacologie)

(Modérateur: Prof. Stéphane Lefrancois)

14:30 – 14:45 **Ghislain D Paka** (PhD, Labo. Ramassamy)
*SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉTUDE DE L'EFFET NEUROPROTECTEUR D'UN
SYSTÈME NANOPARTICULAIRE DE TYPE PLGA*

14:45 – 15:00 **Mathilde Poujol de Moliens** (PhD, Labo. Chatenet/Fournier)
*DÉVELOPPEMENT DE MODULATEURS ALLOSTÉRIQUES INTRACELLULAIRE DU
RÉCEPTEUR PAC1*

15:00 – 15:15 **Etiene Sauvageau** (Postdoc, Labo. Lefrancois)
DÉTECTION IN VIVO DU RECRUTEMENT ET DE L'ACTIVATION D'AP-1 PAR ARFI

15:15 – 15:30 **Pause santé**

(Modérateur: Prof. Charles Gauthier)

15:30 – 15:45 **Morgane Perotte** (PhD, Labo Ramassamy)

*L'ÉVOLUTION D'UNE COMBINAISON DE MARQUEURS PLASMATIQUES LIÉS AU STRESS
OXYDATIF EST ASSOCIÉE À L'ALTÉRATION COGNITIVE DANS LA MALADIE
D'ALZHEIMER*

15:45 – 16:00 **Olga Skorobogata** (Postdoc, Labo. Lefrancois)

LE RÔLE DE LA PHOSPHORYLATION SUR LES FONCTIONS DE RAB7

16:00 – 16:45 **Prof. Yves St-Pierre**

DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX INHIBITEURS CONTRE LES GALECTINES

16:45 – 17:00 **Remise des prix d'excellence**

Mot de la fin

PRÉSENTATIONS PAR AFFICHE

- 1. Anne Weber-Ouellette** (MSc, Labo. Plante)
DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE DE CO-CULTURE TRIDIMENSIONNEL D'UN ACINI BICOUCHE DE GLANDE MAMMAIRE EN UTILISANT LES LIGNÉES CELLULAIRES MCF-12A ET HS 578BST
- 2. Daphnée Gariépy** (MSc, Labo. Cyr)
RÉGULATION DU DIMORPHISME SEXUEL DE L'EXPRESSION DES CONNEXINES 32 ET 26 DANS LE FOIE
- 3. Amélie Tremblay** (MSc, Labo. Delbes)
PROTECTION DES CELLULES DE SERTOLI ET DES SPERMATOGONIES IMMATURES CONTRE LA CYTOTOXICITÉ DE LA DOXORUBICINE
- 4. Merve Kulbay** (MSc, Labo. Bernier)
RÉPONSE AUX DROGUES DE CHIMIOTHÉRAPIES EN FONCTION DE L'EXPRESSION DU DFF40
- 5. Iona Gdovinova-Lamy** (MSc, Labo. Bernier)
CARACTÉRISATION DES RÉSEAUX DE CELLULES ET DE CYTOKINES AUX NIVEAUX DES PLAIES DE GRANDS BRULÉS
- 6. Laura Lee-Gosselin** (MSc, Labo. Chatenet)
L'ACIDE AMINÉ PHE-6 JOUE UN RÔLE SIGNIFICATIF DANS L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DU PACAP, UN PEPTIDE NEUROPROTECTEUR
- 7. Bruno Johnson** (PhD, Labo. Bernier)
LOCALISATION MITOCHONDRIALE DU FACTEUR DE FRAGMENTATION DE L'APOPTOSE (DFF40/CAD)
- 8. Elham Dianati** (PhD, Labo. Plante)
UNE EXPOSITION À UN MÉLANGE DE RETARDATEURS DE FLAMMES BROMÉS (RFB) INHIBE L'INTERACTION ENTRE P-B-CATENIN SER675 ET E-CADHÉRINE DANS LES GLANDES MAMMAIRES DE RATS
- 9. Hélène Clabault** (PhD, Labo. Sanderson)
EFFETS DES INHIBITEURS SÉLECTIFS DE RECAPTURE DE LA SÉROTONINE (ISRS) SUR LA MIGRATION ET L'INVASION DE LA LIGNÉE DE TROPHOBLASTES EXTRAVILLEUX, LES JEG-3
- 10. Arlette Rwigemera** (PhD, Labo. Delbes)
ÉTABLISSEMENT D'UN MODELE D'ETUDE DE LA REPROGRAMMATION EPIGENETIQUE DANS LES CELLULES GERMINALES FETALES DU RAT MÂLE

- 11. Hermance Beaud** (PhD, Labo. Delbes)
RÉPARATION DE L'ADN DES SPERMATOGONIES APRÈS EXPOSITION À LA DOXORUBICINE SEULE OU EN MIXTURE AVEC LA VINCRISTINE
- 12. Raheleh Aram** (PhD, Labo. Cyr)
DETERMINER LE ROLE DE DEUX DEFENSINES SUR LA MATURATION DES SPERMATOZOÏDES HUMAINS
- 13. Laurie Pinel** (PhD, Labo. Cyr)
EXPRESSION DES CONNEXINES DANS L'EPIDIDYME ET LEURS ROLES DANS LA DIFFERENTIATION DES CELLULES BASALES
- 14. Bintou Gaye** (PhD, Labo. Delbes)
EFFET D'UNE EXPOSITION IN-UTERO AUX ŒSTROGÈNES SUR L'EXPRESSION DES GÈNES DANS LES CELLULES GERMINALES MÂLES
- 15. Loïze Maréchal** (PhD, Labo. Cyr)
P63 DANS LES CELLULES BASALES EPIDIDYMAIRES, DES CELLULES PROGENITRICES?
- 16. Andrée-Anne Hudon Thibeault** (PhD, Labo. Vaillancourt)
EFFETS DE LA SÉROTONINE ET DES INHIBITEURS SÉLECTIFS DE LA RECAPTURE DE LA SÉROTONINE (ISRS) SUR L'AROMATASE (CYP19) PLACENTAIRE
- 17. Lucas Sagrillo-Fagundes** (PhD, Labo. Vaillancourt)
ROLE DE LA MELATONINE DANS LA REGULATION DE L'AUTOPHAGIE, INFLAMMATION ET ER-STRESS DANS LES TROPHOBLASTES : IMPLICATION DANS UN MODELE DE TUMORAL TROPHOBLASTIQUE COMPLIQUE PAR UNE HYPOXIE-REOXYGENATION
- 18. Mustapha Iddir** (PhD, Labo. Chatenet)
IMPLICATION DE L'OLIGOMÉRISATION DU RÉCEPTEUR UT DANS LA SÉLECTIVITÉ FONCTIONNELLE DE L'UROTENSINE II ET DE L'UROTENSIN II-RELATED PEPTIDE
- 19. Etienne Billard** (PhD, Labo. Chatenet)
MISE EN LUMIÈRE DU MÉCHANISME D'ACTIVATION DU RECEPTEUR UT
- 20. Ahlem Zaghmi** (PhD, Labo. Ramassamy)
LES BIO-CONJUGUES POUR LE TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

Résumés

DÉVELOPPEMENT D'UNE LIGNÉE CELLULAIRE DE GONOCYTES DE RAT POUR L'ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX

Fabien Joao et Géraldine Delbès

INRS – Institut Armand Frappier, Laval, Québec

Les gonocytes, précurseurs fœtaux de toute la lignée germinale, sont sensibles aux perturbateurs endocriniens. Pour créer un modèle d'étude permettant de tester les mécanismes de dérégulation directement dans les gonocytes, nous proposons d'établir une lignée cellulaire de gonocytes fœtaux. Les gonocytes en prolifération sont obtenus par FACS à partir de testicules de rats exprimant la GFP exclusivement dans les cellules germinales explantés aux jours de gestation G15 et G16. A ces deux stades, nous avons testé les conditions de culture primaire dans différents milieux, et sur différents supports. Explantés à G15, les gonocytes perdent rapidement leur morphologie et leur fluorescence. Cependant, les gonocytes obtenus à G16 se maintiennent sur la laminine, dans un milieu MEM α additionné de bFGF et SCF avec un taux de prolifération de $23.15\% \pm 3.19$ (n = 5), mesuré par incorporation de BrdU à 24h de culture. Après transfection avec un vecteur d'immortalisation contenant l'antigène large T SV40-mCherry, nous avons obtenu deux lignées de cellules immortalisées, positives pour la mCherry mais étonnement négatives pour la GFP. Ces dernières forment un tapis de cellules adhérentes de type épithélial. Des tests par immunofluorescence montrent que ces cellules expriment l'HSP90 mais pas l'AMH. Afin de mieux caractériser ces cellules, nous testerons l'expression de marqueurs des cellules germinales (Gfra1, Oct-4, Plzf, Ret et Nanog) et somatiques (Amh, Sox9, 3 β hsd et α -sma) par immunofluorescence et RT-qPCR. Ces lignées ont le potentiel de constituer un bon modèle pour évaluer les effets directs des xénobiotiques sur les gonocytes fœtaux.

LES NANOPARTICULES DE DIOXIDE DE TITANE INDUISENT L'ADHÉSION CELLULAIRE DES ÉOSINOPHILES HUMAINS VIA L'ACTIVATION DE LA VOIE SIGNALÉTIQUE PI3K/AKT

Murphy-Marion M, Girard D. INRS-Institut Armand-Frappier

L'utilisation de nanoparticules (NPs) pour développer de nouvelles stratégies thérapeutiques dans une variété de maladies est en pleine croissance. Cependant, certaines possèdent des effets indésirables, y compris des activités pro-inflammatoires. Malgré le fait que plusieurs études ont rapporté que les NPs peuvent induire ou aggraver une inflammation éosinophilique in vivo chez les rongeurs, il y a un manque flagrant d'informations concernant l'interaction directe entre les NPs et les éosinophiles (ÉOs) humains. Ici, nous testons la possibilité que les NPs puissent modifier la capacité des ÉOs humains à adhérer sur un substrat cellulaire, les cellules endothéliales EA.hy926. L'utilisation d'un panel de NPs, nous a permis de constater que plusieurs d'entre elles pouvaient augmenter l'adhésion des ÉOs. Le TiO₂ s'est avéré la plus puissante de toutes les NPs testées. Toutefois, le TiO₂ n'a pas modifié l'expression de plusieurs molécules d'adhésion cellulaire à la surface des ÉOs. Par contre, TiO₂ active la protéine Akt, une cible importante de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K), mais n'activait pas les protéines Erk-1/2. Cependant, les ÉOs traités avec la cytokine GM-CSF active à la fois Akt et Erk-1/2. En utilisant une approche pharmacologique avec l'inhibiteur PI3K/Akt, wortmannine, la capacité du TiO₂ à activer Akt était considérablement inhibée et leur capacité à augmenter l'adhésion des ÉOs

a été renversée. Cette étude permet de mieux comprendre les effets des NPs sur la biologie des Éos humains indiquant que d'autres agents peuvent induire des événements intracellulaires associés à une fonction cellulaire, l'adhésion.

ROLE DES ANDROGENES DANS LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES Cx26 ET Cx32 DANS L'ÉPIDIDYME

Cécile Adam et Daniel G. Cyr. Laboratoire de toxicologie de la reproduction, INRS-Institut Armand Frappier, Laval

Les Connexines (Cxs) composent les jonctions lacunaires permettant aux cellules de communiquer. Lors de la différenciation post-natale de l'épididyme, on assiste à une baisse de l'expression de Cx26 et une augmentation de Cx32. Ce changement d'expression des Cxs a déjà été observé dans différents tissus mais les mécanismes qui le régulent sont encore inconnus. Il est bien établi que les androgènes sont impliqués dans la régulation du développement de l'épididyme. L'objectif de cette étude est d'identifier l'interaction entre Cx26 et Cx32 et le rôle des androgènes dans la régulation des Cxs dans l'épididyme. Afin de déterminer si la baisse de Cx26 est nécessaire à l'augmentation de Cx32, les cellules RCE ont été transfectées avec un siRNA contre Cx26. Bien que l'expression de Cx26 a diminué de 60%, aucun effet n'a été observé sur l'expression de Cx32. Afin de comprendre le rôle des androgènes dans la régulation des deux Cxs, des rats ont été opérés fictivement, castrés ou castrés et traités avec de la testostérone. Les résultats montrent une augmentation de Cx26 avec la castration et une diminution avec le traitement à la testostérone. A l'inverse, l'expression de Cx32 diminue chez les rats castrés et augmente avec la testostérone dans l'épididyme et la prostate. Des données préliminaires sur les cellules de prostate LNCaP indiquent que la dihydrotestostérone diminue les niveaux d'ARNm de Cx26 et augmentent ceux de Cx32. L'étude des promoteurs des Cx26 et Cx32 indique la présence de sites potentiels de liaison du récepteur aux androgènes. Ces résultats suggèrent que le changement d'expression des Cxs est régulé par les androgènes dans l'épididyme. Soutenu par CRSNG.

LE STRESS PRÉNATAL MATERNEL D'UNE CATASTROPHE NATURELLE RÉDUIT LE NIVEAU D'ARNm DE GR- β PLACENTAIRE

Joey St-Pierre¹, David P. Laplante², Guillaume Elgbeili², Suzanne King²⁻³, Cathy Vaillancourt¹
¹INRS-Institut Armand Frappier, Cinbiose et Centre de recherche BioMed, Laval, QC, ² Centre de recherche de l'institut Douglas. ³Université McGill.

Le placenta humain régule le transfert du stress maternel au fœtus, notamment via l'activité de l'enzyme 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (11 β -HSD2). La 11 β -HSD2 convertit le cortisol maternel en cortisone, protégeant le fœtus d'un excès de cortisol. Le stress maternel prénatal (PNMS) est associé à une diminution de l'activité de la 11 β -HSD2 placentaire et avec une augmentation du cortisol fœtal ce qui peut affecter le développement du fœtus. La 11 β -HSD2 placentaire joue un rôle direct dans la modulation des effets de l'exposition prénatale aux glucocorticoïdes endogènes, mais aussi un action indirect via l'activation des récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) ainsi que le transporteur placentaire de glucose de type 1 (GLUT-1). En outre, le PNMS a été associé à une diminution de l'expression de GLUT-1 et du transfert de glucose au fœtus. L'objectif est de déterminer si les effets d'une exposition au PNMS (ex: une

inondation) sont associés à une altération de l'expression et/ou de l'activité de la 11 β -HSD2, de l'expression de GR, GLUT-1 au niveau du placenta. Le niveau d'ARNm a été évalué par RT-qPCR sur les placentas issus d'une cohorte de femmes enceinte lors d'une inondation. Les résultats démontrent que le stress subjectif causé par une inondation réduit l'expression du GR- β , mais pas la 11 β -HSD2. Cette étude est la première à mettre en lien le PNMS et le niveau de GR- β , ce qui implique une augmentation de réponse au cortisol en ne modifiant pas l'expression de la 11 β -HSD2.

RÔLE DU RÉCEPTEUR AUX HYDROCARBURES AROMATIQUES DANS LE CONTRÔLE DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE

G Ricaud, D Lim et J Bernier

INRS - IAF

Le récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR), a été d'abord décrit comme senseur moléculaire auquel se lient de nombreux polluants environnementaux comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et les hydrocarbures aromatiques halogénés (HAHs). Récemment il a été démontré que la différenciation des cellules T CD4+ était influencée par des ligands du AhR présents dans le milieu environnant des cellules. Notre hypothèse est que l'activation du AhR suite à une exposition occupationnelle aux HAPs/HAHs corrélera avec une modification du profil des cellules T. Pour vérifier l'exactitude de notre hypothèse, nous avons étudié le profil des cellules T CD4+ chez des pompiers exposés à des produits de combustion. L'exposition à des ligands exogènes issus des combustions incomplètes de matière organique peut potentiellement entraîner une activation de l'AhR. L'activation du AhR par des ligands dans les sérums de pompiers sera étudié à l'aide d'un système rapporteur XRE-luciférase exprimé dans des cellules HepG2. Nos résultats montrent que la population de cellules Th17, Th22 et Treg chez les pompiers est augmentée par rapport au groupe témoin. De plus, le traitement des cellules HepG2 avec les sérums de pompier induit une forte augmentation de l'activité du AhR. Pris ensemble, ces résultats indiquent que les ligands présents dans les sérums de pompiers pourraient expliquer l'augmentation des populations Th17, Th22 et Treg chez ce groupe. La perturbation de l'immunité résultant d'une suractivité du AhR pourrait modifier la mise en place d'une réponse chez des sujets en détresse immunitaire, mais également favoriser le développement de maladies auto-immunes à la suite d'une exposition occupationnelle.

LE RÔLE DE CX43 DÉPEND DU SOUS-TYPE DE CANCER DU SEIN

Mélanie Busby¹, Michael Hallett², Isabelle Plante¹

¹*INRS-Institut Armand-Frappier,*

²*Breast Cancer Informatics Group, Université McGill*

Les jonctions gap, des canaux transmembranaires permettant la communication directe entre deux cellules adjacentes, sont réputées jouer un rôle de suppresseur de tumeur. De récentes études suggèrent cependant que le rôle de Cx43, une protéine de jonction gap, pourrait varier selon les stades du cancer ou encore selon les types de tumeurs. Nous avons investigué séparément les profils d'expression génique et de méthylation des quatre sous-types moléculaires de cancer du sein (Luminal A, Luminal B, surexprimant Her2 et Basal-like). Notre analyse a révélé que le rôle de Cx43 pourrait dépendre du sous-type de cancer du sein. Dans les tumeurs de

type luminal, Cx43 est associée à un meilleur pronostic. Cependant, dans les tumeurs surexprimant Her2, Cx43 est associée à un mauvais pronostic et est co-exprimée avec des gènes associés avec la progression du cancer (nommés ici gènes EMT), soit des gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire, la transition épithelio-mésenchymateuse (EMT), le compartiment des cellules souches mammaires et l'invasion dans le cancer du sein. Cette co-expression est également observée dans d'autres types de cancer (prostate, pancréas, poumon, colorectal) ainsi que dans les lignées cellulaires cancéreuses. L'expression de Cx43 avec les gènes EMT témoigne potentiellement à la fois de l'activation du stroma, de la transition EMT dans les cellules tumorales et de la communication croisée entre les deux compartiments. Ces résultats suggèrent également que chaque sous-type de cancer du sein représente un contexte moléculaire différent dans lequel le rôle et la régulation de Cx43 divergent substantiellement.

Financé par SRC, FQCS, FRSQ, FQRNT et CRSNG.

SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉTUDE DE L'EFFET NEUROPROTECTEUR D'UN SYSTÈME NANOPARTICULAIRE DE TYPE PLGA

Ghislain Djioke Paka and Charles Ramassamy, INRS-IAF

Les défis actuels en neuronanopharmacologie se résument en l'utilisation des nanovecteurs pour l'administration ciblée des principes actifs dans les cellules du cerveau spécifiquement, ceci à l'aide des ligands cérébrotropes. Nous avons précédemment défini le rôle de la composition matricielle sur l'activité neuroprotectrice du curcumin encapsulé dans des nanoparticules polymériques (NPs) de type poly (acide lactique-co-glycolique) (PLGA). L'objectif de ce travail est de modifier la surface de ces formulations avec le glutathion (GSH), afin d'optimiser leur internalisation dans les cellules neuronales. Les formulations renfermant le curcumin ont été préparées par nanoprécipitation (NPs-Cur) et puis la modification au GSH a été réalisée à l'aide de la chimie clic (GSH-NPs-Cur). Suite aux étapes de nanoprécipitation et de modification surfacique, nous avons caractérisé les formulations modifiées au GSH vide et renfermant le curcumin via la détermination de leurs propriétés physicochimiques, la détermination du mode d'internalisation ainsi que l'effet du GSH sur les mécanismes d'internalisation ont été investigués en utilisant différents inhibiteurs endocytiques.

L'effet de la modification sur les propriétés neuroprotectrices du curcumin a aussi été étudié. Nos résultats montrent que la modification surfacique augmente l'internalisation neuronale des formulations. De plus, nous avons montré que la présence du GSH modifie les mécanismes d'internalisation en empêchant la micropinocytose au profit de l'endocytose dépendant des cavéoles et des clathrines. Cette approche pourrait aboutir à la mise en place d'une stratégie intéressante applicable dans le traitement des pathologies affectant le cerveau comme la MA.

DÉVELOPPEMENT DE MODULATEURS ALLOSTÉRIQUES INTRACELLULAIRE DU RÉCEPTEUR PAC1

M Poujol de Moliens, M Létourneau, T Hebert, A Fournier, D Chatenet, *INRS-IAF*

Le *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide* est capable d'induire une neuroprotection *in vitro*, mais également *in vivo* suite à l'activation de PAC1, un récepteur couplé aux protéines G (RCPG). Ce dernier représente donc une cible prometteuse pour le traitement des maladies neurodégénératives. Cependant, ce peptide peut se lier à deux autres RCPG, VPAC1 et VPAC2,

entraînant des effets indésirables. La transmission du signal au niveau intracellulaire est directement associée à des changements structuraux opérés au niveau des boucles intracellulaires d'un RCPG donné. Ainsi, nous supposons que des peptides dérivés des boucles intracellulaires de PAC1 pourraient initier, à elles seules, diverses cascades de signalisation par une reconnaissance spécifique et sélective du PAC1 et une modulation conformationnelle de celui-ci. Trois molécules, dérivées des trois boucles intracellulaires de PAC1, ont été synthétisées puis évaluées pour leur capacité à promouvoir la survie cellulaire dans un modèle cellulaire parkinsonien. Par la suite, ces différents composés ont été évalués pour leur habileté à stimuler ou non diverses voies de signalisation associées à PAC1. Nos résultats démontrent que ces trois molécules sont capables d'assurer la survie cellulaire, et ce en absence du ligand endogène, bien qu'elles n'activent pas la phosphorylation de ERK_{1/2}, la production d'AMPc ou encore de calcium. D'autres voies de signalisation sont à l'étude afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires associés à cette neuroprotection. La découverte de pepducines activant sélectivement PAC1 pourrait représenter une avancée importante dans l'étude des mécanismes cellulaires sous-jacents aux maladies neurodégénératives.

DÉTECTION *IN VIVO* DU RECRUTEMENT ET DE L'ACTIVATION D'AP-1 PAR ARF1

Etienne Sauvageau, Peter J. McCormick and Stephane Lefrançois

Des perturbations dans le transport des protéines entre le réseau *trans*-Golgien, les endosomes et les lysosomes sont à l'origine de plusieurs maladies humaines. Une meilleure compréhension des mécanismes de transport des protéines entre ces différentes organelles pourraient donc mener au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Le complexe adaptateur protéique 1 (AP-1) permet la formation des vésicules tapissées de clathrine responsables du transport des protéines entre le TGN et les endosomes. Une fois associé à la membrane, AP-1 interagit avec la queue cytoplasmique de protéines cargo transmembranaires et recrute simultanément les molécules de clathrine afin d'initier la formation des vésicules de transport. La structure cristalline d'AP-1 avec la petite GTPase Arf1, qui recrute AP-1 au niveau du TGN, suggère différentes interfaces d'interactions impliquées dans le recrutement et l'activation allostérique d'AP-1 par Arf1. Pour l'instant, le modèle d'activation d'AP-1 repose principalement sur des expériences performées *in vitro* avec des protéines tronquées purifiées. Nous proposons d'utiliser la technique de transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET) afin d'étudier l'interaction AP-1/Arf1, la structure oligomérique d'AP-1 et les changements conformationnels associés à l'activation d'AP-1 dans des cellules vivantes. Des courbes de titration de BRET révèlent l'interaction entre AP-1 et Arf1 dans les cellules et des mutations dans des résidus suggérés par la structure cristalline inhibent cette interaction. De plus, AP-1 semble exister principalement sous forme monomérique dans le cytoplasme et adopte une structure oligomérique après son recrutement à la membrane et son activation par Arf1. Finalement le BRET peut détecter le changement conformationnel associé à l'activation d'AP-1 et le rôle d'Arf1 dans ce processus.

L'ÉVOLUTION D'UNE COMBINAISON DE MARQUEURS PLASMATIQUES LIÉS AU STRESS OXYDATIF EST ASSOCIÉE À L'ALTÉRATION COGNITIVE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER

Morgane Perrotte^{1,3}, Aurélie Le Page², Pamela Camponova², Tamas Fulop² et Charles Ramassamy^{1,3}

¹*INRS-IAF, Laval, Canada* ; ²*Institut Gériatrie de Sherbrooke, Canada* ; ³*INAF, Université Laval, Canada.*

Le stress oxydatif (SO) est un mécanisme précoce dans la maladie d'Alzheimer (MA). Les dommages du SO cérébraux surviennent bien avant le stade de démence. Néanmoins, le lien entre le niveau des marqueurs périphériques du SO et le déclin cognitif est peu étudié. L'objectif de ce travail consiste à étudier le lien possible entre les scores cliniques et l'évolution d'une signature plasmatique de marqueurs liés au SO dans la MA.

La capacité antioxydante est mesurée par électrochimie (Apollo-4000), les protéines carbonylées et l'apolipoprotéine D et J (apoD et J) sont analysées par western blot et la quantité de Klotho est mesurée par ELISA dans le plasma de sujets MCI (*Mild Cognitive Impairment*), de patients atteints de la MA à différents stades et des sujets sains de même âge.

La capacité antioxydante est sévèrement diminuée chez les sujets MCI et MA. À l'inverse, les protéines carbonylées augmentent progressivement chez les patients atteints de la MA à partir du stade léger. Les quantités de Klotho et de l'apoJ augmentent dès le stade MCI. En revanche, le niveau de l'apoD ne diffère pas entre les groupes. En outre, l'augmentation des dommages oxydatifs et la diminution de la capacité antioxydante corrélerent avec les scores des tests cognitifs (MMSE et MoCa).

Ces résultats suggèrent le potentiel d'une combinaison de marqueurs plasmatiques reliés au SO et à l'altération cognitive comme biomarqueur dans la MA et sa progression.

Subventions : Fondation INRS-Armand-Frappier ; Chaire Louise André Charron pour la maladie d'Alzheimer

LE RÔLE DE LA PHOSPHORYLATION SUR LES FONCTIONS DE RAB7

O. Skorobogata¹, G. Modica¹ et S. Lefrançois^{1,2}

¹ INRS – Institut Armand-Frappier, Laval, Québec; ² Département d'anatomie et biologie cellulaire, Université McGill, Montréal, Québec

Les GTPases de la famille Rab sont d'importants régulateurs de trafic membranaire. Rab7 est localisé au niveau des endosomes tardifs et il est impliqué dans le transport rétrograde de l'endosome vers le Golgi-trans en réglementant le recrutement de rétromère. Nous émettons l'hypothèse que la phosphorylation de Rab7 module ses interactions avec les effecteurs et régule ainsi son rôle dans diverses voies de trafic membranaire. Nous étudions deux sites de phosphorylation connus, S72 et Y183, ainsi qu'un site putatif, S17, en utilisant des mutants de Rab7 phosphomimetic, S17E, S72E et Y183E et phosphonul, S17A, S72A et Y183F.

La plupart de Rab7 se localise dans les membranes. Il est intéressant de noter que Rab7_{S72E} était presque exclusivement cytosolique, tandis que Rab7_{S72A} est associée avec des membranes. Ces

données indiquent que la phosphorylation de S72 sert comme un interrupteur de la localisation de Rab7 vers les membranes. Pour tester la fonctionnalité, nous avons étudié la capacité des mutants de Rab7 à recruter Vps26, une sous-unité rétromère qui est nécessaire pour la livraison correcte des protéines lysosomales, au niveau membranaire. L'association de Vps26 avec les membranes est diminuée en cellules Rab7 knock-out (KO). Seul Rab7_{S72E} et Rab7_{S72A} n'ont pas restauré la localisation de Vps26 dans les cellules Rab7-KO. De plus, nos données suggèrent que S17 peut être impliqué dans la délivrance de protéines lysosomale par des moyens autres que l'association du rétromère avec les membranes. En résumé, nous avons montré que la phosphorégulation de Rab7 est un mécanisme important dans la régulation des cellules.

DEVELOPPEMENT D'UN MODELE DE CO-CULTURE TRIDIMENSIONNEL D'UN ACINI BICOUCHE DE GLANDE MAMMAIRE EN UTILISANT LES LIGNEES CELLULAIRES MCF-12A ET HS 578BST

Weber-Ouellette, Anne, Busby, Mélanie and Plante, Isabelle.

La glande mammaire est un organe complexe, organisé en épithélium ramifié et supporté par le stroma. L'unité fonctionnelle de l'épithélium mammaire est l'acinus à double couche formé d'un lumen central bordé par une couche interne de cellules épithéliales lumineuses. Cette couche est à son tour entourée par une couche externe de cellules basales, telles les cellules myoépithéliales. Notre recherche vise à développer des modèles de co-culture double couche en trois dimensions pour étudier les interactions de ces deux couches *in vitro*. Deux différentes combinaisons de cellules ont été cultivées dans une préparation de membrane basale solubilisée commerciale, Matrigel: les cellules de souris SCp2 and SCg6, ou les cellules humaines MCF-12A et Hs 578Bst. Le ratio cellulaire, la concentration de Matrigel et les techniques d'ensemencement ont été optimisés. Les structures obtenues ont été analysées par microscopie confocale en utilisant des marqueurs épithéliales, k tatine-18 et E-cadhérine, et des marqueurs myoépithéliales, kératine-14 et actine de muscle lisse (SMA). Lorsque cultivées dans le Matrigel, les cellules SCp2 et SCg6 forment des structures tridimensionnelles distinctes. Cependant, les cellules MCF-12A et Hs 578Bst forment quelques acini double couche dans le Matrigel. Une fois optimisés, ces acini double couche *in vitro* permettront de comprendre le rôle des interactions entre les cellules lumineuses et myoépithéliales dans le développement normal de la glande mammaire.

Support  par FUAFI, NSERC, FRQNT, FRQS, FCSQ et FCI.

RÉGULATION DU DIMORPHISME SEXUEL DE L'EXPRESSION DES CONNEXINES 32 ET 26 DANS LE FOIE

Daphnée Gariépy, Isabelle Plante et Daniel G. Cyr.

Laboratoire de toxicologie de la reproduction, INRS-Institut Armand Frappier

L'hexachlorobenzène (HCB) est un fongicide reconnu comme carcinogène animal et possiblement carcinogène pour l'humain. Il est connu que l'HCB prédispose les foies de rats femelles au développement de tumeurs. Les connexines sont des protéines de jonctions lacunaires faiblement exprimées lors de cancers. Dans les foies de femelles, on observe une

diminution 10 fois plus importante des connexines 32 (Cx32) et elles expriment plus de connexines 26 (Cx26) que les mâles. L'objectif de cette étude est d'identifier les mécanismes responsables du dimorphisme sexuel d'expression de la Cx32 et Cx26 dans le foie. Des cellules hépatiques de rat, les MH1C1, ont été exposées à différentes concentrations de testostérone et 17 β -estradiol. L'expression de Hsp B8, ESR1, IGF-1 et GAPDH, a été quantifiée par qPCR afin d'évaluer la réponse aux stéroïdes sexuels. Les résultats suggèrent que les MH1C1 n'ont pas la capacité de répondre aux hormones sexuelles testées. Ceci contredit des études montrant que les stéroïdes ne régulent pas les connexines dans les MH1C1. Des cellules hépatiques humaines, les Hep G2, subissent actuellement le même design expérimental. Les résultats de cette étude permettront de comprendre les mécanismes responsables du dimorphisme sexuel de la régulation des connexines et du développement de tumeurs hépatiques en relation avec l'HCB.

PROTECTION DES CELLULES DE SERTOLI ET DES SPERMATOGONIES IMMATURES CONTRE LA CYTOTOXICITÉ DE LA DOXORUBICINE

Amélie Tremblay, Hermance Beaud, Géraldine Delbès

INRS–Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Les traitements de chimiothérapie pédiatriques peuvent affecter la fertilité masculine à long terme. Cependant, aucune solution pour préserver la fertilité des garçons pré-pubères n'est actuellement disponible. Des études suggèrent que la doxorubicine (Dxo), couramment utilisée contre les cancers pédiatriques, peut induire un stress oxydatif testiculaire. Ses mécanismes et cibles cellulaires dans le testicule immature restent toutefois inconnus.

Nous proposons que la Dxo induit un stress oxydatif dans les cellules de Sertoli et spermatogonies du testicule immature, et que des antioxydants pourraient les protéger. En utilisant des lignées de cellules de Sertoli (Ser-W3) et de spermatogonies (GC-6Spg), la cytotoxicité et l'induction de stress oxydatif par la Dxo (0,01-10 μ M) ont été étudiés, puis le potentiel de cinq antioxydants évalué.

Nous avons montré par le test MTT que la Dxo induit une cytotoxicité temps et dose-dépendante dans les Ser-W3 et GC-6Spg. De plus, les niveaux de glutathion réduit mesurés par mCB sont significativement diminués dans les Ser-W3 dès 3h de traitement. L'intensité du marquage et du nombre de foci nucléaires de 8-oxo-déoxyguanosine tendent à augmenter dans les GC-6Spg. Ces résultats démontrent que la Dxo induit un stress oxydatif dans ces deux types cellulaires. Cependant, aucun antioxydant testé n'a réduit la cytotoxicité de la Dxo dans les GC-6Spg. Pour les Ser-W3, seul le curcumin offrirait une protection contre de faibles doses de Dxo. La compréhension de l'effet des chimiothérapies et l'élaboration de solutions de préservation de la fertilité pourraient avoir un impact majeur sur la qualité de vie des survivants de cancers pédiatriques.

RÉPONSE AUX DROGUES DE CHIMIOTHÉRAPIES EN FONCTION DE L'EXPRESSION DU DFF40

Merve Kulbay¹, Bruno Johnson¹, Jacques Bernier¹.

1. Centre INRS-Institut Armand-Frappier, Québec.

Antécédents. Le DFF40, une endonucléase activée par la caspase-3, est responsable de la fragmentation de l'ADN lors de l'apoptose. Plusieurs études ont démontrés que cette enzyme est régulée négativement dans les cellules cancéreuses, empêchant la dégradation et l'élimination de leur matériel génétique. Ce phénomène pourrait donc être à la base de développement de cancers agressifs résistants aux thérapies. Les objectifs de l'étude ont été (1) d'établir les courbes doses-réponses des cellules Jurkat en réponse à des drogues de chimiothérapies, et (2) de démontrer les effets engendrés par celles-ci sur la fragmentation de l'ADN en fonction de l'expression du DFF40. *Méthodes.* Les lignées cellulaires Jurkat n'exprimant pas le DFF40 (DFF40KO) ont été établies à l'aide de CRISPR. Les courbes doses-réponses ont été effectuées avec des doses croissantes (0.01 à 10 µM) de doxorubicine, vincristine et staurosporine sur 24h. Des cinétiques ont ensuite été effectuées de 4 à 32h. La viabilité cellulaire et le cycle cellulaire ont été analysés par la cytométrie en flux. *Résultats.* Aucune différence significative au niveau de la mortalité cellulaire n'a été trouvée entre les Jurkat de type sauvage (wt) et les DFF40KO. Les Jurkat DFF40KO n'ont pas présenté de fragmentation de l'ADN comparativement aux type wt ($p < 0.05$), traités avec les drogues sur 24h. *Conclusion.* Ces résultats suggèrent que les drogues de chimiothérapies utilisées ne sont pas plus sélectives pour les cellules cancéreuses, où celles-ci auraient une inhibition de la fragmentation de l'ADN. L'approfondissement des connaissances sur les voies de signalisations impliquées dans l'apoptose est donc d'intérêt pour le traitement de futur des cancers.

CARACTÉRISATION DES RÉSEAUX DE CELLULES ET DE CYTOKINES AUX NIVEAUX DES PLAIES DE GRANDS BRULÉS

Ilona Gdovinova-Lamy et Jacques Bernier, INRS-Institut Armand Frappier, Laval, QC, Canada

La peau est la première ligne de la défense. Les grandes brûlures sont caractérisées dès le début par le syndrome de la réponse inflammatoire systémique(SIRS). Il s'agit de l'activation non spécifique de plusieurs types de cellules immunes. 10^e jour pos trauma on observe la réaction anti-inflammatoire compensatoire (CARS) qui est caractérisée par la dépression immunitaire. Cet état va rendre le patient vulnérable aux infections nosocomiales ce qui sera responsable dans la plupart de cas de la mort du patient. L'objectif de ce projet est d'établir le réseau de cellules immunes peuplant les couches profondes du derme à la suite de la brûlure et par la suite caractériser l'expression des gènes des cellules immunes au niveau de la plaie. Pour cela j'ai utilisé des échantillons de la peau brûlées congelées. J'ai isolé des ARN et des protéines par le kit Paris Life technologies Ambion RNA (Ref.AM 1921). Ensuite la vérification de la quantité d'ARN par Nanodrop et de la qualité par Experion(Biorad). Puis la Reverse Transcription de 9 échantillons d'ARN issue de 9 patients différents et ensuite PCR. Pour cela j'ai utilisé RT Profiler PCR Array Human Inflammatory cytokines&Receptor&Chemokines(Qiagen) pour tester l'expression de gènes de l'immunité inflammatoire et puis RT Profiler PCR Array Human Innate&Adaptative Immune Response(Qiagen) pour tester les gènes de l'immunité innée et adaptative. J'ai effectué aussi le dosage de protéines pour faire Western Blot (Anticorps 1^{er}

CASPASE3, Anticorps 2nd Anti-mousse). La bande de 30kDa relève la présence de ProCspase3 chez le patient 1 et 4 qui est ensuite clivée. On peut supposer alors la présence de l'apoptose dans les cellules 1 et 4. L'analyse de PCR relève l'expression importante de 2 gènes d'immunité inflammatoire (NAMPT et MIF). Et la répression forte de 3 gènes (BMP2, CX3CR1, CCL2). Chez l'immunité innée & adaptative on observe une expression importante dans 4 gènes (CXCL8, SLC11A1, TLR4, TRAF6) et la répression forte dans 3 gènes (CCL2, CXCR3, CD40LG). Les majorités de gènes demeurent non changés. Notre hypothèse pour la suite de travaux est la possibilité d'analyser les expressions de ces gènes pour pouvoir établir leur activité dans le processus de CARS et les facteurs impliqués dans la différenciation des cellules suppressives.

L'ACIDE AMINÉ PHE-6 JOUE UN RÔLE SIGNIFICATIF DANS L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DU PACAP, UN PEPTIDE NEUROPROTECTEUR

L. Lee-Gosselin, M. Létourneau, D. Chatenet et A. Fournier
INRS-Institut Armand-Frappier

Le *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide* (PACAP) possède des propriétés neuroprotectrices dans des modèles de dégénérescence neuronale. Il est présent sous deux isoformes de 27 et 38 acides aminés, passe la barrière hémato-encéphalique et ses actions sont médiées *via* trois récepteurs (PAC1, VPAC1 et VPAC2). Notre objectif est de concevoir des dérivés du PACAP capables d'activer sélectivement le récepteur PAC1, responsable de l'activité neuroprotectrice. Des études ont suggéré que la phénylalanine-6 (Phe-6) est un pharmacophore-clé du PACAP. Nous avons donc évalué la relation entre l'affinité et l'activité biologique de ce peptide et les propriétés physicochimiques du résidu de la position 6 en le remplaçant par différents dérivés tryptophanyles obtenus par arylation du noyau indole. D'une part, des tests d'affinité ont été effectués sur des cellules CHO exprimant l'un ou l'autre des récepteurs. D'autre part, l'activité biologique a été déterminée par des mesures de mobilisation calcique sur des cellules CHO exprimant PAC1. Les résultats suggèrent que l'aromaticité et/ou l'hydrophobicité en position 6 sont déterminantes pour la liaison et l'activation de PAC1. Toutefois, il semble que la chaîne latérale du résidu doit respecter certaines limites au niveau de sa dimension, car les substitutions de l'indole ont eu un impact défavorable sur l'affinité. Nos travaux antérieurs avaient montré que l'hydrophobicité était essentielle pour la position 6, probablement pour le maintien d'une structure secondaire appelée « *N-capping* ». L'étude actuelle supporte cette observation et confirme l'apport significatif de la position 6 pour l'activité biologique PAC1-dépendante.

LOCALISATION MITOCHONDRIALE DU FACTEUR DE FRAGMENTATION DE L'APOPTOSE (DFF40/CAD)

Bruno Johnson, Marie-Noëlle Séguin-Grignon, Valérie Malboeuf, David Bernier et Jacques Bernier, INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Québec, Canada

L'étape finale de l'apoptose est la fragmentation en 200pb de l'ADN, un processus qui marque un point de non-retour pour la cellule à éliminer et permet de réduire le risque de transfert de gènes mutés vers les cellules avoisinantes. Le DFF40 est majoritairement responsable de cette fragmentation internucléosomale, mais sa localisation intracellulaire du DFF40 est controversée.

Bien que plusieurs études aient démontré sa localisation nucléaire, l'existence d'une fraction cytoplasmique a été révélée dans des neuroblastomes et des lymphomes. Notre hypothèse est que des modifications post-traductionnelles seraient impliquées dans la localisation et l'activité du DFF40. Nos objectifs sont d'identifier le site de localisation extra-nucléaire de l'enzyme et les mécanismes régulant sa translocation. L'analyse de la séquence d'acides aminés du DFF40 a révélé la présence de sites potentiels de compétition entre phosphorylation et O-glycosylation. Ces modifications ont été confirmées par immunobuvardage puis des analyses de fractionnement cellulaire ont permis de révéler la présence de DFF40 O-glycosylé dans la fraction membranaire. Le logiciel Mitoprot II a par la suite révélé la présence d'un site potentiel de localisation mitochondrial en N-terminal. La purification de mitochondries nous a permis de déterminer par immunobuvardage, puis par microscopie confocale et électronique sa localisation mitochondriale. De plus, l'induction d'apoptose par de la staurosporine ou du tributylétain induit une translocation mitochondriale du DFF40. Nos travaux sont les premiers à confirmer l'O-glycosylation du DFF40 et sa localisation dans la mitochondrie.

UNE EXPOSITION À UN MÉLANGE DE RETARDATEURS DE FLAMMES BROMÉS (RFB) INHIBE L'INTERACTION ENTRE P- β -CATENIN^{SER675} ET E-CADHÉRINE DANS LES GLANDES MAMMAIRES DE RATS

Elham Dianati¹, Mike Wade², Barbara Hales³ and Isabelle Plante¹

1. INRS, Institut Armand-Frappier. 2. Santé Canada. 3. McGill.

Les RFB sont des composés ajoutés dans les produits de consommation afin de réduire leur combustion, dont certains agissent comme des perturbateurs endocriniens. Puisque le développement et la fonction de la glande mammaire nécessitent une régulation hormonale précise, l'hypothèse de ce projet est qu'une exposition à des RFB perturbera les voies de signalisation impliquées dans la régulation des glandes mammaires. Des rats femelles ont été exposés par la diète à un mélange de RFB (0; 0,6; 30; 60 mg/kg/BW) avant l'accouplement, pendant la grossesse et pendant l'allaitement, et sacrifiées au jour du sevrage. Aucune différence n'a pas été observée dans l'expression de récepteurs hormonaux et de protéines liées à la synthèse du lait, la transition épithéliale-mésenchymateuse et les interactions cellulaires. Bien que les niveaux totaux de β -Caténine fussent inchangés, une baisse significative de la forme phosphorylée Ser675 (p- β -Cat^{Ser675}) a été observée dans le groupe exposé à la plus faible dose, ainsi qu'une baisse de son expression à la membrane. Aucune différence n'a été observée dans les niveaux des kinases liées à la phosphorylation de β -Caténine, ni dans les protéines régulées par le complexe β -Cat/Lef. Par contre, des diminutions d'interaction entre les p- β -cat^{Ser675} et E-cadhérine, et entre β -Caténine et E-cadhérine ont été observées chez les animaux traités. Ces résultats démontrent qu'une exposition à un mélange de RFB affecte la localisation de p- β -Cat^{ser675} dans complexe d'adhésion cellulaire sans affecter la signalisation induite par β -Cat/Lef dans les glandes mammaires.

EFFETS DES INHIBITEURS SÉLECTIFS DE RECAPTURE DE LA SÉROTONINE (ISRS) SUR LA MIGRATION ET L'INVASION DE LA LIGNÉE DE TROPHOBLASTES EXTRAVILLEUX, LES JEG-3

Hélène Clabault^{1,2}, Cathy Vaillancourt^{1,2} et Thomas Sanderson¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier et Centre de recherche BioMed, Laval, QC, Canada.

² Centre de recherche interdisciplinaire sur le bien-être, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE), Montréal, QC, Canada.

La dépression de grossesse affecte 20% des femmes dont 6,2% prennent des inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS). Par contre, les effets des ISRS sur le développement du placenta n'ont jamais été étudiés. Le trophoblaste extravilleux (TBev) est crucial pour l'implantation et le remodelage des artères utérines. Le but de cette étude est de déterminer l'effet des ISRS sur les propriétés migratoires et invasives des cellules JEG-3 (modèle du TBev). Les cellules JEG-3 ont été traitées avec de la fluoxétine, son métabolite (norfluoxétine) et de la sertraline (0,03-10 μ M). La prolifération et le cycle cellulaire ont été analysés respectivement avec le système xCELLigence et par FACS. La migration a été évaluée avec un test de cicatrisation. L'expression et l'activité des métalloprotéinases MMP-2 et -9 ont été déterminées par RT-qPCR et zymographie. La fluoxétine et la sertraline à 10 μ M diminuent la prolifération des cellules JEG-3 de 93% et 98% respectivement tandis que la norfluoxétine n'a pas d'effet. Les 3 ISRS augmentent le nombre de cellules en G0-G1 et diminuent celles en G2-M, tandis que la migration n'est pas affectée. L'expression de MMP-2 et l'activité de MMP-9 sont augmentées par la fluoxétine (0,03 μ M) et la norfluoxétine (3 μ M) respectivement.

Cette étude suggère que les ISRS n'altèrent pas la viabilité et la migration des TBev aux doses thérapeutiques. Ces résultats seront confirmés sur des cultures primaires de TBev.

ÉTABLISSEMENT D'UN MODELE D'ETUDE DE LA REPROGRAMMATION EPIGENETIQUE DANS LES CELLULES GERMINALES FŒTALES DU RAT MÂLE

Arlette Rwigemera et Géraldine Delbès

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval (Québec), Canada

La reprogrammation épigénétique (R.E) est une étape critique du développement fœtal des cellules germinales du testicule. Elle est caractérisée par le remodelage de différents marqueurs épigénétiques dont la reméthylation de l'ADN (5mC) et les variations de modifications post-traductionnelles de l'histone H3. Il a été suggéré que certains polluants environnementaux affectent la fertilité masculine surtout si une exposition survient pendant cette phase. Toutefois, les mécanismes d'action restent mal compris. La culture organotypique du testicule fœtal de rat est un excellent modèle pour reproduire *ex vivo* la cinétique de développement du tissu et préserver l'interaction entre les cellules. Ce projet vise à tester si ce modèle permet de reproduire la dynamique *in vivo* de la R.E dans les cellules germinales fœtales.

Premièrement, nous avons prélevé des testicules à quatre stades de développement et établi, par immunofluorescence, les profils de changement de 5 modifications d'histone et de la 5mC dans les cellules germinales *in vivo*. Deuxièmement, des testicules prélevés à 16 jpc (jours post-coïtum) ont été mis en culture pendant 4 jours sur insert et avec/sans FBS. Sans FBS, les résultats de quantification fait après 48h et 96h de culture montrent que les 3 marques étudiées *in vitro* (5mC, H3K4me3 et H3K4me2) ont les mêmes dynamiques que celles observées *in vivo*.

Enfin, par pyroséquençage, nous avons établi la cinétique de reméthylation du gène à empreinte paternel *H19* dans les gonocytes *in vivo* et montré que cette cinétique est reproduite *in vitro*. Ces résultats suggèrent que la culture organotypique peut reproduire le processus de reprogrammation épigénétique.

RÉPARATION DE L'ADN DES SPERMATOGONIES APRÈS EXPOSITION À LA DOXORUBICINE SEULE OU EN MIXTURE AVEC LA VINCRISTINE

Hermance Beaud¹, Géraldine Delbès¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Canada

Dans le testicule prépubère, la chimiothérapie peut affecter la fertilité en ciblant les spermatogonies (SPG) en division ; tout dommage de l'ADN non réparé pourrait se propager à travers les cycles de la spermatogenèse, et à terme affecter la qualité des spermatozoïdes. Nous soutenons l'hypothèse que des doses non cytotoxiques de doxorubicine seule (DXO) ou en mixture avec la vincristine (MIX), couramment utilisé en oncologie pédiatrique, active la réparation de l'ADN dans les SPG.

Mesuré par test de MTT et de COMET dans une lignée de SPG (GC-6spg), la dose non cytotoxique de 0,1µM DXO ou MIX pendant 24h induit significativement des cassures de l'ADN qui deviennent comparable au contrôle 2 jours après arrêt du traitement. De plus, 75 gènes de réparation de l'ADN, criblés par PCRarray, s'expriment constitutivement dans les GC-6spg, suggérant que les SPG ont des ressources pour répondre à une génotoxicité. L'exposition à 0,1µM DXO ou MIX pendant 24h dérégule 14 et 13 gènes respectivement (≥ 1.5 fold change). Parmi eux, 8 gènes du cycle cellulaire ou de l'apoptose et 7 gènes de la réparation de l'ADN sont stimulés. 50% de ces gènes de réparation de l'ADN font partis des voies Base/Nucleotide Excision Repair (BER/NER). L'analyse par Western Blot révèle l'augmentation significative de CDKN1A et XRCC1, suggérant un arrêt du cycle cellulaire et l'importance de la voie BER dans les SPG en réponse à la DXO.

Comprendre l'implication de la voie BER dans la survie des SPG pourrait ouvrir de nouvelles voies de recherche dans la prévention des effets secondaires des chimiothérapies sur la fertilité masculine.

Projet financé par la Fondation Cole.

DETERMINER LE ROLE DE DEUX DEFENSINES SUR LA MATURATION DES SPERMATOZOÏDES HUMAINS

Raheleh Aram¹, Peter Chan², and Daniel G. Cyr¹

¹Laboratoire de toxicologie de la reproduction, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval; ²Département d'urologie, Hôpital Royal Victoria, Université McGill, Montréal, QC

Une fonction essentielle de l'épididyme est la mise en place du glycocalyx de surface qui encapsule les spermatozoïdes matures. Il est important pour la régulation de la maturation des spermatozoïdes ainsi que pour la capacitation. Les β -défensines 126 et SPAG11b appartiennent à la famille des défensines, des peptides antimicrobiens. Nos expériences ont indiqué que DEFB126 et SPAG11b sont exprimés dans les canaux efférents et tout le long de l'épididyme chez les patients fertiles et atteints d'azoospermie non obstructive. Cependant, nous avons observé que les niveaux d'ARNm de DEFB126 dans la tête de l'épididyme étaient

significativement diminués chez les patients atteints d'azoospermie non-obstructive comparés aux patients fertiles. L'objectif de cette étude était de déterminer s'il existe une corrélation entre ces deux β -défensines et la maturation des spermatozoïdes chez l'humain. Des expériences d'immunofluorescence associées à des tests de motilité ont montré que la majorité des spermatozoïdes positifs pour DEFB126 étaient mobiles mais aucune différence n'a été observée pour SPAG11b. Nous avons observé une corrélation positive entre les spermatozoïdes marqués pour la DEFB126 et le pourcentage de mobilité. Aussi, nous avons observé une augmentation significative des spermatozoïdes marqués pour DEFB126 chez les patients fertiles versus les patients atteints de varicocèle et infertiles. Aucune différence de marquage de la DEFB126 n'a été observée entre les spermatozoïdes venant de patients sains en comparaison avec les spermatozoïdes de patients atteints de leukocytospermia.

EXPRESSION DES CONNEXINES DANS L'EPIDIDYME ET LEURS ROLES DANS LA DIFFERENTIATION DES CELLULES BASALES

Laurie Pinel & Daniel CyrLaboratoire de Toxicologie de la Reproduction, Institut National de la Recherche Scientifique- Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Canada

L'épididyme possède un épithélium pseudo-stratifié composé de cellules basales et principales formant des jonctions communicantes grâce à l'expression de connexines par ces cellules. Notre équipe de recherche a démontré la présence de différentes connexines au sein de l'épididyme, notamment les connexines 30.3 et 31.1 dont la localisation n'est pas encore déterminée. Une étude récente de notre laboratoire a démontré que ces cellules basales expriment également des marqueurs de cellules souches et qu'elles peuvent se différencier *in vitro* en cellules colonnaires, les cellules précédant la formation de cellules principales durant la différenciation épithéliale de l'épididyme. L'hypothèse est que le déclenchement de la différenciation des cellules basales intervient après une rupture de leurs jonctions communicantes avec les cellules principales. Le but de cette thèse est de déterminer la localisation des connexines 30.3 et 31.1 au sein de l'épididyme et de déterminer le rôle des jonctions communicantes dans la différenciation des cellules basales. La localisation des connexines 30.3 et 31.1 sera déterminée par immunofluorescence sur des cryosections d'épididymes de rats adultes. Le rôle des jonctions communicantes sera ensuite étudié grâce à la co-culture de cellules basales et principales. Si la technique d'isolation des cellules basales est déjà mise au point sur le rat, celle-ci doit encore être adaptée à l'utilisation sur du tissu humain. Ces résultats nous permettront de comprendre le rôle des cellules basales dans la différenciation et la régénération de l'épithélium de l'épididyme.

EFFET D'UNE EXPOSITION *IN-UTERO* AUX ŒSTROGÈNES SUR L'EXPRESSION DES GÈNES DANS LES CELLULES GERMINALES MÂLES.

Bintou Gaye^{1,2,3}, Géraldine Delbès^{1,2,3}

INRS-Institut Armand Frappier¹, Laval, Qc, Canada

Centre de recherche BioMed², Montréal, Qc, Canada

Réseau Québécois en Reproduction³, Québec, Qc, Canada

L'infertilité masculine représente un problème de santé publique. Certains cas pourraient être dus à une exposition aux xœstrogènes lors du développement fœtal du testicule. En effet, une

exposition *in-utero* de rat mâle à des œstrogènes affecte l'expression des gènes dans les testicules. Cependant aucune étude n'a déterminé l'effet sur l'expression de gène spécifiquement dans les cellules germinales fœtales (gonocytes).

Notre hypothèse est que les xœstrogènes tel que l'éthinyl-œstradiol (EE2) et la génistéine (GE) affectent l'expression des gènes dans les gonocytes.

Des rattes exprimant la GFP exclusivement dans les cellules germinales ont été exposées par gavage à l'EE2 (2µg/kg/j) ou à la GE (10 mg/kg/j), du jour de gestation G13 à G19. Les analyses ont été effectuées sur les fœtus prélevés à G20 et des nouveau-nés de 5 jours (J5). Nos résultats montrent que les traitements n'ont pas d'effet sur la viabilité des portées, leur poids, les distances ano-génitales ou l'histologie du testicule. Les gonocytes ont été obtenus par FACS et l'analyse de l'expression réalisée sur biopuce Affymetrix rat gène 2.0 ST. Sur les 36686 transcrits analysés, 10096 varient entre G20 et J5 ($p < 0.05$; variation 1,5x). De plus, nos analyses préliminaires suggèrent que l'EE2 affecte 39 et 80 transcrits et la GE affecte 35 et 55 transcrits à G20 et J5 respectivement.

Notre étude révèle pour la première fois l'effet de l'EE2 et de la GE sur l'expression des gènes spécifiquement dans les cellules germinales. Ces effets génotoxiques pourraient affecter le développement de la lignée germinale.

P63 DANS LES CELLULES BASALES EPIDIDYMAIRES, DES CELLULES PROGENITRICES ?

Loïze Maréchal, Daniel Cyr

Laboratoire de Toxicologie de la Reproduction Institut National de la Recherche Scientifique- Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Québec, Canada.

Après la spermatogénèse, les spermatozoïdes transitent, mûrissent et sont stockés dans le tubule épидидymaire. Son épithélium pseudo stratifié est composé de plusieurs types cellulaires, dont les cellules principales, claires et basales. Par le biais de molécules de signalisation ou d'interactions cellulaires, les cellules basales interagissent avec les cellules principales. Les cellules basales dérivent des cellules en colonne indifférenciées, donnant aussi des cellules claires et principales. La différenciation commence de la queue de l'épididyme puis remonte vers la tête de l'organe.

Précédemment, le laboratoire a pu isoler des cellules basales d'épididyme de rat et y a montré l'expression de gènes impliqués dans les fonctions progénitrices des cellules multipotentes adultes de d'autres tissus. P63 est un facteur de transcription essentiel à la stratification de certains épithéliums, ainsi qu'aux fonctions progénitrices des cellules multipotentes adultes. P63 est retrouvée dans les cellules basales épидидymaire de rat et se lie sur deux sites promoteurs de *Cldn1*, codant pour une protéine de jonction serrée impliquée dans la différenciation cellulaire. Au vu de ces indices, il semblerait que les cellules basales tiennent lieu de cellules multipotentes adultes dans l'épididyme.

Le projet portera sur l'étude de p63 dans les cellules basales épидидymaires, de sa régulation aux protéines en aval. P63 contrôlerait les fonctions progénitrices et la différenciation des cellules basales épидидymaires par la régulation des voies Sonic hedgehog et Notch, connues pour être impliquées dans le développement embryonnaire.

EFFETS DE LA SÉROTONINE ET DES INHIBITEURS SÉLECTIFS DE LA RECAPTURE DE LA SÉROTONINE (ISRS) SUR L'AROMATASE (CYP19) PLACENTAIRE

Andrée-Anne Hudon Thibeault^{1,2,3}, J Thomas Sanderson¹ et Cathy Vaillancourt^{1,2,3}

¹ INRS-Institut Armand-Frappier et ²Centre de recherche BioMed, Laval, QC, Canada.

³ Centre de recherche interdisciplinaire sur le bien-être, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE), Montréal, QC, Canada.

Les effets des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) prescrits aux femmes enceintes sur les fonctions foeto-placentaires n'ont jamais été étudiés. L'objectif de cette étude est de caractériser les effets de la sérotonine et des ISRS sur l'enzyme de synthèse des estrogènes CYP19 dans le trophoblaste villositaire (cellule endocrine du placenta). Notre hypothèse est que la sérotonine régule CYP19 dans le trophoblaste humain et que les ISRS perturbent la production d'estrogènes.

Dans les cultures primaires de trophoblastes villositaires, le traitement à la sérotonine et au 2,5-diméthoxy-4-iodoamphétamine (DOI), un agoniste des récepteurs de type 2A de la sérotonine (5-HT_{2A}), augmentent l'activité de CYP19 (162% et 200% respectivement à 1 µM). Dans les cellules BeWo, lignée cellulaire modèle du trophoblaste villositaire, l'activité de CYP19 est augmentée par la fluoxétine (188% et 381% à 1 et 3 µM), la paroxétine (168% et 185% à 1 et 3 µM) et la sertraline (270% à 1 µM). La norfluoxétine inhibe l'activité de CYP19 (diminution de 54% à 3 µM; K_i = 2,1 µM), alors que le citalopram et la venlafaxine n'ont pas d'effet. Dans les cultures primaires, la fluoxétine diminue l'activité de CYP19 de 13% alors que les autres ISRS n'ont pas d'effet.

Nos résultats indiquent que la sérotonine via son récepteur 5-HT_{2A} augmente l'activité de CYP19 placentaire tandis que les effets des ISRS varient selon les molécules et le modèle d'étude.

ROLE DE LA MELATONINE DANS LA REGULATION DE L'AUTOPHAGIE, INFLAMMATION ET ER-STRESS DANS LES TROPHOBLASTES : IMPLICATION DANS UN MODELE DE TUMORAL TROPHOBLASTIQUE COMPLIQUE PAR UNE HYPOXIE-REOXYGENATION

Lucas Sagrillo-Fagundes, Josianne Bienvenue-Pariseault, Eugénia Salustiano, Philippe Wong-Yen, Cathy Vaillancourt

Plusieurs maladies de la grossesse sont d'origine placentaire. Par exemple, dans les placentas prééclampsiques, le remodelage artériel étant incomplet, l'apport en oxygène est plus faible et intermittent, caractérisant l'hypoxie/réoxygénation (H/R), qui est à l'origine d'un stress oxydatif et d'une inflammation trophoblastique et maternelle. La mélatonine, ses enzymes de synthèse et ses récepteurs sont présents dans le placenta. Cette indolamine protège les cellules trophoblastiques par une action antioxydant directe et indirecte via ses récepteurs, mais induit la mort cellulaire des cellules cancéreuses. Le but de cette étude est de déterminer si la mélatonine peut réguler l'autophagie et le stress-ER dans un modèle de choriocarcinome de trophoblaste villositaire (cellules BeWo) sous H/R. L'autophagie est activée dans les BeWo exposées à l'H/R ce qui est démontré par l'élimination du facteur P62. L'ajout de la mélatonine aux cellules exposées à l'HR inhibe l'autophagie et le facteur de transcription Nrf2 alors qu'elle pourrait engendrer l'ER-stress (temps-dépendant) et l'apoptose dans les BeWo. Nos résultats démontrent que la

mélatonine est une molécule protectrice aux trophoblastes et qu'elle possède des rôles variables selon la cellule cible ainsi que selon le temps de traitement.

IMPLICATION DE L'OLIGOMÉRISATION DU RÉCEPTEUR UT DANS LA SÉLECTIVITÉ FONCTIONNELLE DE L'UROTENSINE II ET DE *L'UROTENSIN II-RELATED PEPTIDE*

Mustapha Iddir¹, Terence Hébert², David Chatenet¹
¹INRS-IAF, Laval, ²Université McGill, Montréal

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) sont impliqués dans le contrôle d'un large éventail de fonctions physiologiques. Alors que l'on croyait que ces derniers existaient et fonctionnaient en tant que qu'espèces monomériques, des preuves irréfutables et multiples ont clairement démontré l'existence de complexe oligomérique. Le système urotensinergique composé de l'urotensine II (UII), de l'urotensine II-related peptide II (URP) et d'un RCPG appelé UT est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires. Bien que les deux ligands partagent le même récepteur, ces derniers sont capables d'exercer des actions physiologiques divergentes; chaque peptide déclenchant probablement son propre ensemble de second messagers. Étant donné que l'oligomérisation des RCPG semble être impliqué dans leur diversité pharmacologique, nous avons émis l'hypothèse que les divergences observées entre les deux ligands sont dues à une oligomérisation de UT. Pour confirmer notre hypothèse, nous aurons recours à trois techniques complémentaires à savoir le photomarquage, le TR-FRET, la technique du FIAsh-walk et des essais de liaison. Les techniques de photomarquage et de TR-FRET nous permettront de démontrer la présence de formes dimériques de UT alors que les essais de liaison nous permettront de mesurer la coopérativité entre les deux protomères formant le dimère. La technique du FIAsh-walk nous permettra de faire une cartographie des mouvements dynamiques au niveau de UT impliqué dans la formation du complexe. Les informations récupérées à travers ce projet vont sans aucun doute mener à une meilleure compréhension de la pharmacologie complexe de ce système et à la caractérisation de nouveaux oligomères pharmacologiques / thérapeutiques potentiellement pertinents.

MISE EN LUMIÈRE DU MÉCANISME D'ACTIVATION DU RECEPTEUR UT

Étienne Billard,¹ Myriam Létourneau,¹ Terry Hébert,² David Chatenet¹
¹INRS - Institut Armand-Frappier, Laval (QC), Canada,
²McGill University, Montreal (QC), Canada

Le système urotensinergique, composé de l'urotensine II (UII), de l'*urotensin II-related peptide* (URP) et d'un RCPG (UT) est considéré comme une cible prometteuse pour le traitement de l'athérosclérose. Cependant, en raison de la complexité du mécanisme d'action impliqué dans l'activation du récepteur, et bien que plusieurs études chez les animaux aient démontré le potentiel d'UT comme cible thérapeutique, les essais cliniques chez l'homme ont eu un succès limité. Il apparaît donc décisif de mieux comprendre les interactions liées à l'activation de UT. En raison de son rôle divergent dans l'activité biologique de UII et URP, nous avons émis l'hypothèse que le résidu Tyr pourrait jouer un rôle crucial dans les processus de liaison et d'activation de UT par UII et URP. Plusieurs peptides, dérivés de l'URP et modifiés au niveau du

résidu Tyr, ont été synthétisés et leur affinité pour le récepteur UT ainsi que leur capacité à recruter Gq fut évalué *in vitro* sur des cellules HEK293-UT. Leur habileté à induire la contraction d'anneaux d'aortes de rats a également été mesurée. Alors que [Phe(pI)⁶]URP, aux propriétés physico-chimiques similaires à l'URP, retient des caractéristiques biologiques identiques, [Pep⁶]URP possède une affinité équivalente pour UT mais une puissance de contraction 20 fois moins importante que URP, soit une dichotomie entre l'affinité et l'activité qui est également retrouvée au niveau du recrutement de Gq. Ces résultats suggèrent ainsi une interaction en deux étapes avec le récepteur impliquant un ajustement induit réciproque. La considération de cette exigence conformationnelle guidera les conceptions thérapeutiques futures.

LES BIO-CONJUGUES POUR LE TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

Ahlem Zaghmi^{1,2}, Andrea Greschner¹, Charles Ramassamy², Marc A Gauthier¹.

¹Matériaux biohybrides. Chimie bio-organique, Biomatériaux, Vectorisation de principes actifs, INRS-Énergie Matériaux Télécommunications, Varennes, QC, Canada; ²Toxines et antioxydants, Alzheimer, INRS-Institut Armand Frappier, Laval, QC, Canada

La maladie d'Alzheimer, de progression lente et irréversible, est caractérisée par une atrophie structurale, des altérations fonctionnelles et des troubles comportementaux et cognitifs. De nombreuses études ont mis en évidence la perturbation du système de neurotransmission glutamatergique, due à la présence de grandes quantités cérébrales de glutamate, et son implication dans l'excitotoxicité, la mort neuronale et la perte des fonctions cognitives. En outre, certaines études ont suggéré que la réduction des niveaux sanguins de glutamate pourrait induire un efflux du cerveau vers le sang de celui-ci menant à la diminution des concentrations cérébrales et par conséquent, à la réduction voire à l'élimination de l'excitotoxicité. Dans ce sens, nous avons proposé d'utiliser des bio-conjugués enzyme-polymère qui nous permettront d'éliminer l'excès toxique de glutamate. Notre hypothèse est que la glutamate déshydrogénase (GDH), via son activité catalytique, consommera l'excès de glutamate et le polymère biocompatible choisi, qui est le polyéthylène glycol (PEG), augmentera sa demi-vie de circulation sanguine. A cet effet, nous avons conjugué le PEG à la surface de la GDH, confirmé la réaction de conjugaison, déterminé le nombre de PEG par GDH et évalué l'activité enzymatique avant et après bio-conjugaison. Nos résultats ont démontré que le greffage du PEG sur la GDH n'a pas réduit l'activité enzymatique. À l'heure actuelle, nous menons les tests *in vivo* pour évaluer l'efficacité de nos bio-conjugués.