27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

Département de pharmacologie et physiologie Faculté de médecine Université de Montréal

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

LE 2 JUIN 2023
POLYTECHNIQUE MONTRÉAL
2500 CHEM. DE
POLYTECHNIQUE,
MONTRÉAL, QC H3T 1J4

Conférence de prestige Dr Domenico Regoli

Par : Dr André C. Carpentier, MD FRCPC

Professeur

Directeur Scientifique du Centre de Recherche du CHUS Chaire de Recherche du Canada en Imagerie Moléculaire du Diabète Département de Médecine, Université de Sherbrooke



TOUJOURS D'ACTUALITÉ EN RECHERCHE APRÈS 100 ANS DE DÉCOUVERTES!



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Horaire

8 h 00	Installation des affiches (Bloc I)	Galerie Rolland C600
8 h 30	Mot de bienvenue	Amphithéâtre C631
8 h 45	Présentations orales (Bloc I) Modératrice : Covida MOOTOOSAMY	Amphithéâtre C631
8 h 45	France CÔTÉ HSJ633 PRÉVIENT LES DOMMAGES AUX TISSUS NÉONATAUX CAUSÉS PAR L'INFLAMMATION MATERNELLE.	
9 h 00	Sydnée LÉCUYER L'ACIDE URIQUE COMME FACTEUR DE RISQUE POUR LES COMPLICATIONS COGNITIVES DE LA CIRRHOSE DU FOIE : DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN NOUVEAU MODÈLE MURIN.	
9 h 15	Amandine RÉMY QUELLE EST LA PERTINENCE D'UNE DOSE FIXE D'ALPELISIB CHEZ LES ENFANTS AVEC ANOMALIES VASCULAIRES ?	
9 h 30	Jessica YOUWAKIM LES SOURIS FEMELLES SONT PROTÉGÉES NEUROVASCULAIRE INDUIT PAR L'INTERLEUKINE-17A.	D'UN DÉCOUPLAGE
9 h 45	Pauline MURY EFFETS DIFFÉRENTIELS DU VIEILLISSEMENT S TRANSCRIPTOMIQUE ARTÉRIELLE DES PATIENTS ET P D'UNE MALADIE CORONARIENNE SÉVÈRE.	SUR LA SIGNATURE PATIENTES ATTEINT(E)S
10 h 00	Pause santé	Galerie Rolland C600
10 h 15	Conférence de prestige Dr Domenico Regoli Modérateur : Martin SIROIS	Amphithéâtre C631
	Conférencier invité : Dr André C. Carpentier Directeur Scientifique du Centre de Recherche du CHUS, Université de Sherbrooke L'insuline: Toujours d'actualité en recherche après 100 ans de découverte.	



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

11 h 00	Présentations par affiche (Bloc I)	Galerie Rolland C600	
12 h 30	Dîner Retrait des affiches (Bloc I) et Installation des affiches	Cafétéria C100 s (Bloc II)	
13 h 30	Présentations orales (Bloc II) Modératrice : Marilyne JARJOUR	Amphithéâtre C631	
13 h 30	Peng GAO LA SÉNESCENCE DES CELLULES TUBULAIRES CONTRIBUE À LA FIBROSE RÉNALE CHRONIQUE APRÈS UNE LÉSION RÉNALE AIGUË : IMPLICATIONS POUR LES INTERVENTIONS THÉRAPEUTIQUES PRÉCOCES.		
13 h 45	Thomas MOLINA FIBRO-ADIPOGENIC PROGENITORS AND BIOACTIVE LIPIDS INTERACTION, A KEY PARTNERSHIP FOR MUSCLE REGENERATION.		
14 h 00	Delali Shana DÉGUÉ CONCEPTION DE CORNÉES LIQUIDES INJECTABLES POUR LES PATIENTS À HAUT RISQUE DE REJET DE GREFFE DE CORNÉE: ÉTUDE <i>IN VITRO</i> ET <i>IN VIVO</i> .		
14 h 15	Moustafa BADR LE RÔLE DE L'AUTO-IMMUNITÉ MITOCHONDRIALE DANS UN MODÈLE DE LA MALADIE DE PARKINSON.		
14 h 30	Mathilde BIZOU LA SIGNALISATION DU TGFB REGULE LE DEVELOPPEMENT SPATIO-TEMPOREL DE LA VASCULARISATION CEREBRALE.		
14 h 45	Présentations par affiche (Bloc II)	Galerie Rolland C600	
16 h 15	Remise des prix	Amphithéâtre C631	
16 h 30	Cocktail	Galerie Rolland C600	



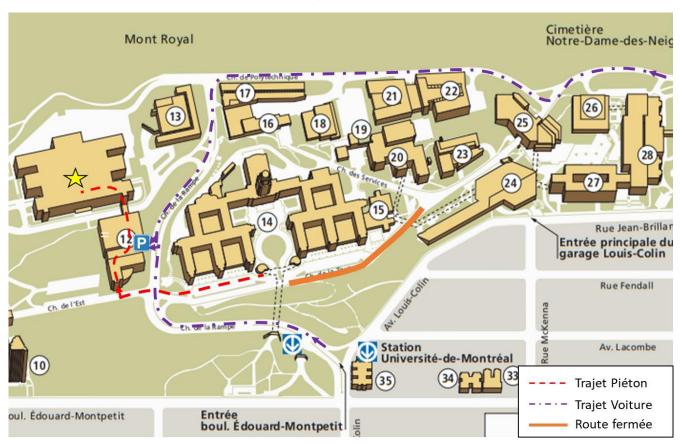
27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Indications vers le lieu de l'événement

Polytechnique Montréal - 2500 chemin de la Polytechnique Pavillon principal - C600



Trajet Piéton

Entrer par la Polytechnique – Pavillon Pierre-Lassonde (2700 ch. de la Tour)

Prendre les escaliers mécaniques jusqu'au 6e étage

Continuer tout droit en suivant les indications pour « Pavillon Principal – Tunnel »

Tourner à gauche pour longer la cafétéria

Tourner à droite au bureau de la Sécurité

Prendre les escaliers mécaniques jusqu'au 6e étage



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

L'édition 2023 de Gabriel L. Plaa a été rendue possible grâce à la contribution de nos généreux commanditaires, que nous tenons à remercier chaleureusement.

Commanditaire Privilège



Commanditaire Diamant



Commanditaire Or











EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Commanditaires Argent





universitatre mere-enjant

Pour l'amour des enfants



Fonds de recherche — Nature et technologies Fonds de recherche — Santé Fonds de recherche — Société et culture











Commanditaires Bronze





27èME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE







EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Conférence de prestige Dr Domenico Regoli

L'insuline : Toujours d'actualité en recherche après 100 ans de découverte.

Conférencier invité :

Dr André C. Carpentier

Directeur Scientifique du Centre de Recherche du CHUS, Université de Sherbrooke



Le Dr Carpentier est titulaire de la Chaire de recherche du Canada en imagerie moléculaire du diabète, professeur et endocrinologue-lipidologue au département de médecine de la Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke. Il est directeur scientifique du Centre de recherche du CHUS depuis décembre 2020. Il a été directeur du Réseau de recherche en santé cardiométabolique, diabète et obésité (Réseau CMDO - https://www.rrcmdo.ca/fr/) de 2012 à 2021 et est le nouveau codirecteur scientifique de Diabetes Action Canada (https://diabetesaction.ca/). Ses intérêts de recherche incluent : 1) le rôle du métabolisme postprandial des acides gras dans le développement du diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires ; 2) l'étude du métabolisme du tissu adipeux brun chez l'homme ; et 3) les mécanismes antidiabétiques de la chirurgie bariatrique. Depuis 2007, le Dr Carpentier a reçu >7,9 M\$ en fonds de fonctionnement et >13,6 M\$ en fonds d'infrastructure et de réseau en tant que chercheur principal, et >24,5 M\$ en tant que co-chercheur principal, dont >1 M\$ a été attribué directement à son laboratoire. Le Dr Carpentier a publié plus de 184 publications manuscrites évaluées par des pairs et citées plus de 18 000 fois (indice H 56). Il a formé 30 étudiants de premier cycle, 19 étudiants diplômés et 15 étudiants postdoctoraux, dont certains poursuivent actuellement leur propre carrière de chercheur indépendant. Il est récipiendaire de plusieurs prix, dont le Prix du jeune chercheur sur le diabète 2011 de la Société canadienne d'endocrinologie et de métabolisme, le Prix du jeune chercheur CDA/IRSC en 2012 et le Prix du médecin-chercheur de la Conférence canadienne sur les lipoprotéines en 2014. Il a été élu membre de l'Académie canadienne des sciences de la santé (FCAHS, 2015).



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE







EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Historique de la Journée Gabriel L. Plaa

Jeune toxicologue dont la carrière était en pleine ascension, Gabriel L. Plaa a été recruté à titre de directeur du Département de pharmacologie en 1967, poste qu'il a occupé pendant 12 ans. Ses fonctions administratives ne l'ont jamais empêché de poursuivre une carrière extrêmement productive en recherche fondamentale, axée sur l'étude des mécanismes d'action de l'hépatotoxicité et de la cholestase. Sa productivité scientifique exceptionnelle, plus de 300 publications auxquelles s'ajoutent plusieurs livres et chapitres de livres, ainsi que la présidence de nombreuses sociétés savantes de pharmacologie et de toxicologie, lui ont valu une remarquable reconnaissance internationale.

En 1996, le nom de Gabriel L. Plaa s'est spontanément imposé lors du « baptême » de la création d'une Journée de la recherche au Département de pharmacologie de l'époque. Nombreux furent les participants dynamiques et ravis. Fiers de ce franc succès, les organisateurs en firent dès lors un événement annuel.

En 2016, une nouvelle organisation voit le jour au sein de la Faculté de médecine de l'Université de Montréal : le Département de pharmacologie et physiologie, qui couvre maintenant trois importantes disciplines, soit la pharmacologie, la physiologie et le génie biomédical. La famille grandissant, il allait de soi que la Journée s'adapte et accueille tous les membres du nouveau Département en devenant la Journée de la recherche Gabriel L. Plaa en pharmacologie et physiologie.

En 2023, le Département de pharmacologie et physiologie poursuit la tradition en célébrant la 27e édition de cette Journée incontournable de notre vie départementale, qui nous rappelle notre principale raison d'être : la transmission des connaissances et la formation de chercheurs chevronnés.



www.rrcmdo.ca

Développer la recherche, transmettre le savoir et valoriser les connaissances pour promouvoir la santé et la qualité de vie des Québécoises et des Québécois.

Vous êtes à la conquête de financement... projet de recherche, mentorat jeune chercheur, stage étudiant ou congrès à l'international, support financier pour votre journée scientifique/activité grand public, recruter un postdoctorant à l'international...

Vous êtes assoiffés de formation... camp d'hiver (formation intensive du continuum de la recherche), réunion scientifique annuelle accréditée, série webinaires, partenariats avec plus de 10 congrès à l'international, ateliers de perfectionnement, échange-étudiants...

Vous prospectez pour des idées novatrices et vous ne trouvez pas la pièce manquante... nous sommes là pour vous connecter aux experts et à tous leurs outils... à l'échelle planétaire!

Contactez-nous! Le réseau est accessible à tous et c'est gratuit! info@rrcmdo.ca



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

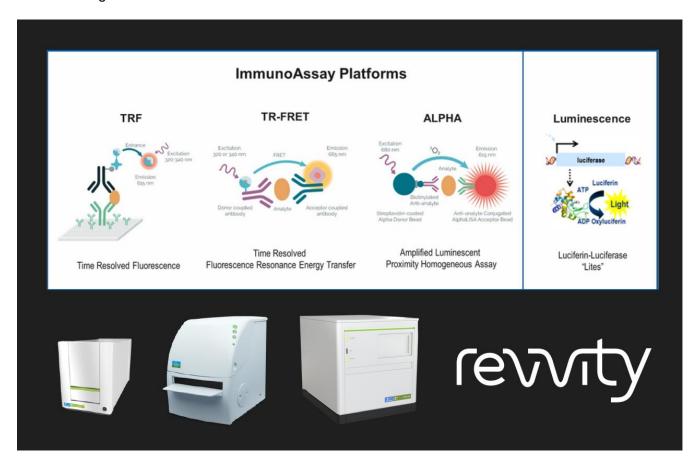
Mot du comité organisateur

La journée de la recherche Gabriel L. Plaa est notre rendez-vous annuel pour célébrer les travaux scientifiques des étudiantes et des étudiants du Département de pharmacologie et physiologie. Cette rencontre importante est l'occasion de mettre en valeur leurs dernières découvertes scientifiques, d'échanger des idées, et de bâtir des nouvelles collaborations.

Cette année, nous souhaitons poursuivre sur la lancée et il s'agit pour le comité d'un véritable plaisir d'organiser cette 27e édition de la Journée de la recherche Gabriel L. Plaa du Département de pharmacologie et physiologie. Cette année est sous le thème de l'insuline sur le traitement du diabète.

Nous vous remercions tous de votre précieuse participation, qui contribue chaque année à la réussite de cet événement et à la richesse de notre Département. Nous remercions en particulier nos commanditaires, dont le soutien financier permet d'offrir la meilleure expérience à tous. Nous vous souhaitons donc une merveilleuse Journée de la recherche Gabriel-L.-Plaa en pharmacologie et physiologie.

Le comité organisateur.





EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Les membres du comité organisateur

Jeanne CORRIVEAU
Rahinatou DJIBO BOUBACAR
Yassine EL BAKKOURI
Adeline Angélique GBEGAN
Véronique LAPLANTE
Assia MEDJKANE
Rafael NAJMANOVICH
Noël RAYNAL
Houman SAVOJI
Martin SIROIS

Les membres du comité de sélection des présentations orales

Caroline THENOT GIRARDOT

Catherine MARTEL
Rafael NAJMANOVICH
Paul-Eduard NEAGOE
Noël RAYNAL
Houman SAVOJI
Martin SIROIS



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Un merci particulier aux

Membres du comité de financement

Julie AUTMIZGUINE

Yassine EL BAKKOURI

Adeline Angélique GBEGAN

Nicolas GIGUÈRE

Hélène GIROUARD

Jean-Philippe GRATTON

Jean-Philippe LAFRANCE

Véronique LAPLANTE

Noël RAYNAL

Houman SAVOJI

Martin G. SIROIS

Caroline THENOT GIRARDOT

Yves THÉORÊT

Louis-Éric TRUDEAU



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE



CENTRE DE RECHERCHE DU CHU SAINTE-JUSTINE

CHEF DE FILE EN SANTÉ PÉDIATRIQUE ET MATERNELLE

Le Centre de recherche du CHU Sainte-Justine nourrit la vision de faire du Québec un lieu où la santé des mères, des enfants et des adolescents compte parmi les meilleures sur la planète. C'est dans cette optique qu'il poursuit la mission de faire avancer les connaissances dans ce domaine, afin de traduire les nouveaux savoirs par des méthodes et des dispositifs plus rapides et moins invasifs de prévention, de diagnostic, de pronostic, de traitement et de suivi à long terme des patients, depuis la conception de l'enfant et sa gestation, jusqu'à l'âge adulte.

Le Centre de recherche réunit une équipe de recherche de plus de 1200 personnes, dont plus de 280 chercheuses et chercheurs, y compris quelque 140 chercheuses et chercheurs cliniciens, ainsi que plus de 550 étudiantes et étudiants des cycles supérieurs et stagiaires de recherche postdoctorale. Travaillant étroitement avec les équipes de soins du Centre hospitalier universitaire mère-enfant CHU Sainte-Justine, ses laboratoires se consacrent à de la recherche fondamentale, clinique et translationnelle pour le mieux-être des mères et des enfants.

https://recherche.chusj.org

















DES AVANTAGES INCONTESTABLES

- Programmes de bourses d'études supérieures et postdoctorales
- Stages d'été
- Une centaine de **conférences scientifiques** par année, reconnues dans votre formation
- Une association étudiante active et impliquée dans la vie académique
- Une politique de bourse minimale pour tous les étudiantes et étudiants

PLATEFORMES ET SERVICES

Le Centre de recherche met à la disposition des équipes de recherche un ensemble de plateformes technologiques, de biobanques et de services de pointe. Chapeautés par un personnel hautement qualifié, vous aurez accès à une expertise scientifique personnalisée de haut niveau pour répondre à vos hescains de recherche.

affaires_academiques.crhsj.hsj@ssss.gouv.qc.ca



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Présentations orales

8 h 45 HSJ633 PRÉVIENT LES DOMMAGES AUX TISSUS NÉONATAUX CAUSÉS PAR L'INFLAMMATION MATERNELLE.

France CÔTÉ¹, Kevin Sawaya², Tiffany Habelrih¹, Xin Hou³, Christiane Quiniou³, Sylvain Chemtob¹

- ¹ Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ² Département de Microbiologie et Immunologie, Faculté des Sciences Biomédicales, McGill University
- ³ Centre de recherche du CHU Sainte-Justine

La naissance prématurée est l'une des principales causes de mortalité et de morbidité néonatales. Malheureusement, il n'existe aucun traitement pour cette problématique qui affecte 15 millions d'enfants par année dans le monde. C'est pourquoi notre laboratoire a développé un petit peptide, HSJ633, qui est un antagoniste allostérique du récepteur à l'IL-6. Nous émettons l'hypothèse que l'inhibition du récepteur de l'IL-6 à l'aide de HSJ633 préviendra la prématurité, améliorera l'issue à la naissance et maintiendra l'intégrité des tissus néonataux.

Des souris enceintes ont reçu deux injections de LPS, pour induire une inflammation (4 + 6 µg i.p.) au 16e et 17e jour de gestation en présence ou en l'absence de HSJ633 (1 mg / kg / 12 h).

HSJ633 réduit la prématurité comparée au groupe LPS (26% vs 96%). De plus, les souriceaux exposés à l'inflammation *in utero* ont un poids inférieur au groupe contrôle jusqu'à 7 jours de vie. Ainsi, HSJ633 permet d'augmenter le poids à la naissance des souriceaux et cette différence perdure jusqu'à 7 jours de vie. L'intégrité morphologique du cerveau, de l'intestin et des poumons est influencée par une exposition à l'inflammation maternelle à 7 jours de vie. Cependant, HSJ633 permet d'améliorer l'intégrité morphologique comparée au LPS, soit le nombre et la taille des alvéoles pulmonaires, le diamètre intestinal ainsi que la densité vasculaire dans le cortex.

Collectivement, nos données démontrent que HSJ633 a amélioré l'issue à la naissance en préservant l'intégrité des organes néonataux. HSJ633 est un nouveau thérapeutique prometteur dans la prévention de la prématurité.

9 h 00 L'ACIDE URIQUE COMME FACTEUR DE RISQUE POUR LES COMPLICATIONS COGNITIVES DE LA CIRRHOSE DU FOIE : DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN NOUVEAU MODÈLE MURIN.

Sydnée L'ÉCUYER ^{1,2}, Alexandra Matesan ¹, Farzaneh Tamnanloo ^{1,3}, Mariana Oliveira ¹, Mélanie Tremblay ¹, Emmanuel Charbonney ^{1,3}, Christopher F. Rose ^{1,2,3}

- ¹Labo Hépato-Neuro, CRCHUM
- ² Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ³ Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Introduction- Environ 40% des patients cirrhotiques souffrent de complications cognitives réduisant leur qualité de vie. Nous nous intéressons à la contribution de l'acide urique (AU), un médiateur reconnu pour ses effets cérébraux. Notre modèle murin démontre comment la cirrhose et l'hyperuricémie peuvent influencer les changements de comportement et les lésions cérébrales.

Méthodes- Nos animaux sont divisés en 4 groupes expérimentaux prenant en compte la cirrhose (SHAM (contrôle) ou BDL (ligature de la voie biliaire)) et l'hyperuricémie (diète régulière (RD) ou diète 3% AU (HUAD)) : (1) SHAM+RD, (2) SHAM+HUAD, (3) BDL+RD et (4) BDL+HUAD. Des prélèvements sanguins sont effectués aux jours 0, 7, 14, 21 et 28 pour mesurer l'AU plasmatique. La mémoire et l'anxiété sont évaluées aux jours 14 et 28. Au jour 33, les animaux sont sacrifiés et le cortex frontal, l'amygdale et l'hippocampe sont isolés pour analyser la mort cellulaire (caspase-3 et caspase-1).

Résultats- L'AU circulant augmente chez les BDL+HUAD à partir du jour 7. Au jour 14, la mémoire à court terme diminue chez les BDL+HUAD et l'anxiété augmente dans les groupes HUAD. Au jour 28, la mémoire à long terme diminue chez les SHAM+HUAD. La caspase-3 augmente dans le cortex frontal pour les animaux SHAM+HUAD, dans l'amygdale pour les animaux BDL+HUAD et dans l'hippocampe pour les HUAD. La caspase-1 augmente significativement dans l'amygdale et l'hippocampe des animaux HUAD. **Conclusion-** Chez les animaux cirrhotiques, l'hyperuricémie entraîne une perte cellulaire dans l'amygdale et l'hippocampe, suggérant un lien avec les comportements anxieux



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

9 h 15 QUELLE EST LA PERTINENCE D'UNE DOSE FIXE D'ALPELISIB CHEZ LES ENFANTS AVEC ANOMALIES VASCULAIRES ?

Amandine REMY (MD¹, MSc candidate²), Thai Hoa TRAN³,4,5, Josée DUBOIS⁴,5,6, Paul GAVRA7, Audrey DENONCOURT7, Facundo GARCIA-BOURNISSEN8, Yves THEORET²,5,7, Niina KLEIBER²,3,4,5,7,9

- ¹ General Pediatric Fellowship Program, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ² Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ³ Division of Hematology-Oncology, Department of Pediatrics, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ⁴ Vascular Anomaly Team, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ⁵ Research Center, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ⁶ Department of Radiology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada
- ⁷ Departement Clinique de Médecine de Laboratoire, Secteur Pharmacologie Clinique, Optilab Montréal CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada
- ⁸ Division of Paediatric Clinical Pharmacology, Department of Paediatrics, Schulich School of Medicine and Dentistry, Western University, London, Canada
- ⁹ Department of Pediatrics, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montreal, Canada

Introduction: Vascular anomalies (VA) may highly impact quality of life and lead to life-threatening organ dysfunction. Most VA are due to somatic overactivating mutations in PIK3CA/AKT/mTOR pathway. PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS) and venous malformations (VM due to TIE-2 mutation) can be effectively treated with alpelisib, a PIK3CA kinase inhibitor repurposed from adult breast cancer treatment. An empiric and fixed dose of 50 mg irrespective of weight has been FDA approved in the absence of any pharmacokinetic (PK) data.

Objective: To challenge this fixed and empiric dosing by providing novel alpelisib pharmacokinetic data in a group of patients treated for a VA treated at Sainte-Justine Hospital.

Methods: Alpelisib was obtained through Novartis's compassionate drug access program. Area under the curve (AUC) was obtained as a standard of care. PK parameters (apparent clearance, volume of distribution, T_{max} and C_{max}) were determined on AUC data with noncompartmental analysis.

Results: Seven patients with severe VA (PROS: n=4, TIE-2 VM: n=3) were included. Median age was 12 years (range: 2.6-18) and median weight was 45.4 Kg (range: 15.1-92). AUC on a 50 mg oral daily dose was highly variable ranging from 3036 to 16620 ng*h/mL (median=7270), volume of distribution ranged from 0.9 to 2.3 L/Kg (median=1.7). AUC was correlated to weight. Also, a high interindividual variability in clearance (median=205 mL/Kg/H (range: 100-340)) drives highly variable PK.

Conclusion: Alpelisib exposure on a fixed empiric dosing of 50 mg is very variable. As short and long-term adverse effects in children are highly unknown, a dosing based on PK data is urgently needed.

9 h 30 LES SOURIS FEMELLES SONT PROTÉGÉES D'UN DÉCOUPLAGE NEUROVASCULAIRE INDUIT PAR L'INTERLEUKINE-17A.

Jessica YOUWAKIM^{1,2,3,4}; D. Vallerand¹ et H. Girouard^{1,2,3,4}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Université de Montréal
- ² Groupe de Recherche Universitaire sur le Médicament (GRUM)
- ³ Centre Interdisciplinaire de Recherche sur le Cerveau et l'Apprentissage (CIRCA)
- ⁴ Groupe de recherche sur la Signalisation Neuronal et la Circuiterie (SNC)

La ménopause est associée à un risque accru de maladies cérébrovasculaires causé par une altération de mécanisme de régulation du flux sanguin cérébral important tel le couplage neurovasculaire (CNV), le lien dynamique entre l'activité neuronale et le flux sanguin local. Le CNV est altéré chez les souris mâles hypertendues tandis que les femelles sont protégées par l'estradiol. L'altération du CNV chez les souris mâles hypertendues est médiée par l'interleukine (IL)-17A. Étant donné qu'une diminution des niveaux d'estradiol est observé dans la ménopause, notre hypothèse stipule que l'estradiol protège les femelles de l'altération du CNV causée par l'IL-17A. Lors de cette étude, une pompe osmotique libérant de l'IL-17A de façon constante a été implantée chez des souris mâles et femelles. Un sous-groupe de souris femelles a été ovariectomisé (OVX) et a été traité ou non avec de l'estradiol. D'autre femelles ont reçu des antagonistes du récepteur (ER) α, du ERβ ou de GPER afin d'évaluer l'implication de ces récepteurs. Suite au traitement, le CNV a été évalué par débitmétrie laser Doppler en réponse à des stimulations des vibrisses. Nos résultats montrent que l'administration d'IL-17A n'altère pas le CNV chez les femelles contrairement aux mâles. Cette protection est perdue chez les femelles OVX, mais est restaurée par un traitement à l'estradiol. L'inhibition du Erβ et de GPER, mais pas d'ERα conduit à l'altération du CNV induite par l'IL-17A chez les femelles (p<0.05). Nos résultats suggèrent que l'estradiol protège contre les dysfonctionnements cérébrovasculaires induits par l'IL-17A par l'entremise des récepteurs β et GPER.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

9 h 45 EFFETS DIFFÉRENTIELS DU VIEILLISSEMENT SUR LA SIGNATURE TRANSCRIPTOMIQUE ARTÉRIELLE DES PATIENTS ET PATIENTES ATTEINT(E)S D'UNE MALADIE CORONARIENNE SÉVÈRE.

Pauline MURY^{1,2}, Olina Dagher^{1,2}, Michel Pellerin^{1,3}, Yoan Lamarche^{1,3}, Pierre Pagé^{1,3}, Yves Hébert^{1,3}, Pierre Emmanuel Noly^{1,3}, Hugues Jeanmart^{1,3}, Nicolas Dürrleman^{1,3}, Emmanuel Moss^{1,3}, Denis Bouchard^{1,3}, Guillaume Lettre^{1,2,4}, Eric Thorin^{1,2,3}

- ¹ Institut de Cardiologie de Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
- ² Département de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
- ³ Département de Chirurgie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
- ⁴ Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

La dysfonction endothéliale précède le développement de la plaque d'athérosclérose, et il a été suggéré que la protection relative procurée par le sexe féminin était liée à l'apparition plus tardive de cette dysfonction. D'autre part, l'accumulation des cellules endothéliales (CE) sénescentes (Sn) est proportionnelle à l'historique d'exposition aux facteurs de risque de la maladie athéromateuse. Nous émettons l'hypothèse que l'accumulation de CESn artérielles contribue au dysfonctionnement endothélial, et que cette accumulation est moindre chez la femme.

La fonction dilatatrice endothéliale à l'acétylcholine (ACh) a été évaluée dans des segments d'artères mammaires de 65 patient(e)s. La relaxation maximale (Emax) et la concentration d'ACh induisant 50% de relaxation (EC50) ont été calculées. La signature transcriptomique de l'artère mammaire a été analysée pour 11 patient(e)s par single-nuclei RNA sequencing.

Alors que l'âge et les facteurs de risque étaient similaires entre les deux sexes, l'EC50 était significativement plus basse chez les femmes, illustrant une meilleure sensibilité de l'endothélium à l'acétylcholine. L'analyse des 36569 noyaux a montré des différences de composition cellulaire entre les sexes, ainsi que des patterns d'expression génique différents, en particulier avec un profil plus inflammatoire et sénescent chez les mâles. Ces résultats suggèrent que l'origine moléculaire de la progression de la maladie coronarienne est très différente entre les deux sexes

13 h 30 LA SÉNESCENCE DES CELLULES TUBULAIRES CONTRIBUE À LA FIBROSE RÉNALE CHRONIQUE APRÈS UNE LÉSION RÉNALE AIGUË : IMPLICATIONS POUR LES INTERVENTIONS THÉRAPEUTIQUES PRÉCOCES.

Peng GAO^{1,2}, Schrodinger Carmax^{1,2}, Nathalie Henley¹, Jonatan Barrera Chimal¹, Frédérick A. Mallette^{1,4}, Casimiro Gerarduzzi^{1,2}

- ¹ Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- ² Département de Pharmacologie et Physiologie, Université de Montréal
- ³ Département de Biochimie, Université de Montréal

Introduction: Acute kidney injury (AKI) is a frequent clinical condition with growing incidence. Patients who suffer AKI have a higher risk of developing chronic kidney disease, featured by interstitial fibrosis. Senescence is a persistent cell cycle arrest accompanied by senescent-associated secretory phenotype (SASP), which is thought to be the culprit of tissue inflammation and fibrosis. Based on this, we hypothesized that senescence might be induced after acute kidney injury and this contributes to renal fibrosis.

Results: *In vivo*: Male C57BL/6 mice were induced AKI with aristolochic acid I (AAI), a nephrotoxic DNA damage drug. Compared to the control, the AAI-treated kidney exhibited signs of acute tubular damage, tubulointerstitial fibrosis as well as tubular senescence. Selective clearance of senescent cells using ABT-263 at 3 or 7 days after AAI-injection attenuated renal senescence and improved kidney outcome. However, starting treatment with ABT-263 after 12, or 21 days post AAI-injection was unsuccessful. Finally, broader clearance of SASP-factors using Metformin in AAI-treated mice also alleviated renal dysfunction and fibrosis.

In vitro: AAI treatment for 6 days induced both epithelial-mesenchymal transition (EMT) and senescence in HK-2. Additionally, conditioned medium (CM)-derived from senescent HK-2 cells promotes EMT in HK-2 cells and fibroblast-myofibroblast transition (FMT) in kidney fibroblast (NRK-49F), respectively. The above effects were abolished by treatment with ABT-263 or Metformin.

Conclusions: Our study shows that tubular senescence is implicated in the development of renal fibrosis following AKI. Thus, early therapeutic depletion of senescent cells or SASP is required for effective reduction of long-term sequelae of AKI.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

13 h 45 L'INTERACTION ENTRE LES LIPIDES BIOACTIFS ET LES PROGÉNITEURS FIBRO-ADIPOGÉNIQUES: UN PARTENARIAT CLÉ POUR LA RÉGÉNÉRATION MUSCULAIRE.

MOLINA Thomas¹, Fabre Paul¹, Deprez Alyson¹, Dumont Nicolas²

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ² École de réadaptation, Faculté de Médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHU Sainte-Justine

Introduction: Skeletal muscle has a remarkable regenerative capacity due to the presence of 2 stem cell types: muscle stem cells (MuSCs) and fibro-adipogenic progenitors (FAPs). FAPs are a population of muscle-specific mesenchymal stem cells that secrete extracellular matrix and paracrine factors playing a crucial role in the regulation of the myogenic activity of MuSCs. On the other hand, FAPs can differentiate into fibroblasts or adipocytes, and their chronic accumulation can lead to fibrofatty tissue deposition in diseases such as Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). The regulatory mechanisms controlling FAPs cell fate decision during muscle regeneration are still elusive. The goal of this research project is to investigate the production of bioactive lipids, such as prostaglandin-E2 (PGE2), as a cell-intrinsic and extrinsic mechanism regulating FAPs cell fate decision during muscle regeneration and diseases.

Results: Our study revealed that FAPs produce PGE2 through COX-2 enzyme and that PGE2 produced by FAPs acts as a paracrine factor to stimulate MuSC proliferation. Moreover, knocking-out COX2 in FAPs leads to impaired muscle regeneration in vivo. Further transcriptomics and in vitro experiments showed that FAPs express different PGE2 receptors and that PGE2 acts as a pro-apoptotic and anti-proliferative molecule on these cells. Finally, our results indicated that PGE2-treated mice have a greater muscular strength than vehicle treated mice in the mdx mouse model of DMD.

Conclusion: The FAPs-COX2-PGE2 axis is critical to timely coordinate muscle regeneration. These findings also offer new therapeutic avenues for the treatment of DMD, a disease characterized by impaired regeneration, and fibrosis.

14 h 00 CONCEPTION DE CORNÉES LIQUIDES INJECTABLES POUR LES PATIENTS À HAUT RISQUE DE REJET DE GREFFE DE CORNÉE: ÉTUDE IN VITRO ET IN VIVO.

Mostafa Zamani Roudbaraki^{1-3,§}, **Delali Shana DÉGUɹ-3,§**, Mozhgan Aghajanzadeh Kiyaseh¹-3,§, Marie-Claude Robert ¹.2,⁴, Mona Moradi¹-3, Christos Boutopoulos¹-3, Bruno Larrivee¹,², May Griffith¹-3

- ¹ Maisonneuve-Rosemont Hospital Research Centre, Montreal, Quebec
- ² Faculty of Medicine, Deptartement of Ophthalmology, Université de Montréal, Montreal, Quebec
- ³ Institute of Biomedical Engineering, Université de Montréal, Montreal, Quebec
- ⁴ Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Montreal, Quebec
- § Equivalent contributions

The cornea is the transparent front of the eye and main refractive surface, focusing light into the eye for vision. Pathologies resulting in inflammation can progress to ulceration, neovascularisation, and perforation. Corneal perforations are emergencies and are treated by sealing with cyanoacrylate glue which is toxic and kills surrounding cells. We aimed to develop an alternative to transplantation that can be applied easily to seal wounds and promote functional regeneration of the damaged tissue. With clinical application in consideration, we developed injectable liquid hydrogels that serve as sealants and pro-regeneration fillers. They are made from self-assembling collagen-like peptides (CLP) to promote regeneration, and conjugated to a backbone that allows the incorporation of adhesive groups. We also test the hypothesis that COCO, a protein family member that modulates TGF-β signaling and inhibits retinal vascularization while promoting neuronal growth, can prevent corneal neovascularization. We incorporated COCO into silica nanoparticles that were mixed into the liquid hydrogels for delivery. The prepared hydrogels were tested for biocompatibility using live/dead assays. The best formulations were tested in vivo on mouse models of corneal inflammation and perforation. Bursting pressure tests showed that the hydrogel could tolerate pressures 60 mm Hg when it was applied as a self-gelling sealant within a large perforation of 5 mm diameter at the epithelial surface tapering to 1 mm on the endothelial surface. In vivo testing in mice showed that the perforations remained sealed. At three months post-operation, the corneal surface was restored and there was minimal neovascularization, showing successful regeneration.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

14 h 15 LE RÔLE DE L'AUTO-IMMUNITÉ MITOCHONDRIALE DANS UN MODÈLE DE LA MALADIE DE PARKINSON.

Moustafa NOUH ELEMEERY^{1,2,3}, Jean Francois Daudelin^{3,4}, Salix Boulet^{3,4}, Alex Tchung¹, Sriparna Mukherjee¹, Nicolas Giguère¹, Louis-Eric Trudeau¹, Nathalie Labrecque^{3,4}

- ¹ Department of pharmacology and physiology, Department of Neurosciences, faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec. Canada
- ² Medical Biotechnology Department, National Research Centre, Dokki, Giza, Egypt
- ³ Centre de recherche de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont
- ⁴ Department of Medicine and Department of Microbiology, Infectiology and Immunology, faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Parkinson's disease (PD) is accompanied by altered function and progressive degeneration of dopamine (DA) neurons in the central and peripheral nervous system. Converging observations suggest that neuroinflammation and mitochondrial dysfunction play important roles in PD pathophysiology. However, their exact roles are still unclear. Our team recently discovered that loss of Pink1 or Parkin, involved in the genetic forms of PD, leads to immune dysregulation in the form of enhanced mitochondrial antigen presentation (MitAP). In Pink1-KO mice, the induction of MitAP occurred following intestinal infection leading to the generation of autoreactive mitochondrial-specific T cells. This was associated with alteration of DA neuron terminals and L-Dopa-reversible motor impairments. A direct demonstration that such mitochondrial antigen specific T cells reach DA neurons in the intact brain and lead to their impairment is however still lacking.

To assess the direct role of MitAP and mitochondrial antigen-specific T-cells, we adoptively transferred activated mitochondria-specific CD8+ T cells or control CD8+ T cells recognizing ovalbumin into wild type or PINK1-KO mice. The frequency, level of activation and brain infiltration of these T-cells was assessed using flow-cytometry. The integrity of the DA system was assessed by immunohistochemistry and PD-like symptoms were assessed using the pole test, grip strength test and open field. Activated mitochondrial antigen specific CD8+ T cells developed into central memory T-cells after adoptive transfer. A subset of the mice died after a delay of 6-7 weeks. Many of the surviving PINK1-KO and WT mice showed impaired performance in the pole test, that can be reverted after administration of L-Dopa, open field and rotarod. The PD like pathology was found to be associated with infiltration of mitochondrial-specific CD8+ T cell in the brain. Preliminary data suggest that specific loss of DA neurons in the ventral midbrain and a reduction of their axon terminals in the striatum occurs in these mice.

The present work supports the hypothesis that MitAP plays a role in the establishment of PD-like pathology in Pink1-KO mice via the response of mitochondria-specific T-cells. Moreover, the severity and progression of the disease seems to be linked to their infiltration to the CNS. This work could lead to the identification of new immunotherapies to treat PD.

14 h 30 LA SIGNALISATION DU TGFB RÉGULE LE DÉVELOPPEMENT SPATIO-TEMPOREL DE LA VASCULARISATION CÉRÉBRALE.

Mathilde BIZOU^{1,2}, Elise Drapé^{1,3}, Joel Howard¹, Gael Cagnone¹, Mei Xi Chen¹, Severine Leclerc¹, Gregor Andelfinger¹, Jean-Sebastien Joyal¹, Alexandre Dubrac^{1,2,3}

- ¹ Research Center of the Sainte-Justine University Hospital
- ² Department of pathology and cellular biology, University of Montreal
- ³ Department of pharmacology and physiology, University of Montreal

The brain vascular network acquires structural and cellular heterogeneity across brain regions to maintain neuronal homeostasis and function. While the brain vasculature expands during a critical postnatal period, it remains unclear whether brain regions use different angiogenic mechanisms. Here, we identify spatial and temporal regulation of angiogenesis in the postnatal developing brain. Combining spatial and endothelial single-cell RNAseq transcriptomic analysis, we provide a molecular atlas of developing brain regions and a comprehensive list of spatiotemporal angiogenic regulators. While the main angiogenic factor, the Vascular endothelial growth factor A, is ubiquitously expressed, we found that transforming growth factor β (Tgfβ) ligand is enriched in the thalamic area during a critical postnatal period. In line with these findings, neonatal endothelial Tgfβr1 deletion (Tgfβr1iEKO) induces vascular malformations and hemorrhages, mainly in the thalamic area. Mechanistically, we showed that loss of endothelial TGFβ signaling increased AKT/mTOR signaling *in vitro* and *in vivo*, and the mTOR inhibitor Rapamycin efficiently rescued intracerebral bleeding and vascular defects in Tgfβr1iEKO mice. Altogether, our data suggest that brain vascular heterogeneity is controlled by spatiotemporal-specific NVIs and will benefit our understanding of the neurovascular defect's contribution to the onset and progression of region-specific neurovascular and neuronal disorders.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Présentations par affiche (Bloc I)

1 LA STABILISATION DES MASTOCYTES PROTÈGE LES PHOTORÉCEPTEURS DANS UN MODÈLE DE DÉGÉNÉRESCENCE RÉTINIENNE INDUITE PAR UN STRESS OXYDATIF.

Pénélope ABRAM^{1,2}, Rabah DABOUZ², Sylvain CHEMTOB^{1,2}

- ¹ Department of Pharmacology and Physiology, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ² Department of Ophthalmology, Maisonneuve-Rosemont Hospital Research Center, Montreal, QC, Canada

Introduction: Age-related macular degeneration (AMD) is a leading cause of blindness in the elderly worldwide. Dry AMD is characterized by retinal pigment epithelium (RPE) degeneration, subretinal inflammation and photoreceptor cell death. Interestingly, accumulation of mast cells was reported at areas of RPE atrophy in patients with geographic atrophy, the advanced stage of dry AMD. However, the role of mast cells in the pathogenesis of geographic atrophy is unclear.

Goal: To investigate the implication of mast cells in RPE degeneration and photoreceptor death in an oxidative stress-induced mouse model of AMD.

Methodology: Oxidative stress was induced by sodium iodate administration. Wild type (WT) mice and mast cell-deficient mice (*Kit***sh/wsh) were treated with a mast cell stabilizer, ketotifen fumarate (KF), or vehicle. RPE damage was visualized by phalloidin staining. Mononuclear phagocyte (MP) infiltration was evaluated by Iba1 immunofluorescence. Photoreceptor cell death was assessed by TUNEL assay. Retinal function was evaluated by electroretinography.

Results: Sodium iodate administration caused structural disorganization of the RPE and massive recruitment of MPs in the subretinal space associated with photoreceptor death. Importantly, retinal damage was associated with mast cell degranulation. KF reduced the area of RPE atrophy on WT mice but not on *Kit*^{wsh/wsh}. *Kit*^{wsh/wsh} and KF-treated mice had less recruitment and activation of MPs in the subretinal space, and less photoreceptor death.

Conclusion: These results show that targeting mast cells confers a protective effect on RPE and photoreceptors in a mouse model of retinal degeneration.

3 RÉGULATION ENDOCANNABINOÏDE DES CANAUX POTASSIQUES DE REDRESSEMENT (KIR2.1).

Ameneh AHRARI, Sultan Mayar, Madeleine M. Labonte, Niveny Sinniah, Mina Memarpoor-Yazdi, Nazzareno D'avanzo Department of Pharmacology and Physiology, Université de Montréal, Montréal, Quebec, Canada H3T 1J4

The inward rectifier potassium channel Kir2.1 (KCNJ2) is an important regulator of resting membrane potential in both excitable and non-excitable cells. The function of Kir2.1 channels are dependent on their lipid environment, including the availability of PI (4,5) P₂, secondary anionic lipids, cholesterol and long-chain fatty acids acyl coenzyme A (LC-CoA). Endocannabinoids are a class of lipids that are naturally expressed in a variety of cells, including cardiac, neuronal, and immune cells. While these lipids are identified as ligands for cannabinoid receptors (CBRs), there is growing body of evidence that they can directly regulate the function of numerous in channels independently of CBRs. Here we examine the effects of a panel of endocannabinoids on Kir2.1 function, and demonstrate that a subset of endocannabinoids can alter Kir2.1 conductance to varying degrees independently of CBRs. These findings may have broader implications on the function of cardiac, neuronal and/or immune cells.

5 ACTIVATION DES PROJECTIONS ENTRE LE CORTEX INFRALIMBIQUE ET LE NOYAU ACCUMBENS ET LA RECHUTE A LA RECHERCHE DE COCAINE INDUITE PAR DES STIMULI ASSOCIES A LA DROGUE.

Hajer E ALGALLAL¹, Shaghayegh Najafipashaki¹, Isabel Laplante¹ and Anne-Noël Samaha^{1,2,3}

- ¹ Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal
- ² Groupe de recherche sur la signalisation neurale et la circuiterie (SNC), Faculty of Médicine, Université de Montréal
- ³ Centre Interdisciplinaire de Recherche sur le Cerveau et l'Apprentissage, Université de Montréal

Cocaine addiction involves relapse to drug use, often triggered by drug-associated cues. Drug cues can be conditioned stimuli (CSs) that occur after drug intake and that are paired with drug effects. Drug cues can also be discriminative stimuli (DSs), which are present independent of drug seeking actions, and that inform about drug availability. Infralimbic cortex (IL) projections to the nucleus accumbens (NAc) shell mediate CS-triggered cocaine relapse. It is not known how this circuit may mediate DS-triggered cocaine relapse. We aim to study the effects of activation of IL-Shell neurons on DS and CS-induced relapse after intermittent cocaine use. Thus, we will use viral-mediated gene expression of designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADD) in target neurons, and then activate these neurons with CNO. Female Sprague-Dawley rats will self-administer cocaine. During each session, a discrete cue light (DS+) will signal drug availability, a different cue light will signal drug unavailability (DS-), and each cocaine infusion will be paired with a light-tone stimulus (CS). Four weeks after the last self-administration session, we will assess DS and



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

CS-induced cocaine seeking following CNO or aCSF injections into the NAc shell. The findings will determine the respective roles of distinct corticoaccumbens circuits in DS and CS-induced relapse after abstinence. This work could inform targeted neuronal manipulations as anti-addiction treatments.

Key words: Chemogenetics, Cocaine self-administration, Infralimbic cortex, Nucleus accumbens shell, Intermittent Access.

7 CANCER DU SEIN SUR PUCE.

Jean-Marc AWOGNI^{1,2}, Marine Le Goas², Sara Gonzalez Bolivar², Xavier Banquy ^{1,2} and Daria Camilla Boffito³

- ¹ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ² Axe Formulation et Analyse du Médicament, Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ³ Department of Chemical Engineering, Polytechnique Montréal, Montréal, QC, Canada

Breast cancer is one of the most the leading causes of death among women worldwide. The current gold standard treatment is a surgical excision of the tumor. Despite it, the risk of resurgence is high. The surgery is followed by chemotherapeutic treatment for several months to prevent this. Chemotherapy is a systemic treatment with multiple adverse effects due to its non-specificity. In recent years, many targeted experimental treatments have been put forth as an alternative. One of them is photothermic therapy using nanoparticles (NPs). Unfortunately, researchers don't have an efficient platform to test experimental treatment aimed at mitigating the risk of resurgence. To address this problem, we are developing an organ-on-a-chip of the tumor microenvironment post-surgical excision. It is a combination of microfluidic and tissue engineering that can simulate several organs. This technology allows high throughput, and better controllability and is less expensive than usual models like animals. To carry out this project, the methodology to be followed is divided into four stages. First, we are fabricating a microfluidic chip to produce vascularized microtumors. Second, the surgery will be simulated by performing a thermal ablation on the tumor spheroid inside the chip. Third, differential dynamic microscopy will be used to map the concentration and diffusion of the NPs in the chip. Finally, the photothermal ablation application will be performed in the presence of NPs. Later development of this novelty will offer the possibility of developing personalized tests that be suitable for other types of cancer.

9 FAVORISER L'ÉCHAPPEMENT DE L'ANTIGÈNE A PARTIR DES ENDOSOMES DES CELLULES DENDRITIQUES RENFORCE L'IMMUNITÉ ANTI-TUMORALE.

Jean-Pierre BIKORIMANA¹, Natasha Salame², Jamilah Abusarah³, Simon Beaudoin⁴, S. Talbot³, Mohamed Balood³ Theo Crosson⁴, Raimar Lobenberg⁵, Sebastien Plouffe⁴ and Moutih Rafei^{1,3,6}

- ¹ Department of Microbiology, Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ² Department of Biomedical Sciences, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ³ Department of Pharmacology and Physiology, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ⁴Research and Development Branch, Defence Therapeutics Inc., Vancouver, BC, Canada
- ⁵ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada
- ⁶ Molecular Biology Program, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Background: Anti-tumoral immunity mediated by dendritic cells (DCs) relies on antigen cross-presentation. However, the therapeutic efficacy of DCs has been abrogated by non-specific degradation of captured antigens orchestrated by endo-lysosomal organelles. *Beaudoin et al 2016* described a novel technology to optimize intracellular drug delivery whereby a therapeutic antibody conjugated to Accum moiety accumulates efficiently in the cytosol of target cells by disrupting endosomal membranes.

Objective: we investigated whether applying the AccumTM technology to antigen cross-presentation potentiates the immune therapeutic potency of ex *vivo* generated CD8⁻DCs pulsed with the experimental ovalbumin (OVA) antigen.

Methods: besides the use of confocal microscopy to assess endosomal damages in DCs pulsed with Accum-conjugated OVA (aOVA), flow-cytometry was used to evaluate antigen uptake and processing. In addition, an *in vitro* antigen cross-presentation was used to evaluate aOVA properties. Finally, prophylactic and therapeutic vaccination studies were conducted using a T-cell lymphoma cancer model.

Results: Mature DC pulsed with aOVA exhibit enhanced antigen uptake, processing and a distinctive cross-presentation capacity to responding T cells. In the prophylactic vaccination setting, aOVA-pulsed mature DCs induced a strong and protective memory response. Therapeutic vaccination, on the other hand, synergized with anti-PD-1 in treating lymphoma-bearing mice under both syngeneic and allogeneic vaccination settings.

Conclusions: This study reveals that promoting endosome to cytosol antigen escape is beneficial to antigen cross-presentation. Although this strategy was shown to be promising in treating lymphomas, it remains important to test it in the context of other tumor models.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

11 ÉTUDES DE DÉTERMINATION DE LA CIBLE DE UM171 À L'AIDE DE SONDES PHOTORÉACTIVES.

Alexanne BISSON¹, Stéphane GINGRAS², Houssam ISMAIL³, Haithem BARBOUR³, Cédric DICAIRE-LEDUC², Réjean RUEL², Guy SAUVAGEAU^{3,4,5}, Anne MARINIER^{1,2,6}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Institut de recherche en immunologie et en cancérologie (IRIC)
- ² Chimie médicinale, Université de Montréal, Institut de recherche en immunologie et en cancérologie (IRIC)
- ³ Génétique moléculaire des cellules souches, Université de Montréal, Institut de recherche en immunologie et en cancérologie (IRIC)
- ⁴ Division d'hématologie, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, Qc, Canada
- ⁵ Département de Médecine, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ⁶ Département de chimie, Faculté des arts et des sciences, Université de Montréal

Les patients atteints de cancer du sang peuvent être traités par une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Les cellules souches provenant du sang de cordon ombilical sont très compatibles et occasionnent peu de complications. Ces cellules souches sont cependant peu abondantes par cordon ombilical.

Remarquablement, la molécule UM171 permet l'auto-renouvellement des cellules souches hématopoïétiques contenues dans le sang de cordon ombilical. Cette molécule développée à l'Université de Montréal est actuellement testée en clinique chez plus de 100 patients.

Bien que le mode d'action biologique d'UM171 ait été élucidé récemment, la protéine cible à laquelle se lie directement UM171 n'est pas connue. Déterminer cette protéine cible permettrait une meilleure compréhension de son mécanisme d'action au niveau moléculaire, et représenterait un avancement majeur dans la compréhension générale du mécanisme fondamental qui régit l'autorenouvellement des cellules souches.

Afin d'identifier cette protéine cible, une sonde photochimique basée sur la structure d'UM171 est synthétisée. Cette sonde photochimique comprend un groupement photoréactif, se liant de façon covalente à la protéine cible, et un groupement rapporteur, permettant de lier le complexe protéine cible/sonde photochimique à un support solide. Cela permet d'isoler la protéine cible sur un support solide afin de l'identifier par spectrométrie de masse.

Dans le cadre de ce projet, le groupement photoréactif sera un tétrazole, une approche innovante permettant une meilleure sélectivité lors de la formation de la liaison covalente. Les premières étapes de la synthèse de cette nouvelle sonde photochimique, ainsi que les études de relation structure-activité en cellules justifiant cette approche seront présentées.

13 LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL AMÉLIORE L'ATTEINTE NEUROLOGIQUE CHEZ LES RATS AVEC UNE MALADIE HÉPATIQUE CHRONIQUE INDUITE PAR LA LIGATURE DU CANAL BILIAIRE.

BOURGEOIS, Alexandre^{1,3}, VEILLETTE, F.¹, Oliveira, M.¹, DUBOIS, K.¹, TREMBLAY, M.¹, BÉMEUR, C.^{1,3}, ROSE, CF.^{1,2,3}

- ¹ Laboratoire d'Hépato-neuro, Centre de recherche du CHUM (CRCHUM), Montréal, Canada
- ² Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada
- ³ Département de Nutrition, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada

Problématique: L'encéphalopathie hépatique (EH) est un syndrome neuropsychiatrique résultant d'une maladie du foie. Il a été démontré que le microbiote intestinal influence le cerveau et l'association entre l'altération du microbiote et les maladies hépatiques ressort dans de nombreuses études.

Objectif: Explorer l'impact de la transplantation de microbiote fécal (FMT) sur le développement de l'EH de rats ayant subi une ligature du canal biliaire (BDL).

Méthodologie: Des rats mâles ont été randomisés en trois groupes : SHAM, BDL-VEH et BDL-FMT recevant quotidiennement la FMT provenant des rats SHAM. Après cinq semaines, des tests comportementaux sont effectués pour évaluer la mémoire à court/long terme, l'anxiété et la coordination motrice. Les fèces et plasma ont été collectés pour séquençage bactérien et analyses. **Résultats**: Les BDL-VEH ont développé une perte de mémoire à court/long terme et une perte de coordination motrice comparée aux rats SHAM. Cependant, les altérations neurologiques sont prévenues dans le groupe BDL-FMT. Une modulation du microbiote a été constatée pour les rats BDL-FMT comparé aux BDL-VEH. Les cytokines (TNF-α et IL-1β) ne varient entre les groupes BDL. L'analyse des acides gras à chaîne courte dans les fèces et le plasma a montré une variation du propionate et du butyrate entre les groupes BDL. Le propionate plasmatique est positivement corrélé aux scores de comportement.

Discussion: Nos résultats démontrent que la FMT améliore la mémoire et la coordination motrice chez les rats BDL. La FMT conduit à un nouveau profil spécifique du microbiote avec la présence du propionate comme métabolite à explorer.

15 OPTIMISATION DE LA COMPOSITION DES LNP AFIN DE CO-DÉLIVRER DES MIARN ET DES AGENTS CHIMIOTHÉRAPEUTIQUES.

CATALDI SABINO DE ARAÚJO, Catarina Maria¹, PASSOS GIBSON, Victor¹, TAHIRI, Houda², HARDY, Pierre^{1,2,3}

- ¹ Departments of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Quebec, QC H3T 1C5, Canada
- ² Research Center of CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Quebec, QC H3T 1C5, Canada
- ³ Departments of Pediatrics, Université de Montréal, Quebec, QC H3T 1C5, Canada



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Introduction: Retinoblastoma (Rb) is children's most common type of intraocular ocular cancer. Treatment of Rb with current remedies is risk-adapted, inefficient, and may lead to complicated cytotoxic side effects. To improve the treatments used in the clinic, the present study aims to develop co-delivery miRNA (non-coding RNAs that affect cell proliferation, differentiation, and migration) and drugs using lipid nanoparticles (LNPs) optimized for the treatment of seeded retinoblastoma. Methodology/Results: Y79 cells were seeded with different concentrations of vincristine and docetaxel. At 72h post-treatment, the viability of Rb cells was analyzed using Prestoblue, fluorometric changes were quantified using a spectrofluorometer. The 50% inhibitory concentration IC50 value for Y79 cells were 118 and 0.11 nM for vincristine and docetaxel respectively. Before screening and selecting the best miRNA candidate against retinoblastoma, we performed a functional assay to deliver miRNA GAPDH (housekeeping gene) using 4 different cationic lipids (MC3, DODMA, CSL3 and ALC 0315) which play a critical role in releasing the genetic material and endosomal escape. The delivery efficiency was evaluated through gene silencing by real-time quantitative RT-qPCR. Dynamic Light Scattering (DLS) was used to measure the hydrodynamic diameter of the LNPs and the encapsulation efficiency was quantified indirectly by fluorescence displacement assay using SYBR® Gold. Among the LNP-optimized, those containing MC3 and DODMA showed a high-efficiency encapsulation profile (85,82% and 85,12%) and the best behavior delivering miRNA.

Conclusion: Our results suggest that vincristine is the best candidate to be co-loaded with miRNA into LNP-optimized containing MC3 or DODMA valeted in the present study,

Keywords: miRNAs, cancer research, lipid nanoparticles, retinoblastoma.

17 UNE ALTERNATIVE ABORDABLE AUX CAMÉRAS OPTOÉLECTRONIQUES POUR L'ANALYSE CINÉMATIQUE DU MOUVEMENT.

Amedeo CEGLIA1, Mickael Begon2, Lama Seoud3

- Génie Biomédicale, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² École de kinésiologie et des sciences de l'activité physique, Faculté de Médecine, Université de Montréal / Centre de recherche du CHU Sainte Justine
- ³ Département de génie informatique et génie logiciel, Polytechnique Montréal / Centre de recherche du CHU Sainte Justine

L'analyse biomécanique de tâches fonctionnelles repose largement sur la mesure de la cinématique. Bien que les systèmes de caméras optoélectroniques (>100,000\$) couplés à des marqueurs réfléchissants soient la méthode la plus courante et la plus fiable, leur utilisation est coûteuse, complexe, et chronophage. Les systèmes sans marqueurs (e.g., centrales inertielles, caméras de profondeur/couleur) combinés à l'intelligence artificielle émergent pour l'analyse de la marche. Leur justesse reste un défi pour le membre supérieur : complexe articulaire de l'épaule est simplifié par une articulation à trois rotations (insuffisant pour des technologies de réadaptation). Nous pensons que l'utilisation d'une caméra de profondeur peut suffire à une reconstruction précise lors d'une tâche de pédalage à bras. Pour cela, nous avons développé un algorithme temps-réel utilisant une camera de profondeur (500\$) permettant de (1) détecter des gommettes de couleurs collées sur un participant, (2) classifier ces gommettes pour avoir les marqueurs anatomiques correspondants, et (3) utiliser la position 3D des marqueurs avec un modèle squelettique pour estimer les angles articulaires. Notre algorithme a permis de détecter et classifier les 15 marqueurs placés sur le participant pour calculer les 9 degrés de liberté de l'épaule (3 articulations). Notre méthode est une alternative abordable et simple comparativement aux caméras optoélectroniques. Elle va permettre l'analyse biomécanique du membre supérieur contrairement aux méthodes sans marqueurs existantes. Nous souhaitons pour la suite comparer notre méthode avec les différents systèmes existants et évaluer la capacité de reconnaissance sans gommettes.

19 EFFETS PHARMACOLOGIQUES DE L'EXPOSITION PRÉCOCE AU TÉTRAHYDROCANNABINOL (THC) AU NIVEAU DE LA MICROGLIE DES SOURIS.

Iness CHARFI¹, Derek Robertson¹, Florian Wünnemann², Samia Fernandez³, Séverine Leclerc², Gregor Andelfinger², Graziella Di-Cristo³, Graciela Pineyro¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ² Département de pédiatrie, Faculté de médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ³ Département de neurosciences, Faculté de médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHU Sainte-Justine

La consommation du cannabis chez les adolescents augmente leur vulnérabilité à plusieurs troubles cognitifs. Nos données soutiennent le rôle de la microglie dans ce processus. En effet, en utilisant une approche des transcriptomiques unicellulaires, nous avons observé que l'administration du THC, composant psychoactif le plus abondant du cannabis à des souris adolescentes entraîne spécifiquement au niveau de la microglie, une réduction des sous-unités constitutives des complexes respiratoires. Ces changements sont également évidents au niveau de l'expression des protéines de ces unités avec une réduction de l'expression du NDUFB8, une des enzymes du complexe I respiratoire, dans la microglie des souris traitées au THC ainsi qu'au niveau des cultures primaires de microglie traitée au THC. Ceci dépend du récepteur cannabinoïde CB2R puisque son antagoniste AM630 bloque les effets du THC sur le NDUFB8 dans les deux modèles. Le traitement au THC a perturbé la respiration mitochondriale évaluée par la technique Seahorse. Puisque la perturbation de la fonction des complexes respiratoires est associée à une augmentation de la phagocytose microgliale affectant nocivement les neurones par un élagage synaptique excessif, nous avons évalué si l'exposition précoce au THC induit un excès d'élagage des neurones. Nous avons démontré que le THC réduit les épines dendritiques au niveau apical et basal. Nous étudierons si le blocage du CB2R protège contre l'excès d'élagage et si l'administration précoce du THC



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

induirait des troubles cognitifs réversibles avec le blocage du CB2R. Ainsi, nous fournirons un aperçu sur les mécanismes de vulnérabilité des adolescents aux inconvénients d'une telle consommation.

21 RÔLE DE LA PROTÉINE P21-ACTIVATED KINASE 2 (PAK2) DANS L'ANGIOGENÈSE ET LE MICROENVIRONNEMENT TUMORAL.

Jeanne CORRIVEAU¹, Chantal Delisle¹, Yassine El Bakkouri¹, Marie-Anne Goyette², Jean-François Côté^{2,3}, Jean-Philippe Gratton¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)
- ³ Département de médecine, Faculté de médecine, Université de Montréal

L'angiogenèse tumorale, qui est la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants, est essentielle à la croissance des tumeurs solides. Il a été montré que la protéine p21-activated kinase 2 (PAK2) est impliquée dans les cascades de signalisation de deux facteurs pro-angiogéniques, le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) et l'angioporétine-1, menant à la migration des cellules endothéliales, une étape essentielle à l'angiogenèse. Le projet vise donc à définir le rôle de la protéine PAK2 lors de l'angiogenèse tumorale. À l'aide d'un modèle de souris transgéniques (pdgfb-iCreER;PAK2^[l/f]) permettant la suppression de PAK2 dans les cellules endothéliales suite à l'administration de tamoxifène, nous montrons que la perte d'expression endothéliale de PAK2 lors de la croissance tumorale réduit la taille et la vascularisation des tumeurs. La vascularisation des tumeurs dans lesquelles la protéine PAK2 a été supprimée se retrouve normalisée en comparaison aux tumeurs implantées chez les souris témoins. L'analyse transcriptomique des tumeurs montre que la suppression de PAK2 dans les cellules endothéliales favorise l'immuno-sensibilité des tumeurs. La suppression de PAK2 favorise l'infiltration de cellules *natural killer* et de cellules dendritiques dans les tumeurs dépourvues de PAK2 endothéliale. La perte d'expression de PAK2 dans les cellules endothéliales augmente la sécrétion de CXCL10, une chimiokine connue pour influencer les profils immunitaires et vasculaires des tumeurs. Ainsi, la perte d'expression de PAK2 dans les cellules endothéliales altère l'angiogenèse et reconditionne le microenvironnement tumoral, identifiant l'inhibition de PAK2 comme une thérapie anti-angiogénique potentielle favorisant la sensibilisation immunitaire des tumeurs.

23 ÉTUDE DE L'IMPACT D'UN ENVIRONNEMENT SÉNESCENT SUR LA SUPPRESSION TUMORALE.

Monica CRUZ¹², Basma Benabdallah¹, Gaël Moquin-Beaudry¹, Yuanyi Li¹, Christian Beauséjour¹,²

- ¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de Recherche, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine; Montréal, Québec, Canada

Senescent cells (SCs) influence tumor incidence and growth through several mechanisms, the most important one being a direct mitogenic effect exerted by the Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP). Moreover, other studies have shown that the SASP prevents tumor rejection by inducing an immunosuppressive microenvironment. At the opposite, SCs were also shown to accelerate tumor infiltration by NK cells. According to this conflicting literature, the impact of senescence on tumor growth, in an immune-competent host, is still unclear. Likewise, the impact in a humanized setting is also totally unknown. Our laboratory recently developed iPSC-derived autologous tumor models that can be rejected in humanized mice. Using these models, our results showed that senescent fibroblasts injected into the tumor environment (either subcutaneously or orthotopically), accelerate the growth of hepatic-like and lung epithelial tumors, respectively. This was independent of the inducer of senescence (ionizing radiation or oncogene-induced). However, in certain conditions, senescent fibroblasts impaired tumor rejection in the lung orthotopic model. This is likely explained by our in vitro observations showing that senescent fibroblasts can trigger Netosis and kill immune cells through, at least in part, modulation of Fas-L expression. In conclusion, there is a critical need to determine the impact of a senescent stroma on the growth of several types of tumors in a humanized setting to predict the outcome of cancer treatments better.

25 MATURATION TRANSCRIPTOMIQUE ET EPIGENOMIQUE TEMPS DEPENDANTE DE SPHEROIDES CANCEREUX AFIN DE MIEUX REPLIQUER LES TUMEURS *IN SITU* ET LES CIBLER PAR CRIBLAGE DE MEDICAMENTS.

Anaïs DARRACQ^{1,2}, Nicolas Sgarioto², Marielle Huot², Gabrielle Mcinnes^{1,2}, Elisa Clement^{1,2}, Antoine Meant^{1,2}, Mariya Kryvoshey^{1,2}, Nazanin Rohani Larijani³, Anne E.G. Lenferink³, Alexandra Langford², Oscar Villaneuva⁴, François Marois², Maxime Caron², Pascal Saint-Onge², Severine Leclerc², Gaël Cagnone², Gregor Andelfinger², Daniel Sinnett^{2,5}, Stéphane Richard⁴, Serge Mcgraw^{2,6} & Noël J-M Raynal^{1,2}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche du centre hospitalier universitaire Sainte-Justine
- ³ National Research Council



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

- ⁴ Lady Davis Research Institute, McGill University
- ⁵ Département de pédiatrie, Université de Montréal. 6Département d'obstétrique-gynécologie, Université de Montréal

The gap existing between preclinical models in oncology and tumours *in vivo* hinders drug development. Around ninety-five percent of anticancer drugs tested in clinical trials do not obtain approval, suggesting that most preclinical models fail to predict drug efficacy in patients. Current drug discovery in oncology has mainly relied on high-throughput drug screens and preclinical studies using cancer cell lines in two-dimensional (2D) cultures. While, 2D cultures poorly replicate tumour biology, interest is gradually turning to three-dimensional (3D) cell culture models to improve clinical translation and therapeutic predictability of preclinical research. However, the 3D culture conditions, which most faithfully replicate tumour biology, remain to be determined. Here, we established a method, adaptable for drug screenings to produce 3D cancer spheroids, which better replicate the transcriptome of in vivo tumours, through a time-dependent maturation process. Interestingly, 3D culture mediated post-translational modifications in histone proteins over time, without affecting DNA methylation patterns. These changes peaked in mature 3D spheroids after 3 weeks of culture, but were lacking in early stage 3D spheroids and 2D cultures. This maturation process was validated in various 3D spheroid models of non-small cell lung cancer, triple-negative breast cancers and neuroblastoma. Importantly, 3D spheroid maturation improved therapeutic predictability of drug screenings. Indeed, mature 3D spheroids were resistant to compounds that failed in clinical trials while demonstrating novel pharmacological vulnerabilities. Collectively, our protocol supports the implementation of a time-dependent maturation process in 3D spheroid culture, to establish drug discovery models that better replicate tumours *in vivo*.

27 LE MYSTÈRE DERRIÈRE LE DÉVELOPPEMENT DE L'ARBORISATION AXONALE DES NEURONES DOPAMINERGIQUES.

Raphaëlle DENIS^{1, 3}, Samuel Burke^{1, 3}, Alex Tchung^{2, 3}, Marie-Josée Bourque^{2, 3}, Nicolas Giguère^{2, 3}, Louis-Éric Trudeau^{1, 2, 3}

- ¹ Département de neurosciences, Faculté de médecine, Université de Montréal,
- ² Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ³ Groupes de recherche SNC et CIRCA

Les neurones dopaminergiques (DA) de la substance noire compacte (SNc) et de l'aire tegmentaire ventrale (VTA) sont connus pour leur arborisation axonale très développée et leur nombre de terminaisons axonales plus élevé que la plupart des autres neurones. Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent le développement de ces caractéristiques sont inconnus. L'objectif principal est de mieux comprendre le développement de l'arborisation axonale des neurones DA et les mécanismes impliqués. Notre principale hypothèse est que les neurones DA développent une arborisation axonale exceptionnellement grande, soit parce que leur cinétique de croissance est plus rapide ou parce qu'ils continuent à croître plus longtemps que les autres neurones. Pour quantifier la croissance, une approche de vidéomicroscopie et l'utilisation de souris transgéniques exprimant la protéine fluorescente TdTomato dans les neurones DA ou les neurones glutamatergiques du thalamus seront utilisées. Nos résultats révèlent qu'il n'y a pas de différence significative dans le taux de croissance axonale au cours des premières 24h lorsqu'on compare les neurones DA de la SNc aux neurones DA de la VTA ou aux neurones à glutamate. Cependant, les données préliminaires obtenues à 3 DIV suggèrent qu'à ce stade, les neurones DA de la SNc ont tendance à avoir une arborisation axonale plus importante que les autres groupes. Nous sommes en train de finaliser une comparaison plus complète de la croissance axonale à 3 et 7 DIV. Ce projet permettra de mieux comprendre le développement des neurones DA et leur vulnérabilité dans la maladie de Parkinson.

29 IDENTIFICATION DES CIBLES MOLECULAIRES ALTERNATIVES DE LA PROSCILLARIDIN A DANS LES CANCERS MYC-DÉPENDANTS.

Rahinatou DJIBO¹², Noël J-M Raynal¹², Rafael Najmanovich¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ² Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, QC, Canada

Proscillaridin A (PSD-A) is a cardiac glycoside known for its inhibition of the sodium potassium pump (Na⁺/K⁺ ATPase). Recent research from Dr Raynal's group reported that PSD-A induced a rapid loss of MYC protein expression and produced anti-proliferative effects in MYC-driven cancer cell lines MOLT4, NALM6 and RD cells, through a mechanism independent of the Na⁺/K⁺ ATPase inhibition, while no effect was observed in the non-MYC-driven cancel cell lines A549 and SW48 cells. However in order to repurpose PSD-A in oncology, it is essential to identify the target(s) responsible for its activity. Our main goal is to uncover a novel actionable target that specifically targets MYC-driven cancer cells through the use of computational biophysics approaches. To do so, we first defined a transcriptomic signature of MYC-driven cancer cell lines that constitute of genes that are upregulated in MOLT4 and RD cells as compared to A549 cells. A total of 1187 protein-coding genes represent the target dataset. We then compared the known binding site of PSD-A (on Na⁺ /K⁺ ATPase pump) to the cavities of the proteins in the target dataset. In parallel we performed molecular docking simulations of two cardiac glycosides (Proscillaridin A and Bufalin) to evaluate the binding possibilities on each



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

target and generate protein-ligand complexes. We used a docking score threshold value (CF ≤ -150 AU) to select cavities in which the cardiac glycosides bind with a good binding affinity. A total of 243 cavities representing 210 unique proteins passed the threshold. Furthermore, we will perform molecular dynamics simulations followed by binding free energy calculations of the selected docked complexes. We will then validate selected off-targets through in-vitro assays.

31 FONCTION DE ALK1 DANS L'HETEROGÉNEITÉ NEUROVASCULAIRE.

Elise DRAPÉ¹, J. Howard², G. Cagnone², Js. Joyal², B. Larrivée³ And A. Dubrac⁴

- ¹ Département de pharmacologie et de physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ² Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
- ³ Département d'ophtalmologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Centre de recherche del'Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- ⁴ Département de pathologie et de biologie cellulaire, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Centre derecherche du CHU Sainte-Justine

Introduction: Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia of type 2 is a disorder caused by ALK1 mutations, a receptor for BMP9/10 and characterized by arteriovenous malformations (AVMs), abnormal connections between arteries and veins. 10-20% of patients develop cerebral AVMs, and most AVMs develop in the brain's superficial vascular network suggesting a cerebral vascular heterogeneity for ALK1signaling. We aim to identify spatial vascular regulation of ALK1 signaling in the brain and new mechanisms regulating the formation of bAVMs.

Results. Using inducible and endothelial-specific *Alk1* (*Alk1*iEKO) mutant mice, we showed that loss of ALK1 signaling induced ECs proliferation and vascular malformations in the brain's superficial vascular plexus (PNVP, perineural vascular plexus) but not in the brain parenchyma as found in patients. To identify the role of ALK1 in these two regions, we performed sc*RNA*seq. Our results show distinct and specific gene signatures between PNVP and the brain's EC clusters. While we observe a decrease of ALK1 signaling in both vascular beds of *Alk1*iECKO mice, we find more changes in the PNVP's ECs. Indeed, we observe an increase of proliferating ECs and a new angiogenic EC cluster only in the *Alk1*iECKO PNVP. Furthermore, this new cell cluster shares marks already identified in human AVMs.

Conclusions: Contribution of each phenotype to vascular malformations is still under investigation, butthis project aims to dissect the molecular mechanisms involved in AVM formation. The discovery of AVMs markers will have important consequences for the treatment of HHT patients by opening a new therapeutic pathway with the reapplication of well-known drugs to other diseases.

33 INGENIERIE DES CELLULES TUEUSES NATURELLES CONTRE LES CELLULES SENESCENTES INDUITES PAR THERAPIE ANTI-CANCEREUSE.

Joshua DULONG^{1,2}, Louise Rethacker^{2,3}, Marie-Ève Lalonde⁴, Basma Benabdallah², Romain Gioia², Kathie Béland², Richard Marcotte^{3,4}, Elie Haddad^{2,3,5} et Christian Beauséjour^{1,2}

- ¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
- ² Centre de Recherche du CHU Ste-Justine, Montréal, Québec, Canada
- ³ Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
- ⁴ National Research Council Canada, 6100 Royalmount Avenue, Montreal, QC H4P 2R2 Canada
- ⁵ Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

The accumulation of senescent cells following exposure to genotoxic stresses (i.e. cancer therapy) is detrimental and contributes to many diseases. It has become evident that not all senescent cells are eliminated from tissues and that some cells employ diverse mechanisms to evade immune clearance, including against natural killer (NK) cells. NK cells are of high interest in immunotherapy since they typically do not induce graft-versus-host disease, making them the ideal off-the-shelf therapy. Previous studies showed that senescent fibroblasts could escape NK cell clearance by inducing the expression of the ligand HLA-E and the ganglioside GD3. Bindings of HLA-E to its receptor NKG2A or sialic acids present on GD3 to their receptor Siglec-7 inhibit NK cell cytotoxicity. In order to increase lysis of senescent cells, we generated (1) NKG2A knockout (KO) iPSC and NK cells using CRISPR technology, and (2) treated senescent cells with sialidase or used neutralizing antibody targeting Siglec-7. Yet, these two approaches failed at increasing the lysis of ionizing radiation-induced senescent fibroblasts suggesting that senescent cells have other resistance mechanisms. Because it is possible to generate multiple genetic alterations at the iPSC level, we are currently planning a whole-genome CRISPR screen in senescent fibroblasts and in NK cells to identify new mechanisms of immune evasion. Our study should provide insights into NK-cell mediated killing with the goal to generate the ultimate off-the-self senolytic cell therapy.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

35 COMPARAISON DE LA CAPACITÉ DES MOTIFS MOLÉCULAIRES ASSOCIÉS AUX PATHOGÈNES LPS ET POLY (I: C) À DÉCLENCHER UNE PATHOLOGIE SEMBLABLE À LA MALADIE DE PARKINSON CHEZ DES SOURIS PARKIN KO.

Amandine EVEN^{1,3}, Sriparna MUKHERJEE^{1,3}, Soraya PAQUEREAU--GABOREAU^{1,3}, Alex TCHUNG ^{1,3}, Priyabrata HALDER^{1,3}, Marianne BOUTIN^{1,3}, Nicolas GIGUERE^{1,3}, Marie-Josée BOURQUE^{1,3}, Louis-EricTRUDEAU^{1,2,3}

- ¹ Department of pharmacology and physiology, Faculty of medicine, Université de Montréal
- ² Department of neurosciences, Faculty of medicine, Université de Montréal
- ³ SNC and CIRCA research groups

In recent years, strong links between inflammation and the development of Parkinson's disease (PD) have been highlighted but the underlying mechanisms are unclear. An early form of PD is associated with mutations in Parkin, a protein involved in the regulation of mitophagy and of mitochondrial antigen presentation to the immune system. Chronic treatment with lipopolysaccharides (LPS) has previously been reported to induce an exacerbated loss of dopamine (DA) neurons in Parkin- deficient mice. However, more work is required to test more broadly the hypothesis that repeated exposure to molecular patterns associated with pathogens such as lipopolysaccharide (LPS) or Poly(I:C) mimicking bacterial or viral inflammation, leads to early and exacerbated pathogenesis in Parkin KO mice.

Parkin-/- mice or WT littermates were injected intraperitoneally 4 times at 1-week interval with either LPS (1-3mg/kg), Poly(I:C) (20mg/kg), or alternating administration of both.

Our first results reveal higher microglial activation in the brain of Parkin KO mice treated with chronic LPS compared to WT after 4 injections. Initial behavioral profiling revealed that at 3 months after the end of the treatment, no strong motor impairments are detected in the mice. We are now evaluating the integrity of the DA system in these mice and the physiological properties of microglia, including their phagocytic capacity. Our results are in keeping with the hypothesis that loss of function of Parkin exacerbates inflammatory responses and microglial activation induced by pathogens.

37 LES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES EXPRIMANT LE THYMOPROTÉASOME CONFÈRENT UNE IMMUNITÉ ANTI-TUMORALE PROTECTRICE VIA L'AMORÇAGE CROISÉ DES CELLULES DENDRITIQUES ENDOGÈNES.

Jean-Pierre Bikorimana¹, **Roudy FARAH**¹, Nehme El-Hachem^{2,3}, Abed El-Hakim El-Kadiry ⁴, Jamilah Abusarah⁵, Natasha Salame⁶, Riam Shammaa^{7,8,9*} and Moutih Rafei^{1,4,5,10*}

- ¹ Department of Microbiology, Infectious Diseases and Immunology, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ² Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Ste-Justine Research Center, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ³ Genomics Institute of Precision Medicine, American University of Beirut, Beirut, Lebanon
- ⁴ Department of Pharmacology and Physiology, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada 5Department of Microbiology and Immunology, McGill University, Montreal, QC, Canada
- ⁶ Department of Biomedical Sciences, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ⁷ Department of Family and Community Medicine, University of Toronto, Toronto, ON, Canada
- ⁸ Canadian Centers for Regenerative Therapy, Toronto, ON, Canada
- ⁹ Intellistem Technologies Inc., Toronto, ON, Canada
- ¹⁰ Molecular Biology Program, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

The thymoproteasome (TPr) complex plays an important role during intrathymic CD8 T-cell development. However, its functional contribution to peripheral T-cell immunity remains ill defined. Previous studies in our lab have demonstrated that mesenchymal stromal cells (MSCs) engineered to express the TPr complex (MSC-TPr) exhibit a dendritic cell cross-priming-dependent therapeutic efficacy with a hindering role played by interfering myeloid cells. This study aims to investigate the interaction between MSC-TPr and peritoneal myeloid populations as a means to identify the interfering subpopulation in order to optimize the vaccine's potency. Stained MSC-TPr will be administrated intraperitoneally to mice followed by a peritoneal lavage to characterize the interacting subpopulation through flow cytometry. Furthermore, a series of vaccination trials will be performed following various pre-treatments aimed at modifying the myeloid:DC landscape. These include: i) anti-CSF1R administration to deplete myeloid cells expressing CSF1R, ii) pre-treatment of MSC-TPr with anti-CD47 to study the role of this "don't eat me" signal in blocking MSC-TPr efferocytosis, iii) thioglycolate administration to increase the small to large peritoneal macrophage ratio, and iv) administration of recombinant FLT3L and/or GM-CSF to stimulate endogenous dendritic cells. Peritoneal lavage will be also performed following these pre-treatments. This study will enhance our understanding of the MSC:myeloid cell cross talk, which would allow for the optimization of the vaccine as well as the potential identification of novel markers specific to a suppressive myeloid population(s).



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

39 EFFET DE L'INHIBITION DU TRANSPORTEUR À GLYCINE 1 SUR LA MALADIE DE PARKINSON ET LES COMPLICATIONS INDUITES PAR LA LÉVODOPA.

Imane FROUNI et Philippe Huot

Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal et Institut Neurologique de Montréal

Le principal traitement de la maladie de Parkinson est la lévodopa, qui malheureusement provoque à long terme des complications tel que la dyskinésie.

Jusqu'à présent, les traitements ont cherché à atténuer la transmission glutamatergique comme en bloquant le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA). En revanche, l'activation du site de liaison à la glycine sur les récepteurs NMDA est nécessaire pour leur réponse physiologique.

lci, nous avons évaluer l'effet de l'inhibition du transporteur à glycine 1 (GlyT1) sur le parkinsonisme et l'expression de la dyskinésie. L'hémi-parkinsonisme a été induit par injection stéréotaxique de la 6-hydroxydopamine dans le faisceau médial droit du télencéphale chez des rates Sprague-Dawley. L'effet de bitopertin sur le parkinsonisme en monothérapie et en concomitance avec une faible dose de lévodopa a été évalué. La dyskinésie a été induite par une administration répétée de la lévodopa pour provoquer des mouvements involontaires anormaux. L'efficacité de bitopertin sur la dyskinésie à la suite d'une administration aiguë et chronique a été déterminée.

Bitopertin (0,3 mg/kg), administrée seule, a réduit la sévérité du parkinsonisme de 35 %. En combinaison d'une faible dose de lévodopa, bitopertin (3 mg/kg) a augmenté l'effet antiparkinsonien de la lévodopa de 36 %. De plus, l'administration aigue de bitopertin (0,03 mg/kg) en combinaison avec la lévodopa a réduit la sévérité de la dyskinésie de 27 % et il n'y avait aucune tolérance au bénéfice anti-dyskinétique après 4 semaines d'administration.

Nos résultats suggèrent que l'inhibition de GlyT1 peut simultanément réduire la sévérité du parkinsonisme et de la dyskinésie induite par la lévodopa.

41 LE ROLE DE LA VOIE NAD+ DANS LA PATHOPHYSIOLOGIE DE L'OSTEOARTHROSE.

Mohamed GALAL FARES

Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal et Centre de recherche du CHUM

L'arthrose (OA) est la maladie musculo squelettique la plus commune. Elle est caractérisée par une dégénérescence progressive de l'articulation dû à la dégradation lente du cartilage. À l'échelle mondiale, la population gériatrique est la plus touchée par cette maladie. Les traitements actuels ne visent qu'à atténuer les symptômes. Les suppléments de NAD+ se sont révélés potentiellement prometteurs dans le traitement de nombreuses affections. Le rôle de la voie du NAD+ est mis en évidence dans la pathogenèse de plusieurs maladies, mais il est très peu étudié dans les tissus articulaires et l'arthrose. Le NAD+ (Nicotinamide adénine dinucléotide) est un coenzyme central du métabolisme. Il joue un rôle essentiel dans plusieurs processus physiologiques clés. Des études antérieures ont montré que la supplémentation en précurseurs de la NAD+ était bénéfique dans plusieurs contextes cliniques. Cependant, cette approche n'a pas été évaluée de manière approfondie dans le cas de l'arthrose.

Objectifs: Caractériser l'effet de quatre précurseurs (NA, NAM, NMN, NR) de NAD+ sur les événements clés impliqués dans la pathogenèse de l'arthrose, dans des chondrocytes en culture et les explants de cartilage; Définir les mécanismes d'action du précurseur de NAD+ sélectionné; Tester les effets anti-OA du précurseur de NAD+ sélectionné dans un modèle animal de la maladie. **Hypothèses:** La supplémentation en NAD+ inhibe les réponses inflammatoires et cataboliques , in vitro; La supplémentation en NAD+ est protectrice, in vivo, dans un modèle animal d'OA.

43 L'EGCG INHIBE LA CAPACITÉ DES EXOSOMES DÉRIVÉS DES CELLULES CANCÉREUSES DU SEIN TRIPLE NÉGATIFS MDA-MB-231 À INDUIRE L'INFLAMMATION ET LA SÉNESCENCE DES CELLULES SOUCHES PRÉADIPOCYTAIRES.

Narjara GONZALEZ SUAREZ¹, Yuniel Fernandez-Marrero², Mathieu P.A. Hébert³, Luc H. Boudreau³, and Borhane Annabi¹

- ¹ Chaire de Recherche en Prévention et Traitement du Cancer, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC. Cell Biology Department
- ² NuChem Sciences, Montreal, QC, Canada, H4R 2N6
- ³ Department of Chemistry and Biochemistry, Université de Moncton and New Brunswick Center for Precision Medicine, Moncton, NB, Canada

BACKGROUND: Triple-negative breast cancer (TNBC) cells' secretome induce a pro-inflammatory phenotype in human adiposederived mesenchymal stem cells (hADMSC). This can be prevented by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG). The impact of EGCG on the paracrine regulation of the extracellular vesicles (EVs) within the secretome remains poorly understood.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

METHODS: EVs were obtained from a TNBC-derived serum-starved MDA-MB-231 treated or not with EGCG under normoxic or hypoxic (<1% O₂) culture conditions. RNA-Seq analysis was used to assess the genetic content within EVs. The modulation of inflammatory and senescence markers in hADMSC was evaluated by RT-qPCR using cDNA arrays and validated by immunoblotting. Protein profiler phosphor-kinase array was used to assess the induction of signaling pathways.

RESULTS: While hypoxic culture conditions did not significantly alter the genetic content of MDA-MB-231-secreted EVs, the addition of EGCG significantly modified EVs genetic material at low oxygen tension. hADMSC treated with EVs, increased the gene expression of cancer-associated adipocyte markers CXCL8, CCL2 and IL-1β, among other pro-inflammatory markers. Concomitantly, EVs isolated from MDA-MB-231 treated with EGCG (EGCG-EVs) downregulated CCL2 and IL-1β, while inducing higher expression of CXCL8 and IL-6 levels. EVs activated CHK-2, c-Jun, AKT and GSK-3β signaling pathways in hADMSC, whereas EGCG-EVs specifically reduced the latter two as well as the serum starvation-induced senescence markers p21 and β-galactosidase. Also, the mitochondrial content was found reduced within the TNBC cells-derived EVs upon EGCG treatment.

CONCLUSION: The chemopreventive properties of circulating diet-derived polyphenols may efficiently target the paracrine regulation that TNBC cells exert upon their surrounding adipose tissue.

45 IMPACT DE LA CO-CULTURE 3D SUR LE TRANSCRIPTOME ET LE PHÉNOTYPE CELLULAIRE.

Federico GRANADOS UNGER^{1,2}, Anaïs Darracq^{1,2}, Noël Raynal^{1,2}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine

Drug discovery in oncology currently relies on preclinical studies using cancer cells growing in two-dimensional (2D) culture. However, 2D culture poorly reflects tumour biology, as it lacks the three-dimensional (3D) architecture (i.e., microenvironment) that affects the phenotype and gene expression of malignant cells, hindering drug development. This has led to the development of 3D cell culture models, such as tumour spheroids, for pharmacological studies. Indeed, their microenvironment causes transcriptomic and phenotypic changes that better replicate tumour biology and increase the relevance of drug screens.

The goal of my research is to develop more complex culture conditions, such as 3D co-culture (mixing different cell types together) that may better recapitulate the *in situ* tumour context. To achieve this goal, I will develop a 3D co-culture model of fluorescent non-small cell lung cancer (NSCLC) cells and lung fibroblasts. The latter form an important part of the NSCLC tumour microenvironment, as these cells confer an increased drug resistance and proliferative capabilities to cancer cells. I will characterize the effects of 3D co-culture on the transcriptome and phenotype of the cells present in the model and will subject it to high-throughput drug screens. My research project will reveal the effects of intercellular interactions and the 3D architecture of the developed co-culture spheroid model on cell phenotype and gene expression. The conclusions emerging from my research project may bring the rationale to integrate routinely 3D co-culture in wet labs and replace 2D monoculture within the preclinical studies that form part of the drug development process.

47 EFFICACITÉ D'UN ANTAGONISTE ALLOSTÉRIQUE D'IL-1R, RYTVELA, À TRAITER LE TRAVAIL PRÉ-TERME POUR PRÉVENIR LES DOMMAGES AUX TISSUS NÉONATAUX LIÉS À LA NAISSANCE PRÉMATURÉE.

Tiffany HABELRIH^{1,2}, Béatrice Ferri^{1,2}, Sarah-Eve Loiselle^{1,2}, Xin Hou¹, France Côté^{1,2}, Kevin Sawaya², Allan Reuben², Christiane Quiniou², Sylvain Chemtob^{1,2}

- ¹ Département de Pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ² Centre de recherche, CHU Sainte-Justine, Montréal, QC, Canada

La naissance prématurée (NPM) est la cause primaire de mortalité néonatale. L'interleukine-1 (IL-1) possède un rôle primordial dans la pathophysiologie de la NPM vu qu'elle induit la production de médiateurs pro- inflammatoires menant au travail pré-terme. L'inflammation utéroplacentaire, néfaste pour le fœtus, entraine des séquelles à vie. Il n'existe aucun traitement efficace à contrer ceci, d'où la nécessité de développer des nouvelles interventions. Nous avons développé un peptide antagoniste du récepteur d'IL-1, rytvela, qui est efficace à prévenir le travail pré-terme en inhibant les voies activant AP-1 (inflammation) tout en préservant la signalisationde NF-kB (immunovigilance). L'étude détermine le délai maximal d'administration de rytvela en traitement du travail préterme pour freiner la réponse inflammatoire et prolonger la gestation. L'efficacité de rytvela serait maximale avec un plus bref délai d'administration post-induction du travail pré-terme.

Rytvela (2 mg/kg/jour) a été injecté à entre 0,5h et 6h après l'induction du travail pré-terme par le LPS à G16 dans des souris. Les tissus gestationnels ont été prélevés à G17 pour quantifier les médiateurs pro- inflammatoires. Les taux de prématurité, de survie et le poids des nouveau-nés ont été mesurés. Les tissus néonataux ont été prélevés à PT7 pour analyse histologique.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

L'administration de rytvela jusqu'à 4 heures après l'induction du travail pré-terme permet une diminution flagrante du taux de prématurité (diminution jusqu'à 66% p<0,05), promeut le développement néonatal (délai de 2h, p<0,05) et diminue l'inflammation fœto-maternelle (délai de 6h, p<0.05).

Rytvela représente une voie prometteuse pour contrer les répercussions néfastes engendrées par la NPM et serait un développement pré-clinique majeur à s'attaquer à ce besoin non-comblé.

49 L'ARCHITECTURE EVEIL/SOMMEIL AINSI QUE L'ACTIVITÉ ÉLECTROCORTICOGRAPHIQUE SONT ALTÉRÉES DANS DEUX MODÈLES MURINS DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.

Audrey HECTOR¹⁻³, Julien DUFORT-GERVAIS³, Maria DA COSTA CAIADO², Chloé PROVOST³, Karl FERNANDES⁴, Valérie MONGRAIN^{2,3,5}, Jonathan BROUILLETTE^{1,3}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche du CHUM, Montréal, Québec
- ³ Recherche CIUSSS-NIM
- ⁴ Department of Medicine and Health Sciences, Faculté de Médecine, Université de Sherbrooke
- ⁵ Département des Neurosciences, Faculté de médecine, Université de Montréal

In Alzheimer's disease (AD), sleep alterations are among the first clinical symptoms observed. There is mounting literature indicating that soluble amyloid-beta oligomers (Aβo) are particularly neurotoxic and their specific contribution to sleep disturbances remains to be defined. Recently, dysregulation of lipid metabolism was reported in AD and 3xTg-AD mice (3xTg) but its relation to sleep also needs to be assessed. Therefore, our work has two objectives: define the effect of Aβo on different sleep variables and verify whether stearoyl-coA desaturase (SCD), an enzyme involved in lipid metabolism, contributes to sleep disturbances in 3xTg. Chronic hippocampal Aβo-injections were done in wild-type male rats, and electroencephalographic (EEG) measurements were performed to define wake/sleep alterations. Female 3xTg received a 28 day-treatment with an SCD inhibitor, and EEG recordings were performed at 14- or 28-days post-treatment. Results show that the time spent in wakefulness, slow-wave sleep (SWS) and paradoxical sleep was preserved in Aβo-injected rats. However, EEG spectral activity during wakefulness was increased by Aβo for slow-wave activity (SWA; 0.5-5 Hz) and low-beta activity (16-20 Hz), whereas it was decreased during SWS for theta (5-9 Hz) and alpha activity (9-12 Hz). Moreover, the theta/SWA ratio was decreased during wake and SWS. Concerning 3xTg, they spend more time in SWS during their active period compared to littermates. Ongoing analyses will assess the impact of SCD on sleep variables in 3xTg. The results support the presence of sleep alterations in AD models and suggest that sleep phenotypes could serve as a non-invasive marker of early AD.

51 IMPACT DIRECT DES OLIGOMÈRES AMYLOÏDE-BÊTA SUR LA LIBÉRATION DU GLUTAMATE ET L'HYPERACTIVITÉ NEURONALE DANS L'HIPPOCAMPE DE RAT.

Vincent HERVÉ¹, Jonathan Brouillette¹

Un des principaux marqueurs observés dans la Maladie d'Alzheimer (MA) est l'apparition de plaques amyloïdes causées par l'agrégation (oligomérisation) du peptide amyloïde-bêta (Aβ). Sur la base de modèles animaux, d'expériences *in vitro* ainsi que des études chez l'humain, l'hyperactivité neuronale induite par les oligomères Aβ est apparue comme une caractéristique fonctionnelle précoce de la MA, qui déclenche des déficits synaptiques, un dysfonctionnement de la mémoire et une neurodégénérescence.

Plusieurs études suggèrent que les oligomères Aβ diminue l'activité inhibitrice du système GAbAergique, ce qui entraîne une activation excessive du système glutamatergique. Notre objectif est d'évaluer simultanément chez le même animal l'activité neuronale, le niveau de relâche de glutamate et GABA ainsi que la neurodégénérescence induits par l'injection chronique d'oligomères Aβ dans l'hippocampe de rats.

Une électrode et une sonde de microdialyse sont placées dans l'hippocampe de rat. Ceci permettant d'effectuer une injection quotidienne sur 6 jours d'oligomères Aβ ou d'Aβ"scramble" contrôle, de collecter le liquide cérébrospinal et de réaliser des enregistrements électroencéphalographique (EEG) simultanément. Ce dispositif permet d'évaluer chez le même animal l'impact d'oligomères Aβ sur l'activité neuronale locale et sur la libération de neurotransmetteurs sur le même animal (glutamate, GABA). La neurodégénérescence et l'inflammation seront évalués par microcopie à fluorescence. Les premières injections ont été effectuées et permis l'optimisation de nos techniques. Cette étude permettra donc d'établir pour la première fois l'effet direct des oligomères Aβ sur la quantité de glutamate libérée et l'activité neuronale afin de mieux comprendre la neurotoxicité associée aux oligomères Aβ.

¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

53 MÉDIATEURS INFLAMMATOIRES SYSTÉMIQUES CHEZ LES PERSONNES ENCEINTES VIVANT AVEC LE VIH SELON LE TYPE DE THÉRAPIE ANTIRÉTROVIRALE PENDANT LA GROSSESSE.

Stephanie HINDLE^{1,2}, Sylvie Girard^{2,3,4,5}, Helene C.F. Cote^{6,7,8}, Deborah Money^{8,9}, Isabelle Boucoiran^{2,3}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, QC
- ² Centre de recherche CHU Sainte-Justine, Montréal, QC
- ³ Département d'obstétrique et gynécologie, Université de Montréal, Montréal, QC
- ⁴ Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Université de Montréal, Montréal, QC
- ⁵ Département d'obstétrique et gynécologie et département d'immunologie, Mayo Clinic, MN, USA
- ⁶ Département de Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia, Vancouver, BC
- ⁷ Centre for Blood Research, University of British Columbia, Vancouver, BC
- ⁸ Women's Health Research Institute, Vancouver, British Columbia, Vancouver, BC
- ⁹ Department of Obstetrics and Gynecology, University of British Columbia, Vancouver, BC

Background: Antiretroviral therapy (ART) use during pregnancy, particularly protease-inhibitor-based regimens (PI), is linked to adverse outcomes including preterm birth. Since this outcome may be related to systemic inflammation, we sought to characterize the inflammatory profile of pregnant people living with HIV (PPLWH) by comparing their levels of inflammatory mediators in the second and third trimesters according to their HIV status and their class of ART.

Methods: Samples from 146 PPLWH treated with ART and 24 controls were retrieved from the CARMA-PREG cohort. Second and third trimester filtered plasma was analyzed via Luminex for 12 inflammatory mediators: HMGB1, GM-CSF, IFNα, IFNβ, IFNγ, IL-10, IL-17, IL-1β, IL-6, TNFα, AGP, and CRP.

Results: Multivariate analyses reveal significantly higher levels of pro-inflammatory mediators HMGB1, IL-1 β , and IL-17, and IFN γ and the antiviral cytokine IFN α during the second trimester and significantly higher levels of HMGB1, IL-17, IFN α , as well as systemic inflammatory marker CRP, and antiviral cytokine IFN β during the third trimester in the PI subgroup compared to the InSTI subgroup. The PI-subgroup was also significantly associated with preterm birth and detection of HIV-1 viral load.

Conclusion: PI-based regimens are associated with increased levels of pro-inflammatory cytokines, DAMPs, and antiviral cytokines at both the second and third trimester of pregnancy, as well as with preterm birth and the detection of HIV-1 viral load. This could point to an immunological response explaining the association between PI-based regimens and preterm birth, although further investigations into possible cellular mechanisms are necessary to support this association.

PKC-A AGISSANT VIA P38A/β MAPK ATTÉNUE LA RENTRÉE DANS LE CYCLE CELLULAIRE DES CARDIOMYOCYTES VENTRICULAIRES DE RAT NOUVEAU-NÉ ÂGÉS D'UN JOUR ET FAVORISE SIMULTANÉMENT LA RÉGULATION À LA HAUSSE D'UN PANEL DE CYTOKINES INFLAMMATOIRES.

Mariana KEBBE and Angelino Calderone Département de pharmacologie et physiologie, Université de Montréal Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec, Canada

The injured adult rodent heart contains mononucleated ventricular cardiomyocytes but were unable to re-enter the cell cycle. Moreover, the absence of a cardiac regenerative response of the injured adult rodent heart was associated with a robust inflammatory response. The serine/threonine kinase p38 α / β MAPK plays a seminal role in the inflammatory response after tissue injury. Thus, the present study tested the hypothesis that p38 α / β MAPK inhibits the cell cycle re-entry of mononucleated 1-day old neonatal rat ventricular cardiomyocytes (NNVMs) and promotes the upregulation of inflammatory cytokine mRNAs. NNVMs treated with the protein kinase C activator phorbol 12,13-dibutyrate (PDBu) for 3-days did not re-enter the cell cycle and associated with the upregulation of CCL2, CCL3, CCL12, CCL22, II-1 α , II-1 β , II-6, Reg3 β and TNF- α mRNA levels. The co-treatment of NNVMs with PDBu and the p38 α / β MAPK inhibitor SB203580 (10 μ M) led to 5-bromo-2'-deoxyuridine incorporation, nuclear presence of phosphohistone-3, the appearance of a subpopulation associated with the *de novo* expression of nestin and inhibited the upregulation of inflammatory cytokine mRNAs. PDBu treatment of NNVMs induced the protein downregulation of PKC- α , PKC- ϵ and PKC- δ isoforms and GF109203X (1 μ M) selectively attenuated PKC- α recruitment. GF109203X treatment of NNVMs inhibits the cell cycle re-entry of NNVMs and concomitantly initiates an inflammatory response. Thus, following cardiac injury, the inability of adult mononucleated ventricular cardiomyocytes to re-enter the cell cycle may be attributed in part to the local synthesis/release of inflammatory cytokines.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

57 L'ELIMINATION DES CELLULES VASCULAIRES SENESCENTES ANGPTL2+ AMÉLIORE LA COGNITION DE SOURIS ATHEROSLÉROTIQUES.

Mélanie LAMBERT^{1,2}, Geraldine MIQUEL², Véronique SÉGUIN-LÉGARÉ², Cong ZHANG^{2,4}, Frederic LESAGE^{2,4}, Nathalie THORIN-TRESCASES², Éric THORIN^{1,2,3}

- ¹ Faculté de Médecine, Département de Pharmacologie et Physiologie, Université de Montréal
- ² Institut de Cardiologie de Montréal, Université de Montréal
- ³ Faculté de Médecine, Département de Chirurgie, Université de Montréal
- ⁴ École Polytechnique de Montréal, Université de Montréal

Introduction: L'accumulation de cellules sénescentes (SnC) cérébro-vasculaires angiopoietin like-2 positive (ANGPTL2+) métaboliquement actives pourrait engendrer une dysfonction vasculaire et contribuer aux dommages neuronaux via un découplage neuro-vasculaire aboutissant aux pertes cognitives.

Hypothèse : L'élimination ciblée des SnC vasculaires ANGPTL2+ protège la fonction cérébro-vasculaire, maintient le couplage neuro-vasculaire et ralentit le déclin cognitif.

Méthodes: Des souris mâles et femelles athérosclérotiques (n=15/groupe) âgées de 6 mois ont été traitées pendant 3 mois avec un adénovirus (AAV1; 2 injections, à 6 et 7,5 mois) transportant un sh-ARN (ou sh-Contrôle) ciblant l'ANGPTL2.

Résultats: Chez les souris mâles, le traitement avec le sh-ANGPTL2 améliore la mémoire à long terme (p<0.05; test de la piscine de Morris), mais pas le débit sanguin cérébral. Le sh-ANGPTL2 augmente également la dilatation cérébro-vasculaire dépendante de l'endothélium (+68%). Dans la microcirculation cérébrale, l'expression de p21-sénescence diminue (-64%) alors que l'expression de CD34-endothélial (+183%), CD31-endothélial (+315%), collagène IV (+86%) et synaptophysine (+143%) augmente (p<0.001), suggérant une réparation microvasculaire et un meilleur couplage neuro-vasculaire avec le sh-ANGPTL2. En revanche, chez les femelles, le sh-ANGPTL2 n'impacte ni la cognition, le débit sanguin, la réparation microvasculaire ou le couplage neuro-vasculaire, malgré une meilleure fonction endothéliale (+47%; p<0.05) et une baisse de p21 (-85%, p<0.0001).

Conclusion: Bien que sh-ANGPTL2 diminue les SnC (p21+) dans la microcirculation cérébrale dans les deux sexes, les effets bénéfiques sur la cognition, la fonction endothéliale, la réparation endothéliale et le couplage neuro-vasculaire divergent démontrant la présence d'un dimorphisme sexuel en réponse à l'élimination des cellules sénescentes.

59 LES MÉCANISMES DE LEUCÉMOGENÈSE INDUITS PAR LES ONCOGÈNES SCL/TAL1 ET LMO2.

Albert LAURIN, Mathieu Tremblay, Philippe Roux et Trang Hoang

Programmes de biologie moléculaire, Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Institut de recherche en immunologie et en cancérologie (IRIC)

Introduction: SCL et LMO2 sont des facteurs de transcription dont l'expression est fréquemment activée dans des leucémies lymphoblastiques aigues de type T (T-ALL). L'activation anormale de SCL et LMO1/2 reprogramme les thymocytes normaux en cellules souches pré-leucémiques (pre-LSCs). Nos résultats antécédents indiquent que LMO2 est une protéine instable, et que l'interaction avec SCL stabilise LMO2 tout en permettant la formation d'un complexe transcriptionnel actif dans les cellules.

Objectifs : L'objectif est d'optimiser un essai quantitatif pour mesurer l'index de stabilité protéique (PSI) de LMO2 et d'identifier les mécanismes contrôlant ce processus.

Méthodes et résultats: J'ai observé une corrélation élevée entre les niveaux de SCL et LMO2 dans différentes leucémies primaires de patients T-ALL par Western blot, ce qui renforce notre hypothèse. Le système Global Protein Stability (GPS) permet de quantifier les niveaux d'une protéine d'intérêt fusionnée avec EGFP par rapport au niveau d'expression constitutive de DsRed (vecteur DsRed-IRES-LMO2/EGFP). Ainsi, l'analyse par cytométrie en flux pour établir le rapport du signal EGFP (déterminé par LMO2) sur DsRed nous permet d'évaluer la stabilité de LMO2 par cellule. Le système GPS m'a permis de constater qu'un inhibiteur du protéasome a augmenté de 2.1 fois la PSI de LMO2, indiquant que LMO2 est dégradé par le protéasome et que l'inhibiteur a stabilisé LMO2. En outre, j'ai observé une augmentation des niveaux protéiques de LMO2 induite par SCL, tandis qu'un mutant n'interagissant pas avec LMO2 n'a pas eu cet effet. Ces résultats indiquent que l'interaction de SCL stabilise LMO2. En plus, les résultats obtenus avec le système GPS suggèrent que la corrélation des niveaux de LMO2 et SCL chez les cellules de patients T-ALL serait dûe à l'interaction/stabilisation SCL/LMO2.

Conclusion et pertinence : L'essai PSI permet de clarifier les mécanismes moléculaires contrôlant la dégradation de LMO2. Cet essai quantitatif permettra par la suite d'identifier des composés chimiques pouvant affecter ce mécanisme, et ainsi développer de nouveaux agents chimiothérapeutiques qui déstabilisent LMO2.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

61 MODULATION DE L'ACTIVITÉ MICROGLIALE PAR LA MINOCYCLINE DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE : EFFET SUR LE COUPLAGE NEUROVASCULAIRE.

Benjamin LE GAC¹.2.3.4, Violaine Hubert¹.2.3, Rosanne Trépanier¹.2.3, Diane Vallerand¹.2.3, Olivia Braniff⁵, Marie-Ève Tremblay⁵ & Hélène Girouard¹.2.3.4

- ¹ Physiologie et pharmacologie, Université de Montréal
- ² Groupe de Recherche Universitaire sur le médicament (GRUM)
- ³ Groupe de Recherche sur la signalisation neurale et la circuiterie (SNC)
- ⁴ Centre interdisciplinaire de recherche sur le cerveau et l'apprentissage (CIRCA)
- ⁵ Division of Medical Sciences, University of Victoria

L'hypertension artérielle (HA) est l'élévation anormale de la pression artérielle où une activation de la microglie est observée. Les microglies sont des cellules immunitaires cérébrales jouant un rôle de surveillance de l'environnement et de régulation du couplage neurovasculaire. Ce couplage est la relation entre activité neuronale et augmentation de la perfusion sanguine. C'est un des mécanismes cérébraux altérés dans l'HA et pourrait donc être impliqué dans les altérations cognitives liées à l'HA.

Notre hypothèse est que l'HA induit une altération du couplage neurovasculaire par une activation de la microglie par le biais d'un changement de sa morphologie et/ou de son protéome. L'HA est induite par une administration chronique d'Ang II et la modulation microgliale par la minocycline. Nos résultats préliminairesmontrent que le couplage neurovasculaire, altéré dans notre modèle d'HA, est récupéré par la modulation del'activation microgliale. Cette altération ne semble pas passer par une modification morphologique microglialeaprès vérification par immunohistochimie. L'étude est en cours pour déterminer si cette altération est causéepar une modification du protéome microgliale comme le récepteur purinergique P2Y12, impliqué dans la motilité microgliale et le couplage neurovasculaire. Une analyse de cette motilité sera ainsi réalisée sur des cultures cellulaires de microglie et *in vivo* par microscopie biphotonique.

Notre projet fera, pour la première fois, la lumière sur l'axe microglie/couplage neurovasculaire dans le contexte de l'hypertension artérielle. Notre étude procurerait les assises scientifiques pour évaluer si une modulation de la microglie pouvait aussi prévenir l'impact de l'hypertension sur la santé du cerveau.

63 LA STIMULATION OPTOGÉNÉTIQUE DES NEURONES DE L'AMYGDALE BASOLATÉRALE AUGMENTE LA RECHERCHE DE RÉCOMPENSE INDUITE PAR DES STIMULI ASSOCIÉS À LA RECOMPENSE.

LECOCQ Mandy R., Abu Shamleh S., Robinson, M.J.F., Samaha A.-N

Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médicine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada Groupe de recherche sur la signalisation neurale et la circuiterie (SNC), Faculté de Médicine, Université de Montréal Centre Interdisciplinaire de Recherche sur le Cerveau et l'Apprentissage, Université de Montréal

Reward-seeking behaviour is controlled by the sights, smells, and places associated with rewards. Conditioned stimuli (CSs) and discriminative stimuli (DSs) are two distinct types of reward-associated cues. CSs occur in response to reward-seeking actions and are paired with reward effects. DSs signal reward availability (DS+) or unavailability (DS-) before any reward-seeking action. Both stimulus types powerfully regulate adaptive (e.g., eating) and maladaptive (e.g., disordered eating) reward seeking. The basolateral amygdala (BLA) is a neural hub that mediates cue-evoked reward-seeking. Here we determined if optogenetic stimulation of BLA neurons mediates reward-seeking evoked by a sucrose-associated DS+ and CS.

Female and male Sprague Dawley rats learned to discriminate between a 1-min DS+ (discrete light) during which lever presses produced liquid sucrose delivery paired with a 5-s CS (another discrete light + tone), and a 1-min DS- (flashing light) that signaled sucrose unavailability. We next examined the effects of optogenetic stimulation of BLA neurons on sucrose-seeking evoked by cue presentations delivered 1) independent of lever pressing (i.e., response-non-contingent), and 2) dependent upon lever pressing (i.e., response-contingent).

Non-contingent DS+, but not CS or DS-, presentations triggered sucrose-seeking. Response-contingent presentations of the DS+ or CS maintained high levels of sucrose-seeking. Photostimulation of ChR2-expressing BLA neurons did not impact sucrose-seeking evoked by non-contingent cue presentation, regardless of cue type; however, it invigorated sucrose-seeking triggered by response-contingent presentations of the DS+.

Thus, the BLA preferentially mediates reward-seeking induced by presentations of a DS+ vs. CS. This finding illustrates a new neural mechanism underlying cue-controlled reward-seeking behaviour.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

65 PERSPECTIVES SUR LA LIAISON DES PHOSPHOINOSIDES AUX CANAUX HCN.

Sultan MAYAR, Ainara Claveras Cabezudo, Asma Feriel Khoualdi, Audrey Cyr-Athis and Nazzareno D'avanzo

Several ion channels are regulated by protein-lipid interactions. Hyperpolarization-activated cyclic-nucleotide gated (HCN) channels specifically, have been shown to be regulated by phosphoinositides (PIPs). PIPs enhance HCN activation via a rightward shift in voltage-dependency and has importance applications in neuronal and cardiac function. Using computational and electrophysiological approaches, we aim to examine putative sites for HCN-PIP interactions. Computational docking and coarse-grained simulations indicate that PIP binding to HCN1 and HCN4 channels are not well coordinated, but rather occurs over a broad surface of charged residues primarily in the HCN-domain, S2 and S3 helices that can be loosely organized in 2 or 3 overlapping clusters. Thus, HCN-PIP interactions are more resembling of electrostatic interactions that occur in myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) proteins, than the specifically coordinated interactions that occur in pleckstrin homology domains (PH domains) or ion channels such as inward rectifier potassium (Kir) channels. Our results also indicate that phosphatidylinositol (PI) interactions with HCN1 are even lower affinity, explaining why unphosphorylated PI have no effect on HCN1 activation unlike phosphorylated PIPs. Experimental validation of putative binding sites are addressed by electrophysiological approaches.

67 GPR81 MODULE LE STRESS ENDOPLASMIQUE POUR PERMETTRE LE BON DÉVELOPPEMENT CHOROÏDIEN.

Monir MODARESINEJAD^{1,3}, Xiaojuan Yang^{2,3}, Emmanuel Bajon³, Xin Hou³, Jose Carlos Rivera³, Sylvain Chemtob^{1,2,3}

- ¹ Programme en Sciences biomédicales, Faculté de médecine, Université de Montréal (Canada)
- ² École d'optométrie, Université de Montréal
- ³ Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine

We investigated whether GPR81 in the outer retina regulates the integrity of the choroidal vasculature during development. GPR81 KO mice were used in this study. GPR81 expression in the outer retina of WT mice was confirmed by Immunohistochemistry. Lectin staining was used to determine the choroidal vascular thickness. Angiogenesis was measured by stimulation of GPR81 by lactate in vivo or ex vivo. mRNA and protein levels were evaluated by qRT-PCR and western blot, respectively. Ki-67 was used as a proliferation marker.

GPR81 is expressed in the RPE of WT mice. GPR81 deficient mice show significantly thinner choroidal vasculature in KO mice compared to WT, suggesting that GPR81 deficiency causes gradual choroidal involution. Lactate stimulation promoted choroidal angiogenesis in WT mice, demonstrating RPE-GPR81 function in angiogenesis. Moreover, there is a lower proliferation rate in RPE/choroid of KO mice. Angiogenic factors showed higher expression levels while the protein levels of the most important growth factors decreased in KO mice leading to a lower proliferation rate. One of the causes of discrepancy between expression and translation is ER stress. KO mice exhibit higher levels of proteins implicated in ER stress and Integrated Stress Response (ISR). ER stress in KO mice is associated with translational attenuation. Finally, intravitreal injection of an ISR inhibitor in KO mice normalized the choroidal thickness defect.

RPE-GPR81 promotes choroidal angiogenesis. GPR81 KO mice exhibit a transient ISR and lower proliferation rate in the choroid during development, suggesting an important developmental role for GPR81 in the choroidal vascular integrity.

69 BIO-IMPRESSION EN 3D D'ANNEAUX CARDIAQUES POUR UNE APPLICATION DE CŒUR SUR PUCE.

Ali MOUSAVI^{1,2,3}, Houman Savoji^{1,2,3}

- ¹ Institute of Biomedical Engineering, Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada
- ² CHU Sainte-Justine Research Center, Montreal, QC, Canada
- ³ Montreal TransMedTech Institute, Montreal, QC, Canada

Cardiovascular disease is the leading cause of death globally. Cardiac tissue engineering is a promising therapeutic approach for developing functional cardiac models. Recent advances in microfabrication methods, such as three-dimensional bioprinting and heart-on-a-chip systems, facilitate the development of *in vitro* tissue models with a high level of maturity and mimicry of human pathophysiology. These constructs should recapitulatekey aspects of the native extracellular matrix, such as its physicochemical, structural, and electromechanical properties. Here, a biocompatible and biodegradable composite bioink was developed based on photocrosslinkable natural biopolymers (gelatin and alginate) and electroconductive reduced graphene oxide nanomaterials with matching electromechanical properties to the native heart. All biomaterials were successfullysynthesized and characterized with different physicochemical techniques. Furthermore, the bioinks were analyzed based on rheological, electromechanical, printability, and degradation properties, and printed into a ring-shaped pattern using an extrusion-based bioprinter. The chip was fabricated via injection molding method containing flexible silicone post pairs to support the tissue maturation. Cardiac cells were further



27ème édition de la journée de la recherche GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

encapsulated in the bioinks, and the cardiac biorings were bioprinted-on-chip, demonstrating high cell viability, alignment, elongation, and interconnection using live/dead assay and immunohistochemistry of cardiac-specific biomarkers. Automated high throughput bioprinting-on-chip was further validated in 12-well plates. The optimized bioink couldbe further maturated in the heart-on-a-chip system using electromechanical stimulation. This platform is expected to be applied for drug screening and disease modeling in the future.

71 LA DÉLÉTION DES GÈNES PARKIN OU PINK1, ASSOCIÉS À LA MALADIE DE PARKINSON, INDUIT UNE AUGMENTATION DE L'ACTIVATION DE LA MICROGLIE.

NEDJAR IIyes, Louis-Éric Trudeau

It is likely that multiple mechanisms interact to cause the dysfunction and loss of substantia nigra and other vulnerable neurons in Parkinson's disease (PD). Growing evidence supports the hypothesis that activation of the immune system contributes to PD pathogenesis. In the brain, microglia are the main local actors of immune responses. These cells appear to constantly probe their local microenvironment and interact with neurons through secreted factors. In PD postmortem tissue and in animal models of PD, evidence for microglial activation has been reported. Due to growing evidence suggesting the implication of PINK1 and Parkin in innate and adaptive immunity, we hypothesize that loss of function of these gene products could lead to increased activation of microglia following infections, with subsequent detrimental effects on dopamine neurons. Studying primary microglia obtained from Pink1 or Parkin KO mice, we observed that, as expected, these cells drastically change their morphology following exposure to the bacterial endotoxin LPS, switching from a polarized to an amoeboid shape. Interestingly, we observed that PINK1 or Parkin KO microglia show increased secretion of IL-6 in response to LPS and increased resilience under culture conditions when compared to WT cells. We are now evaluating the implication of such differential activation on dopamine neurons. These initial results support the hypothesis of increased innate immune responses in the brain in Pink1 or Parkin-linked PD.

73 DÉVELOPPEMENT DE L'UTILISATION DE L'OPTOPHYSIOLOGIE SERS POUR L'ÉTUDE DE LA NEUROTRANSMISSION.

Soraya PAQUEREAU-GABOREAU, Felix Lussier, Jean-François Masson, Louis-Eric Trudeau Neurosciences, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Les neurotransmetteurs sont des messagers chimiques jouant un rôle critique dans le transfert d'information d'un neurone à l'autre dans le système nerveux. La détection de ces neurotransmetteurs est critique afin de mieux comprendre le fonctionnement normal du cerveau ainsi que les maladies du cerveau, telles que la maladie de Parkinson. Ceci est typiquement effectué grâce à des techniques telles que l'électrophysiologie et diverses approches électrochimiques. Bien qu'ayant permis d'énormes avancées, ces techniques sont limitées. Afin d'atteindre une meilleure compréhension du cerveau, il est essentiel de développer de nouvelles approches. En effet, la détection simultanée et en temps réel de plusieurs neurotransmetteurs permettront d'obtenir une conformation neurochimique spécifique pour les cerveaux sains et pathologiques. Des travaux récents effectués par les laboratoires Masson et Trudeau sur des préparations de neurones en culture ont démontré le potentiel de la technique d'optophysiologie basée sur la spectroscopie Raman exaltée de surface (SERS) pour détecter simultanément plusieurs neurotransmetteurs incluant le glutamate, la dopamine, le GABA et l'acétylcholine. L'objectif du projet est le développement de cette approche en la combinant avec l'optogénétique sur des cultures de neurones et de l'appliquer à des tranches de cerveau. Cette approche nouvelle d'optophysiologie pourrait à terme ouvrir la voie afin de mieux comprendre les mécanismes fondamentaux impliqués dans la maladie de Parkinson et de contribuer au développement de thérapies curatives.

75 LES NOCICEPTEURS CONTRÔLENT L'IMMUNOSURVEILLANCE DU CANCER.

Karine ROVERSI, Mohammad Balood, Maryam Ahmadi, Sebastien Talbot Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal

Neuro-immune crosstalk between the nervous and immune systems share the ability to sense external and internal environmental threats, detect danger, and coordinate appropriate defenses. Their reciprocal relations composed of cytokines, growth factors, and neuropeptides might participate in tumor progression. The peptides released by nociceptors can promote the adaptive immune system's chemotaxis, polarization, and activity. CD8+ T cells gain an exhausted phenotype during cancer which is defined as a progressive loss of T cell function characterized by impairment of proliferation and the ability to produce cytokines followed by overexpression of inhibitory. Nociceptors-secreted neuropeptides modulate lymphocyte activities. We, therefore, hypothesized that these neuropeptides would drive T cell exhaustion and, in turn, promote tumor growth.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

In wild-type mice inoculated with aggressive melanoma skin cancer, we discovered that pain (thermal hypersensitivity) precedes the onset of tumor-infiltrating leukocytes exhaustion by ~48h and is present in small-sized tumor. These data support the possibility that nociceptor-innervating neurons may be an upstream driver of tumor-infiltrating leukocytes' exhaustion. Next, we used optogenetics to stimulate (daily, 20 min) NaV1.8+ tumor-innervating neurons and found that nociceptor neurons' gain-of-function increased CD8+ T-cell exhaustion. Interestingly, the exhaustion levels directly correlated with intra-tumoral neuropeptide (CGRP) levels. Inversely, we also found that the conditional knockout of RAMP1, the CGRP receptor, on CD8 T-cells also limits their exhaustion levels in the context of malignancy.

These data highlight tumor-innervating nociceptor neurons as an upstream driver of leukocyte exhaustion. Targeting these neurons may constitute a novel therapeutic target to safeguard the host's anti-tumor immunity.

77 LE RÔLE DES FACTEURS NUCLÉAIRES SNAIL ET FOXC2 DANS LE MIMÉTISME VASCULOGÉNIQUE DES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES HUMAINES : IMPLICATION DANS LA NÉOVASCULARISATION THÉRAPEUTIQUE.

Marie-Eve ROY et Borhane Annabi

Chaire en prévention et traitement du cancer, Québec, Canada Département de chimie, Université du Québec à Montréal, Québec, Canada

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells (MSC) have a proven ability to enhance the neovascularization processes necessary for wound healing and are widely popular as an autologous source of progenitor cells in stem cell-based therapies. However, lack of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) expression in MSC indicates incomplete differentiation towards an endothelial cell type suggesting alternate cellular processes such as vasculogenic mimicry (VM). Here, we questioned the potential signal transducing events that may be involved in in vitro 3D endothelial-like networks formation.

METHODS: Human MSC were trypsinized and seeded on top of Cultrex matrix in order to recapitulate an in vitro VM phenotype through the generation of 3D capillary-like structures. Digitized pictures were analyzed by Wimasis. Total RNA was extracted and gene expression assessed by RT-qPCR or used for RNA-Seq. AG490 and Tofacitinib were used to assess pharmacological inhibition of the JAK/STAT3 pathway, while PP2 was used to inhibit the Src pathway. Transient gene silencing of STAT3, SNAIL, and FOXC2 was performed with siRNA.

RESULTS: In vitro VM occurred within 4 hours and could be inhibited by JAK/STAT3 inhibitors AG490 and Tofacitinib, as well as by Src inhibitor PP2. RNA-Seq highlighted STAT3 as a signaling hub contributing to VM, and concomitant increases of FOXC2, IL6, IL1b, CSF1, CSF2, SNAIL, and RPSA were observed. STAT3 gene silencing prevented these increases and 3D structures formation. **CONCLUSION:** Matrix cues appear to imply nuclear factors SNAIL and FOXC2 signaling in in vitro VM. With regards to therapeutic neovascularization, MSC endothelial-like networks may provide a clinically feasible pseudovasculature for temporarily sustaining grafts through VM processes until the host vasculature is able to infiltrate and remodel tissue.

79 GÉNÉTIQUE DE LA TOXICITÉ HÉMATOLOGIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LA LEUCÉMIE LYMPHOBLASTIQUE AIGUË.

Zarina SABIROVA, Vincent Gagné, Moncef Taki Eddine Boucetta, Yves Théorêt, Jean-Marie Leclerc, Thai-Hoa Tran et Maja Krajinovic

Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal Centre de recherche du CHU Ste-Justine

La leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) est un des cancers les plus prévalents chez l'enfant. Les médicaments à base de thiopurine, principalement la 6-mercaptopurine (6-MP) sont des agents cytotoxiques et immunosuppresseurs. Elle est co-administré avec le méthotrexate comme composants clés du traitement de la LLA. Leur utilisation est associée à une réduction significative des rechutes de la maladie. Toutefois, la 6-MP est également associée à l'apparition des effets indésirables (Els) pouvant conduire à l'arrêt du traitement mettant en danger la vie de patient. Il a été documenté que des polymorphismes des enzymes thiopurine S-méthyltransferase (TPMT) et Nudix hydrolase (NUDT15) sont accoisés au développement de la myélosuppression due à l'accumulation de métabolite 6-thioguanine nucléotide (6-TGN). D'autre part, l'activité de TPMT du type sauvage métabolise la 6-MP vers le métabolite hépatotoxique comme le 6-méthylmercaptopurine (6-MMP). Nous avons étudié les effets des autres enzymes impliquées dans le métabolisme de la 6-MP: inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA), hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT), inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH), guanosine monophosphatase synthetase (GMPS), et xanthine oxidase (XO). Les génotypes de 150 patients de CHU Ste-Justine ont été corrélés aux données cliniques et pharmacologiques, comme la dose de médicament, le taux des métabolites et le développement des Els comme la neutropénie de haut grade. Nous avons observé que le polymorphisme rs1884725 du gène XO est associé à une diminution de 6-TGN et



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

augmentation de 6-MMP ainsi qu'à l'administration de la 6-MP. Ce polymorphisme a également montré d'avoir un effet protecteur contre le développement de la neutropénie de haut grade.

81 L'OPTIMISATION DE L'EFFICACITÉ MITOCHONDRIALE À LA RESCOUSSE DES NEURONES DOPAMINERGIQUES DANS LA MALADIE DE PARKINSON.

Alex TCHUNG^{1,3}, Nicolas Giguère^{1,3}, Marie-Josée Bourque^{1,3} et Louis-Éric Trudeau^{1,2,3}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Département de neurosciences, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ³ Groupes de recherche SNC et CIRCA

La maladie de Parkinson se caractérise par une perte massive des neurones dopaminergiques dans la substance noire compacte. Leur vulnérabilité sélective semble être déterminée par leur très grand axone et leurs grands besoins énergiques comblés principalement par phosphorylation oxydative. Cette voie étant connue pour produire des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), le stress oxydatif s'ensuivant pourrait être un déterminant de leur vulnérabilité. Notre hypothèse globale est que des approches réduisant le ratio DRO:ATP, par exemple en augmentant l'efficacité mitochondriale, devraient améliorer la résilience de ces neurones. Afin d'atteindre cet objectif, il est nécessaire de confirmer que la mort cellulaire est causée par les ROS. Nos résultats indiquent que des antioxydants peuvent diminuer la mort des neurones dopaminergiques en réponse à la 6-OHDA, mais pas contre d'autres neurotoxines, suggérant que seule la 6-OHDA nous permet de modéliser la mort de ces neurones via un stress oxydatif. Nous avions par ailleurs évalué le potentiel neuroprotecteur de petites molécules ou protéines pouvant potentiellement agir sur le ratio DRO:ATP. Nos résultats montrent un effet neuroprotecteur de l'honokiol contre la 6-OHDA et un potentiel de protection de la surexpression de MCL-1^{Matrice} ou de COX7RP. Nos travaux en cours visent à caractériser l'effet de ces molécules sur la respiration, la production d'ATP et de DRO et le cycle vésiculaire et l'activité électrique à l'aide de sondes encodées génétiquement. Ces travaux nous permettront de mieux comprendre les voies qui améliorent la résilience des neurones dopaminergiques et d'identifier de nouvelles pistes de traitement de la maladie de Parkinson.

83 SURFACES : ÉVALUATION SIMPLIFIÉE PAR RÉSIDU DES CONTRIBUTIONS DE LA LIAISON DE LAPROTÉINE SPIKE DE SARS-COV-2 AU RÉCEPTEUR ACE2 ET À LA RECONNAISSANCE DES ANTICORPS.

Natália F.B. TERUEL, Rafael Najmanovich

Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

Protein interactions play a critical role in various biological processes. Understanding these interactions is vital for drug discovery, protein engineering, and even studying viral evolution, such as in the case of SARS-CoV-2. However, current methods for evaluating protein interfaces are often complex and computationally expensive. This study introduces a simplified approach called Surfaces, which utilizes a per-residue decomposition methodand prioritizes performance. Many computational methods have been tested for evaluating the SARS-CoV-2 Spike protein, employing machine learning, statistical potentials, and force field scoring functions. However, these methods often have limited predictive capacity compared to experimental measurements. Methods based on molecular dynamics (MD) simulations, such as free-energy perturbation (FEP) calculations, have been shown to have the best predictive performance compared to experiments, but require complex computational infrastructure and are time-consuming. In contrast, Surfaces, which employs a complementarity function (CF) based on atomic areas in contact, offers comparable performance with significantly reduced computational cost, making large-scale applications feasible. We applied Surfaces to analyse a dataset of 738 structures of Spike protein in complex with antibodies, as well as conformational ensembles of single mutations and variants in complex with the receptor ACE2. The results of Surfaces help understand contribution of individual residue- residue interactions to receptor binding and immune escape. In conclusion, Surfaces offers a simplified and effective approach to evaluating protein interfaces and understanding per-residue interaction contributions. It serves as a valuable tool for large-scale applications, including the study of evolutionary drives for viral glycoproteins, especially relevant in the ongoing SARS-CoV-2 pandemic.

85 EFFET DE LA CRYOPRÉSERVATION ET DE LA COMPOSITION DES MICROSPHÈRES D'HYDROGEL SUR LA VIABILITÉ ET L'ACTIVITÉ PARACRINE DES CELLULES MÉSENCHYMATEUSES STROMALES PRÉCONDITIONNÉES AU CÉLASTROL.

TOUANI, K. Francesco^{1,4}; Borie, Mélanie¹; Noiseux, Nicolas^{1,3}; Der Sarkissian, Shant^{1,3}; Lerouge, Sophie^{1,2,4}

- ¹ Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM) Montréal, Qc
- ² Département de génie mécanique, École de technologie supérieure (ETS), Montréal, QC
- ³ Département of chirurgie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Qc



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

⁴ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal

INTRODUCTION: Ce projet s'intéresse au traitement des maladies cardiovasculaires ischémiques. Le but de cette étude était d'évaluer la faisabilité de créer des microbilles cryoconservées contenant de cellules stromales mésenchymateuses (CSM) préconditionnées au célastrol, un antioxydant inhibiteur de HSP90(1) et montrer comment la composition des microbilles influence fortement la viabilité et l'activité paracrine des CSM.

MÉTHODES: Les microbilles à base de chitosane, chitosane-gélatine et d'alginate ont été créées par émulsification sous agitation (SE,2). La distribution des tailles, la viabilité et l'activité paracrine ont été comparées. Avant l'encapsulation, des CSM humaines ont été préconditionnées avec du célastrol 1μM, 0.1μM ou un véhicule (DMSO 0,1%v/v) pendant 1h suivi de 4h de récupération. Le produit cellulaire a été conservé pendant 1 semaine dans l'azote liquide. L'effet de la cryopréservation avec et sans préconditionnement sur la viabilité et l'activité paracrine des cellules encapsulées a été étudié.

Résultats: Les microbilles des 3 compositions d'hydrogel testées ont présenté une distribution de taille similaire. Les CSM chargées dans le chitosane-gélatine ont montré la viabilité la plus élevée (80%). Le relargage de VEGF a été considérablement amélioré dans les microbilles de chitosane, et chitosane-gélatine par rapport aux microbilles d'alginate. Après cryoconservation, la proportion de CSM vivantes préconditionnées au célastrol 0.1μM et de VEGF a augmenté de 1.30 et 1.48 fois respectivement comparé au véhicule.

Conclusion: Ces résultats prometteurs suggèrent que les microbilles de chitosane-gélatine avec préconditionnement cellulaire au célastrol pourraient permettre de créer un produit de CSM cryoconservées en vente libre avec une bonne viabilité et une fonction paracrine.

Financement: Travaux subventionnés par le Réseau de thérapie cellulaire, tissulaire et génique du Québec -ThéCell (un réseau thématique soutenu par le Fonds de recherche du Québec–Santé), FRQ-NT, NSERC.

REFERENCES:Der Sarkissian S, Cailhier JF, Borie M, Stevens LM, Gaboury L, Mansour S, et al. Celastrol protects ischaemic myocardium through a heat shock response with up-regulation of haeme oxygenase-1. British journal of pharmacology. 2014;171(23):5265-79.

Alinejad Y, Bitar CM, Martinez Villegas K, Perignon S, Hoesli CA, Lerouge S. Chitosan microbeads produced by a one-step scalable stirred emulsification: a promising process for cell therapy applications. ACS Biomaterials Science & Engineering. 2019.

87 L'ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE ET ÉPIGÉNOMIQUE DES DIVERS TYPES CELLULAIRES AFFECTÉS PAR LES OLIGOMÈRES AMYLOÏDE-BÊTA DANS L'HIPPOCAMPE DE RATS.

Tra-My VU1, Klarissa Leduc,1, Jonathan Brouillette1

¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative caractérisée principalement par l'agrégation des oligomères amyloïde-bêta (Aβ) et les enchevêtrements neurofibrillaires. Les oligomères Aβ s'accumulent 10 à 15 ans avant l'apparition des premiers signes cliniques de la MA. Les études ont démontré que les oligomères Aβ sont impliqués dans les pertes synaptiques et la mort neuronale qui sont observées au niveau de l'hippocampe, une région impliquée dans la mémoire qui est affectée dès les débuts de la MA. Nous nous sommes donc intéressés à déterminer l'effet des oligomères Aβ sur les différents types cellulaires retrouvées dans l'hippocampe chez un modèle de rat. Lors de ce projet, les oligomères Aβ seront injectés quotidiennement dans l'hippocampe pendant 2, 4 ou 6 jours. Par la suite, les cerveaux seront prélevés et coupés au cryostat. À l'aide de la microdissection laser nous récupérerons les cellules situées directement sous le site d'injection. Les noyaux seront isolés individuellement puis nous ferons une analyse transcriptomique et épigénétique simultanément sur chacun de ces noyaux (single nucleus RNA-seq + ATAC-seq; 10xGenomics) provenant des neurones, astrocytes, oligodendrocytes, péricytes, cellules endothéliales et de la microglie. Cette étude permettra de déterminer les changements d'expression de gènes et les sites d'ouverture de l'ADN induits spécifiquement par les oligomères Aβ dans chaque type cellulaire au cours du développement de la pathologie Aβ afin de pouvoir éventuellement trouver de nouvelles cibles thérapeutiques contre la MA.

89 INVESTIGATION DES EFFETS ANTI-MÉLANOME UVÉAL DU MIR-181A ET DES THÉRAPIES COMBINÉES.

Rui WANG¹, Houda Tahiri², Chun Yang², Sonia Callejo³ and Pierre Hardy^{1,2}

- ¹ Departments of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal
- ² Research Center of CHU Sainte-Justine, Université de Montréal
- ³ Ophthalmology and Ocular Oncology, CHUM, Université de Montréal

BACKGROUND: Somatic mutations in GNAQ/11 are oncogenic drivers in 85% of the uveal melanoma (UM). UM patients retain an approximately 50% risk of metastasis and die shortly after because of the lack of effective therapies for metastatic UM. The anti-



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

cancer drug crizotinib has been shown to significantly reduce the development of distant metastases in a murine model of metastatic UM. Human microRNA-181a (miR-181a) is known to be involved in important cellular functions and is downregulated in both primary and high-risk UM and absent in metastatic UM.

METHODS: Human metastatic UM cells were transfected with miR-181a mimic, negative control or crizotinib and cell viability, migration ability, proliferation ability and apoptosis were measured. Western blot analysis was performed to find out whether miR-181a regulates GNAQ downstream events and interferes with the activated GPCR signaling in UM. GNAQ and Akt3 silencing as well as overexpression were also used to study the roles of GNAQ and Akt3 in anti-UM effects of miR-181a. **RESULTS:** miR-181a inhibited UM cell viability, migration and proliferation and increased apoptosis. miR-181a also dramatically suppressed GNAQ and Akt3 protein expression in metastatic UM cells. In addition, Akt3 siRNA mimics the anti-UM effect of miR-181a. GNAQ and Akt3 overexpression reversed the anti-UM effect of miR-181a. Moreover, the combination of miR-181a/crizotinib exhibited a complementary inhibitory effect on UM cell migration.

CONCLUSION: miR-181a exhibits strong anti-UM effect via targeting GNAQ and Akt3, and the combinational use of miR-181a/crizotinib exhibited a complementary inhibitory effect on UM cell migration.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Présentations par affiche (Bloc II)

2 LES NEURONES SENSORIELS DIMINUENT L'IMMUNOSURVEILLANCE DU CANCER.

Maryam AHMADI¹, Mohammad Balood¹, Tuany Eichwald¹, Ali Ahmadi¹, Abdelilah Majdoubi², Karine Roversi¹, Katiane Roversi¹, and Sebastien Talbot^{1,3}

- ¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Département de Microbiologie, Infectiologie et Immunologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ³ Department of Biomedical and Molecular Sciences, Queen's University

Neuroimmune crosstalk between the nervous and the immune systems has been widely studied; however, their modulating roles are largely unknown in cancer. Bilateral interactions of cytokines, growth factors and neuropeptides may support tumor progression. Nociceptor-released neuropeptides can affect polarization, chemotaxis and adaptive immune system activity. Since sensory neurons locally release neuropeptides that modulate the activities of lymphocytes, we hypothesized that nociceptors might secrete neuropeptides leading to CD8+ T-cell exhaustion and tumor growth. We used the mouse model of melanoma cancer to test this hypothesis and found that malignant B16F10 skin cancer cells interacted with nociceptors to expand neurite outgrowth, responsiveness to noxious ligands, and neuropeptide release. Consecutively, neuropeptide calcitonin gene-related peptide (CGRP), which is released by nociceptors, directly increased the exhaustion of cytotoxic CD8+ T cells and reduced their ability to eliminate melanoma cells. Genetic ablation of sensory neurons, local pharmacological silencing, and antagonism of the CGRP receptor (RAMP1) were all able to limit the exhaustion of tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) and tumor growth. Moreover, treatment with recombinant CGRP in sensory neuron-depleted mice reduced the exhaustion of CD8+ T cells. Compared with wild-type cells, RAMP1
CD8+ T cells were rescued to go under exhaustion when co-transplanted into tumor-bearing Rag1-/- deficient mice. In summary, reducing CGRP release by local silencing of tumor-associated nociceptors, limits the immunomodulatory effects of CGRP on cytotoxic CD8+ T cells and represents an ideal strategy to protect anti-tumor immunity.

4 COMPRENDRE L'HETEROGENEITE DES PERICYTES LORS D'UN ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL ISCHEMIQUE DECIPHERING PERICYTE HETEROGENEITY IN CEREBRAL ISCHEMIC STROKE.

Typhaine ANQUETIL^{1,2}, Joel Howard², Alice Lecours^{1,2}, Gael Cagnone², Jean-Sébastien Joyal^{1,2} and Alexandre Dubrac^{1,2}

- ¹ Département de pathologie et biologie cellulaire, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche du CHU sainte Justine

Ischemic stroke (IS), the occlusion of a cerebral artery, induces the arrest of the blood flow, the BBB breakdown and inflammation leading to edema formation and neuronal death.

To date, the only treatments approved are based on the recanalization. However, despite a complete recanalization, 20% of the patients develop ischemia/reperfusion injuries due to no-reflow phenomenon. Thus, it is crucial to characterize the vaascular defects and identify new therapeutic targets. Pericytes are perivascular cells essential for brain capillary function. They play an important role in IS progression and recovery by disrupting cerebral blood flow and BBB integrity. Several studies proposed that the no-reflow phenomenon might be regulated by pericyte contractions-induced capillary stalling. Therefore, the objective is to identify new molecular mechanisms regulating pericyte dysfunction in a mouse model of IS.

We first isolated and identified the brain perivascular cells from mice subjected to transient Middle Cerebral Artery Occlusion (tMCAO) model of ischemia/reperfusion injuries using scRNAseq. After bioinformatics analysis, we found 2 pericyte clusters mainly present in the ischemic hemisphere compared to the healthy hemisphere. We identified new markers and uncovered an increase of the mTOR pathway in those pathological pericytes, suggesting that mTOR activation might promote pericyte differentiation in IS. We will now investigate the role of the pericyte mTOR signaling pathway in brain vascular integrity by using new transgenic pericyte Rptor mutant mice, a key protein in the mTOR pathway.

We expect that inhibiting mTOR pathway would prevent pericyte dysfunctions, inflammation and capillary no-reflow post-IS and thus improve neuronal recovery.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

- 6 LA RÉ-ENTRÉE DANS LE CYCLE CELLULAIRE DES CARDIOMYOCYTES VENTRICULAIRES DE RATS NÉONATAUX ÂGÉS DE 7 JOURS EST ASSOCIÉE À LA DIMINUTION CONCOMITANTE DE L'ARNM D'UN GROUPE DE CYTOKINES INFLAMMATOIRES.
 - ^{1,2}AUBRY Adrien, ^{1,3}KEBBE Mariana, ¹CALDERONE Angelo
 - ¹ Institut de Cardiologie de Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada
 - ² Faculté de Pharmacie, Université Paris-Saclay, Orsay, Essonne, France
 - ³ Département de Pharmacologie et Physiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Previous studies have reported that the 1-day-old neonatal rodent heart mounted a cardiac regenerative response following injury whereas the paradigm was suppressed in the injured 7-day-old neonatal rodent heart. The following study tested the hypothesis that despite the absence of a regenerative response of the injured 7-day-old neonatal rodent heart, ventricular cardiomyocytes possess the inherent capacity to re-enter the cell cycle. The exposure of 7-day-old neonatal rat ventricular cardiomyocytes (NNVMs) to the protein kinase C (PKC) activator phorbol 12,13-dibuyrate (PDBu; 100 nM) in the presence of the p38 α /β MAPK inhibitor SB203580 (10 μ M) for 3 days promoted 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation and induced the nuclear appearance of the G2-M marker; phosphorylated histone H3. Moreover, a subpopulation of 7-day-old NNVMs that re-entered the cell cycle were associated with the de novo expression of the intermediate filament protein nestin. In the presence of PDBu alone, the transcriptonal factor Runx1 reported to inhibit the regenerative response of injured adult zebrafish heart was upregulated and SB203580 co-treatment significantly reduced the increased expression of the transcript. PDBu treatment of 7-day-old NNVMs increased the mRNA levels of a panel of inflammatory cytokines including Reg-3 β , IL- α , IL- α , IL- α , CCL2, CCL3, and CCL22 and SB203580 co-treatment significantly inhibited the upregulation of each cytokine. Thus, a PKC-dependent pathway in the presence of p38 α /β MAPK inhibition induced the cell cycle re-entry of 7-day-old NNVMs. Lastly, the cell cycle re-entry of 7-day-old NNVMs suppressed the mRNA upregulation of a panel of cytokines thereby further attenuating the reported antiproliferative role of the inflammatory response.

8 EFFETS D'INHIBITEURS DE L'(IMMUNO)PROTEASOME SUR LA SURVIE DES LEUCEMIES LYMPHOBLASTIQUES T AIGUES.

AVALOSSE Noémie, Tremblay M, Gerby B, Coulombe-Huntington J, Bertomeu T, Tyers M, et Hoang T Département de pharmacologie et de physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal et Institut de recherche en immunologie et cancérologie

*Co-affiliation : Département des sciences biomédicales, Faculté de pharmacie et des sciences biomédicales, Université Catholique de Louvain (Belgique), Institut de Duve

La leucémie aigüe lymphoblastique T (LAL-T) est une forme de cancer agressive hématologique touchant majoritairement les enfants. Les récentes avancées en clinique et en recherche ont permis d'améliorer le prognostique. Cependant, la qualité de vie des patients s'en retrouve négativement affectée, et une portion non négligeable des patients (15% des enfants, et 60% des adultes) seront sujets à une rechute, associée à un prognostique négatif. Différentes recherches, dont celles menées par le Pr. Hoang Trang, mènent à penser que l'origine de cette rechute soit liée à la présence de cellules souches pré-leucémiques (pré-LSC) plus résistantes aux chimiothérapies en comparaison aux blastes leucémiques. Il serait donc du plus grand intérêt de cibler spécifiquement cette sous-population dépendante de la niche thymique, tout en préservant les cellules normales. Le laboratoire Hoang a mené un criblage à haut débit d'une librairie de 3000 molécules sur un système de co-culture de pré-LSC avec une lignée cellulaire simulant la niche thymique. Après analyse bioinformatique, une famille de molécules se regroupe en tant qu'inhibiteurs de la synthèse protéique. Un des hits principaux, UM0125461, a été confirmé en criblage CRISPR à l'échelle du génome qu'une voie principale ciblée par la molécule est la traduction protéique. L'ensemble de ces résultats suggèrent que la protéostase soit un critère important dans la survie des pré-LSCs. L'objectif du présent travail est d'étudier l'effet de l'inhibition de la synthèse protéique et du protéasome sur la survie de LAL-T humaines.

10 APPROCHE CHIMIOGÉNOMIQUE D'ÉLIMINATION DES CELLULES SOUCHES PRÉ-LEUCÉMIQUES EN LEUCÉMIE LYMPHOBLASTIQUE À CELLULES T (T-ALL).

Irfan Mathieu BADRUDIN, M Tremblay, S Rojas-Sutterlin, A Haman, H Lavoie, C Girondel, M Therrien, M Bouvier, T Hoang Programmes de biologie moléculaire et Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Institut de recherche en immunologie et cancérologie, Université de Montréal

La leucémie lymphoïde aiguë à cellules T (T-ALL) figure parmi les cancers hématologiques les plus répandus en pédiatrie. La thérapie actuelle induit la rémission, mais implique l'utilisation prolongée d'agents chimothérapeutiques peu sélectifs, affectant de manière irréversible la qualité de vie des survivants. Dans les cas de rechute, le pronostic est malheureusement très sombre. Des



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

approches génétiques, cellulaires et moléculaires ont permis d'identifier les précurseurs précoces des cellules T (DN3) comme étant la cellule à l'origine de la leucémie, soit la cellule souche pré-leucémique, pré-LSC. Celle-ci est plus résistante au traitement, mais sa survie dépend de 2 voies de signalisation principales : la voie de Ras et la voie de NOTCH/mTOR. Nous proposons que l'association d'inhibiteurs pharmacologiques ciblant ces voies de signalisation avec la chimiothérapie conventionnelle pourrait inhiber de façon additive ou synergique les pré-LSCs et les cellules blastiques. L'objectif de ce projet est de tester cette hypothèse dans i) une co-culture organotypique ex-vivo de pré-LSCs issues d'un modèle murin répliquant la maladie humaine; ii) une co-culture organotypique ex-vivo de cellules leucémiques humaines obtenues de patients et iii) une xénogreffe de T-ALL humaine chez des souris immunodéficientes. Nos résultats actuels suggèrent que l'association d'un inhibiteur de la voie Ras ou NOTCH1/mTOR est additive à la chimiothérapie conventionnelle sur les pré-LSCs. De plus, l'inhibition de la voie de Ras est synergique avec la chimiothérapie conventionnelle sur les cellules leucémiques humaines. Ce projet présente donc une stratégie intéressante pour améliorer la thérapie actuelle en ciblant efficacement les cellules souches pré-leucémiques.

12 IMPACT DE l'ÂGE ET DE LA MALADIE CORONARIENNE SUR LA PERFUSION MYOCARDIQUELORS DE L'EXPOSITION À LA CHALEUR.

Hadiatou BARRY, Josep Iglésies Grau, Georgia K Chaseling, Caroline D'oliviera-Sousa, François Harel, Matthieu Pelletier-Galarneau, Daniel Gagnon

Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal Institut de Cardiologie de Montréal

INTRODUCTION. La chaleur extrême est associée à un risque accru de mortalité cardiovasculaire. Toutefois, les mécanismes expliquant ce lien restent inconnus. Une possibilité serait que les besoins enoxygène du myocarde pendant l'exposition à la chaleur dépassent la capacité du myocarde à augmenterle débit sanguin myocardique (MBF), ce qui prédispose à l'ischémie. L'objectif de cette étude était de caractériser l'effet de l'exposition à la chaleur sur le MBF.

MÉTHODES. 20 jeunes adultes (28 ± 5 ans), 21 aînés sains (67 ± 7 ans) et 20 aînés présentant une maladie coronarienne (70 ± 5 ans) ont effectué une tomographie par émission de positrons pour quantifier le MBF, avant et durant une exposition passive à la chaleur. La fréquence cardiaque et la pression artérielle ont également été mesurées pour déterminer le double produit (RPP), indice du travail cardiaque.

RÉSULTATS. Le MBF a augmenté pendant l'exposition à la chaleur (jeunes : 0.78 ± 0.41 mL/g/min; aînés sains : 0.63 ± 0.32 mL/g/min; coronariens : 0.55 ± 0.39 mL/g/min, p=0.02), mais cette augmentation n'était pas différente entre les groupes (p=0.07). Le RPP a augmenté de manière similaire entre les groupes (jeunes : 6.05 ± 2.29 bpm·mmHg· 10^3 ; aînés sains : 4.25 ± 2.60 bpm·mmHg· 10^3 ; coronariens : 5.39 ± 3.45 bpm·mmHg· 10^3 , p=0.17), suite à l'augmentation de la fréquence cardiaque (p=0.02) et de la pression artérielle systolique (p=0.02).

CONCLUSION. Le MBF a augmenté avec l'augmentation du travail cardiaque lors de l'exposition à la chaleur et cette augmentation n'est pas affectée par l'âge ou la maladie coronarienne.

14 RÔLE NEUROPROTECTEUR DES CORPS CÉTONIQUES DÉRIVÉS DE L'ENDOTHÉLIUM DANS LES RÉTINOPATHIES PROLIFÉRATIVES.

Charlotte BETUS¹, Candace YANG², Gaël CAGNONE³, Emilie HECKEL³, Tapan AGNIHOTRI², Sheetal PUNDIR⁴, José Carlos RIVERA³, Grant MITCHELL⁵, Jean-Sébastien JOYAL^{1,2,3,5,6}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Département de pharmacologie et thérapeutiques, Université de McGill, Montréal
- ³ Centre de recherche du CHU Sainte Justine, Montréal
- ⁴ Faculté de médecine, McGill University
- ⁵ Département de pédiatrie, CHU Sainte Justine, Université de Montréal
- ⁶ Département d'ophtalmologie, Université de Montréal

Proliferative retinopathy (PR) is a leading cause of blindness in premature infants and diabetic adults. PR is characterized by the initial loss of retinal blood vessels, leading to retinal ischemia. Despite the slow revascularization of the ischemic retina, few hypoxic neurons die of prolonged ischemia. The mechanism that preserves neurons and vision in ischemic PR is unknown. The ensuing retinal ischemia mounts a compensatory hypervascularization manifesting as pathological neovascular tufts (NVTs) invading the vitreous body. Here, we show that NVTs can secrete ketone bodies (mainly Beta-hydroxybutyrate, B-HB) that are neuroprotective for ischemic retinal neurons, despite also fueling endothelial cell (EC) proliferation. The ketogenic enzyme HMG-CoA Lyase (*Hmgcl*), which is classically expressed in the liver, was highly expressed in pathological NVTs in a murine PR model, as revealed by single-cell transcriptomics. Metabolomics analysis confirmed ketone bodies accumulation in human vitreous and mouse retinas with PR.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Using the Cre/Lox system, conditional *Hmgcl* deletion in retinal EC significantly reduced pathological NVTs and reduced their electroretinogram signals, suggesting reduced neuronal function. B-HB increased basal respiration in immortalized retinal ganglion cells (RGC-5), in line with ketones being used as fuel. Moreover, H3K9 acetylation was increased in PR retinas and RGC-5 cells treated with increasing doses of B-HB, suggesting a possible epigenetic role of ketones in the neuroretina. Hence, the local production of ketones by diseased EC might protect adjacent ischemic neurons, preventing their demise by providing fuel and sending epigenetic neuroprotective signals.

16 ROLE DE ERK3 DANS LE REMODELAGE DE LA CHROMATINE PAR LES COMPLEXES BAF DANS LE CANCER DU SEIN.

Fadia BOUDGHENE-STAMBOULI 12, Joaquim JAVARY 2, Pierre PRIAM 1, Thibault HOULES 3, Phillipe ROUX 1, Julie LESSARD 1, Culturia MELOCUE 13

- ¹, Sylvain MELOCHE ^{1, 3}
- ¹ Institute de Recherche en Immunologie et Cancer, Montréal, Canada
- ² École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Vaud, Suisse
- ³ Moléculaire de Montpellier, Montpellier, Occitanie, France
- ⁴ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada

ERK3, membre des MAPK atypiques, est codée par le gène MAPK6 et possède à ce jour peu de substrats connus : MK5 et SVIL. La voie de signalisation ERK3 est encore mal comprise et est dérégulée dans de nombreux cancers. Particulièrement, dans le cancer du sein, ERK3 est surexprimée et associée à un mauvais pronostic. De plus, elle favorise la migration et l'invasion de ces cellules cancéreuses. Afin de découvrir de nouveaux partenaires de ERK3, nous avons réalisé une étude d'interaction de proximité (BioID) qui nous a permis d'identifier plusieurs potentiels interacteurs, notamment des sous-unités formant les complexes BAF. Les complexes BAF sont des complexes multi-protéiques de remodelage de la chromatine par le glissement/éjection des nucléosomes, permettant l'accès aux facteurs de transcription à l'ADN. Les ATPases Brm et Brg1, enzymes catalytiques des complexes, sont souvent mutées, délétées ou encore surexprimées dans de multiples néoplasies. Des travaux suggèrent que Brm et Brg1 sont requises à la prolifération cellulaire in vitro et à la formation tumorale in vivo dans le cancer du sein triple négatif.

Hypothèse : ERK3 interagit avec plusieurs sous-unités du complexe BAF afin de réguler l'activité transcriptionnelle de gènes essentiels aux mécanismes cancéreux mammaires.

Nos résultats préliminaires suggèrent que ERK3 interagit avec les complexes BAF dépendants de Brm dans les cellules de cancer du sein. Il est primordial de caractériser la nature de l'interaction entre ERK3 et les complexes BAF, ainsi que la régulation de l'activité de ces complexes pour mieux comprendre leur implication dans le cancer du sein.

18 RÔLE FONCTIONNEL DE LA LIBÉRATION AXONALE RAPIDE DE DOPAMINE.

Elie BRÈS, Louis-Éric Trudeau

Département de neuroscience & physiologie et pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal Groupe de recherche sur la signalisation neurale et la circuiterie

Les neurones dopaminergiques localisés dans le mésencéphale sont impliqués dans de nombreuses fonctions physiologiques importantes telles que le contrôle du mouvement, la motivation ou l'apprentissage. Une des caractéristiques distinctives de ces neurones modulateurs est leur connectivité particulièrement complexe. D'une part, ces neurones possèdent une arborisation axonale exceptionnellement développée couvrant une grande étendue dans plusieurs régions du cerveau. D'autre part, ils établissent un nombre de terminaisons axonales qui est 10 à 100 fois plus élevé que la plupart des autres neurones.

Dans un projet récent, le laboratoire Trudeau a éliminé sélectivement le senseur de calcium synaptotagmine 1 des neurones dopaminergiques en croisant des souris DAT-Ires-Cre avec des souris Syt1-lox-lox. Dans ces souris Syt1cKO-DA, la libération de dopamine évoquée dans le striatum par une stimulation électrique locale a été réduite de 95%, alors que les niveaux extracellulaires basaux de dopamine étaient inchangés. De façon étonnante, le comportement moteur basal de ces souris s'est avéré normal.

Ces résultats remettent en cause le rôle fonctionnel principal de la dopamine libérée de façon phasique et soulèvent des questions fondamentales sur les rôles comportementaux respectifs de la dopamine basale et phasique. Nous testerons notamment l'hypothèse que la dopamine phasique joue un rôle clé dans la motivation, alors que les niveaux de dopamine basaux jouent un rôle permissif pour de nombreux comportement moteurs plus simples.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

20 CIBLER LE MÉTABOLISME DES LIPIDES POUR COMPRENDRE LA FONCTION ASTROCYTAIRE ET LE SOMMEIL DANS UN MODÈLE MURIN DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.

Maria DA COSTA CAIADO^{1,2*}, Audrey HECTOR^{2,3,4*}, Julien DUFORT-GERVAIS⁴, Jonathan BROUILLETTE^{3,4}, Karl FERNANDES^{5,6}, Valérie MONGRAIN^{2,4,7}

- ¹ Faculty of Science and Engineering, Rijksuniversiteit Groningen, The Netherlands
- ² Centre de recherche du CHUM, Montréal, Québec
- ³ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal;
- ⁴ Recherche CIUSSS-NIM
- ⁵ Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Sherbrooke
- ⁶ Research Centre on Ageing, CIUSSS de l'Estrie-CHUS, ⁷ Département de neurosciences, Faculté de médecine, Université de Montréal
- *shared authorship position

Alzheimer's disease (AD) symptoms often include cognitive/memory deficits and sleep disturbances. AD is characterised by Amyloid- β (A β) and tau pathologies, but its aetiology remains largely unexplained. Recent findings suggest the involvement of lipid metabolism abnormalities, such as oleic acid build-up in the brains of AD patients and the 3xTg-AD mouse model. In fact, inhibiting stearoyl-CoA desaturase (SCD), an enzyme implicated in lipid metabolism, restored memory in 3xTg-AD mice. Interestingly, astrocytes, which are altered in AD and animal models, were shown to regulate sleep and the synthesis of specific lipids. However, the relationship between abnormalities in sleep, astrocytes and lipid metabolism in AD is unknown. Thus, this project has three aims: 1) assess if an SCD inhibitor (SCDi) affects sleep in 3xTg-AD mice via electroencephalographic (EEG) recordings, 2) evaluate the effects of SCDi on hippocampal astrocytic function in 3xTg-AD mice, using immunofluorescence with confocal microscopy, and 3) test whether SCDi changes lipid-, astrocyte- and sleep-related gene expression in a spatially overlapping manner in 3xTg-AD mice, using spatial transcriptomics. To answer these aims, 3xTg-AD (or wild-type) female mice were intracerebroventricularly injected with SCDi (or vehicle) for 28 days, combined with EEG recordings 14- and 28-days post-treatment. Post-mortem coronal brain slices will be either used for spatial transcriptomics or immuno-stained with astrocytic markers: glial fibrillary acidic protein (GFAP), 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (Aldh111) and S100b. The findings of this project are expected to help understand the links between lipid metabolism and astrocytic function, and their contribution to poor sleeping patterns and cognitive impairment in AD.

22 IDENTIFICATION DES MÉCANISMES EN CAUSE DANS LA CROISSANCE AXONALE DES NEURONES DOPAMINERGIQUES DURANT LE DÉVELOPPEMENT.

Beatriz CAMPOS CODO¹, Raphaëlle Denis², Samuel Burke² Alex Tchung¹, Marie-Josée Bourque¹, Nicolas Giguère¹, Louis-Éric Trudeau^{1,2}

- ¹ Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, University of Montréal, SNC and CIRCA Research Groups
- ² Department of Neuroscience, Faculty of Medicine, University of Montréal, SNC and CIRCA Research Groups

Dopamine is a neurotransmitter critical for several brain functions. In the brain, most dopaminergic neurons are located in the substantia-nigra(SN) and the ventral-tegmental-area(VTA). The proper functioning of dopaminergic neurons is essential for normal brain function, and alterations in their activity or number can result in several neurological disorders, including Parkinson's Disease(PD). While SN dopaminergic neurons are more vulnerable to PD, VTA's are more resilient. Dopaminergic neurons from the SN have distinct morphological and physiological features that distinguish them fromother neurons; more axonal terminals, and a highly developed axonal arborization. The molecular mechanisms underlying the growth and development of SN dopaminergic neurons axonal arborizationare still unknown. We aim to identify critical genes in the developmental program of SNc dopaminergic neurons to understand the mechanisms involved in axonal arborization growth. To investigate it, we will do primary neuronal cultures of SN and VTA of P0-P2 from DAT-IRES-CrexAi9 mice. Based on transcriptome data, we will choose candidate genes that may play a role in controlling axonal development. We will use recombinant proteins to increase the level of proteins and siRNA to decrease protein expression. At 3 and 7 days in vitro, we will perform immunocytochemistry to evaluate the effects of the treatments on the morphology and arborization processes of the neurons and their number; and compare these effects on SN and VTA. We will present preliminary results in this poster. This work will help us understand the growth and arborization of dopaminergic neurons and the vulnerability of these neurons in PD.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

LE BÉNÉFICE DES VITAMINES B SUR LA FONCTION CARDIAQUE ET LA SURVIE CHEZ LES FEMELLES DANS UN MODÈLE MURIN D'INSUFFISANCE CARDIAQUE IMPLIQUE UNE AMÉLIORATION DE LA FIBROSE CARDIAQUE ET PULMONAIRE ET UNE PRÉSERVATION DU LIPIDOME CIRCULANT.

DAVID Chloé*1.2, Deschênes, S2, Bouchard, B3, Robillard, I3, Shi, Yf2, Higgins, Me2, Tardif, Jc2.4, Ruiz, M2.5

- ¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche de l'institut de cardiologie de Montréal
- ³ Plateforme de métabolomique du centre de recherche de l'institut de cardiologie de Montréal
- ⁴ Département de Médecine, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ⁵ Département de Nutrition, Faculté de médecine, Université de Montréal

Introduction: L'insuffisance cardiaque (IC) présente des perturbations cardiaques fonctionnelles et métaboliques. L'objectif est d'évaluer les bénéfices d'un régime synthétique enrichi en nicotinamide riboside, B9 et B12 (VitB) dans un modèle murin d'IC à fraction d'éjection (FE) réduite.

Hypothèse est que le traitement par les VitB améliorera le phénotype cardiaque.

Méthode: Des souris mâles/femelles ont subies une constriction de l'aorte transverse (TAC) avant randomisation selon une diète ± VitB.

Résultats: Chez les femelles uniquement, VitB a amélioré: i) la survie (p<0,05), ii) la FE (+20%) et iii) l'hypertrophie (-13%) cardiaques. Ceci s'accompagne d'une réduction de la fibrose cardiaque induite par la TAC telle qu'illustrée par une diminution: i) du collagène 1 (Col, -30%), ii) du Col3 (-24%) et de l'hydroxyproline (-28%). Chez les mâles, l'augmentation des Col1/3 ainsi que de l'hydroxyproline est exacerbée par VitB (+35%, +42%, +29%). Chez les femelles, le remodelage pulmonaire est amélioré avec une réduction: i) des marqueurs fibrotiques (Col1/3: -16% et -20%), ii) de l'endothéline 1 (ET1, -46%) et iii) de l'actine-α2 (ACTA2) (-31%). Chez les mâles, ces paramètres sont exacerbés par VitB et notamment ACTA2 et ET1 (+39% et +42%). Le lipidome circulant, perturbé en réponse à la TAC, montre une normalisation par VitB uniquement chez les femelles particulièrement pour les triglycérides (TG) et les glycérophospholipides tandis que les TG sont exacerbés chez les mâles. **Conclusion:** Cette étude suggère un dimorphisme sexuel en réponse aux VitB à travers la modulation de la fibrose et du lipidome.

26 NRGDOCK : UN LOGICIEL OPEN-SOURCE DE CRIBLAGE VIRTUEL À HAUT DÉBIT POUVANT ANALYSER 1 MOLÉCULE PAR SECONDE.

Thomas DESCOTEAUX¹, Olivier MAILHOT², Rafael NAJMANOVICH¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Pharmaceutical Chemistry Department, School of Pharmacy, University of California San Francisco

The need for faster docking software with good performance on proteins in non-native conformations or homology models has been a long-standing challenge in pharmacology. The Najmanovich Research Group has developed an easy-to-use docking software based on Python: NRGDock. This software takes less than 1 CPU second per molecule. With this speed, a modern laptop can dock 700 000 molecules in 24 hours. It is based on the same scoring function as FlexAID, which has been proven to be effective for structures with higher resolution. NRGDock has also performed well on protein structures generated by AlphaFold, where residue positioning may not be perfect. NRGDock has been benchmarked against the widely used DUD-E benchmarking dataset and obtained similar or better enrichment factors than FlexAID, a state-of-the-art docking software.

To determine its performance in high throughput virtual screening, testing was conducted on the protein kinase PIM-1 associated to triple-negative breast cancer and the related kinases PIM-2 and PIM-3, comparing the docking scores of true binders with a known Ki from CHEMBL against 14 million compounds from the ZINC database. A clear separation in scores was observed with true binders getting significantly better scores than the ZINC molecules. A small subset of the top scoring ZINC molecules unique for PIM-1 was identified and will be tested experimentally in the future.

28 EXPRESSION SÉLECTIVE DU COMPLEXE CD41/CD61 SUR LES NEUTROPHILES À FAIBLE DENSITÉ CHEZ LES INSUFFISANTS CARDIAQUES.

Melissa DJOUANI, Benjamin Dumont, Alexis Corriveau, Billie Chouinard, Paul-Eduard Neagoe, Michel White, Martin G. Sirois Institut de Cardiologie de Montréal, Département de pharmacologie et physiologie, Université de Montréal

Les LDN (Low Density Neutrophils), représentent un sous-type de neutrophiles circulants quasi-absent chez les volontaires sains (<2% des neutrophiles totaux). Toutefois, nos études récentes démontrent une importante augmentation des taux circulants de LDNs allant jusqu'à 40% des neutrophiles totaux chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque. En comparaison aux



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

neutrophiles physiologiques (*High Density Neutrophils*; HDNs), les LDNs sont associés à un phénotype pro-inflammatoire qui corrèle avec une augmentation des taux circulants de cytokines (IL-6/IL-8), à la formation de *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) et de thrombose vasculaire. Dans la présente étude, nous démontrons pour la première fois, l'expression membranaire du complexe protéique plaquettaire CD41/CD61 (GPIIb/IIIa) sur ~20% des LDNs et non sur les HDNs tant chez les volontaires sains que chez des patients insuffisants cardiaques. De plus, nos résultats préliminaires suggèrent que l'expression du complexe CD41/CD61 augmente de façon spécifique et significative l'adhésion des plaquettes avec les LDNs. En résumé, nos données préliminaires tendent à démontrer que le complexe CD41/CD61 n'est pas exclusif aux plaquettes et que son expression sur les LDNs pourrait leur conférer une fonction biologique pro-inflammatoire absente chez les HDNs. Cette étude permettra de démontrer pour la première fois, l'expression du complexe CD41/CD61 sur les LDNs et ses activités pro-inflammatoires telles que l'interaction plaquette-neutrophile, synthèse de NETs et adhésion des neutrophiles dans un contexte d'insuffisance cardiaque.

30 ZONULA OCCLUDENS-1 (ZO-1) INTÉRAGIE AVEC Y-BOX PROTEIN-1 (YB-1) DANS LES CELLULES ENDOTHÉLIALES POUR RÉGULER LA FORMATION DES GRANULES DE STRESS DURANT L'ANGIOGENÈSE.

Yassine EL BAKKOURI¹, Rony CHIDIAC^{1,2}, Jeanne CORRIVEAU¹, Chantal DELISLE¹ et Jean-Philippe GRATTON¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Donnelly Centre, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada

ZO-1 joue un rôle important dans la biologie des cellules endothéliales (CE) et par conséquent dans l'angiogenèse. Nous avons effectué une étude protéomique afin d'identifier l'interactome de ZO-1 dans les CE. Cette étude a révélé de nouvelles interactions entre ZO-1 et des protéines de liaison de l'ARN importantes dans la formation des granules de stress (GS), notamment avec YB-1. Nous avons examiné l'implication de ZO-1 dans la réponse des CE aux stress cellulaires et dans la formation des GS. Nos résultats démontrent qu'une diminution des niveaux de ZO-1 induit une augmentation du nombre de GS des CE exposées à des stress. Cela a pour conséquence d'augmenter la résistance des CE aux agressions cellulaires. Nous montrons qu'une exposition des CE à un stress réduit l'association entre ZO-1 et YB-1. De plus, YB-1 est nécessaire pour maintenir les effets protecteurs de la diminution des niveaux de ZO-1 sur la viabilité cellulaire. Afin de définir le rôle de ZO-1 dans le développement vasculaire, nous avons généré un modèle de souris transgéniques (pdgfb-iCreER;ZO-1^{n/fl}) permettant d'induire par administration de tamoxifène la délétion de ZO-1 dans les CE. Nous montrons que la perte d'expression endothéliale de ZO-1 cause un arrêt du développement du réseau microvasculaire de la rétine chez les souris et augmente la désorganisation du réseau. De plus, les CE de rétines dépourvues de ZO-1 présentent plus de GS que les CE des souris témoins. Nos résultats démontrent que ZO-1, par son interaction avec YB-1, contrôle la formation des GS et la réponse des CE aux stress durant l'angiogenèse.

32 L'IMPACT DU CHANGEMENT DE CLASSE DES MÉDIATEURS LIPIDIQUES BIOACTIFS SUR LA MYOGENÈSE ET LE FONCTIONNEMENT DU MUSCLE STRIÉ SQUELETTIQUE.

Paul FABRE, Molina Thomas, Junio Dort, Zakaria Orfi and Nicolas A. Dumont CHU Sainte Justine. Université de Montréal

The formation of skeletal muscle during prenatal development, post-natal growth or regeneration is ensured by muscle stem cells. The myogenesis process is highly regulated and is characterized by the activation of quiescent muscle stem cells, which become proliferating myoblasts that eventually exit the cell cycle to self-renew or to differentiate and fuse to form myotubes. Many extrinsic factors secreted by neighbouring cells in the muscle stem cell microenvironment were shown to regulate myogenic cell fate decision. However, the intrinsic mechanisms regulating muscle stem cells progression during myogenesis are still elusive.

Here we hypothesize that the bioactive lipids class switching, an auto-regulatory mechanism during which pro-inflammatory lipids mediators are replaced by pro-resolving lipid mediators, is a key regulator of myogenic fate.

This substitution is the consequence of a switch in the enzymatic profile, leading to the replacement of pro-inflammatory enzymes Cyclooxygenase-2 (COX-2) or 5-lipoxygenase (Alox5) by anti-inflammatory enzymes, 12- and 15- lipoxygenase (Alox12, Alox15). Our *in vitro* experiments revealed that myogenic cells express bioactive lipids, the enzymes responsible for their biosynthesis as well as their receptors.

Furthermore, our *in vitro* analysis shows that the enzymatic switch occurs when myoblasts exit the cell cycle to differentiate. Using mice deficient in the different bioactive lipid enzymes our *in vivo* experiments demonstrated the impaired myogenesis. Besides, this defect is rescued by bioactive lipids administration. In summary, our study will provide a better comprehension on the mechanisms regulating muscle stem cells during myogenesis, which could open new therapeutic avenues for skeletal muscle growth and regeneration.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

34 DÉVELOPPEMENT D'UNE BIO-IMPRIMANTE 3D PORTABLE POUR UNE APPLICATION D'INGÉNIERIE TISSULAIRE CORNÉENNE.

Mojtaba FARAHANI^{1,2}, Houman Savoji¹, May Griffith²

- ¹ Institute of Biomedical Engineering, Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, University of Montreal, Montreal, QC, Canada. Research Center, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine, Montreal, QC, Canada
- ² Centre de Recherche Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, QC, Canada, Department of Ophthalmology and Institute of Biomedical Engineering, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

The global shortage of cornea donors has become a significant challenge for patients with corneal defects, leaving millions on waiting lists with only a small chance of being treated. Corneas are crucial for the visual system, providing two-thirds of the eye's focusing power. The lack of donors and long waiting lists for transplantation are significant issues, prompting the need for alternative treatments.

One promising solution is in situ bioprinting, which involves the use of handheld bioprinters to repair damaged tissues by depositing pro-healing bioinks at the defect site. LiQD Cornea, a cell-free, liquid hydrogel matrix for corneal regeneration, has emerged as an alternative to conventional transplantation and sealants. The hydrogel comprises short collagen-like peptides, polyethylene glycol, and fibrinogen to promote tissue adhesion, and it spontaneously gels at body temperature within five minutes, making it practical and cost-effective.

The in situ bioprinting of LiQD cornea can be a promising approach for corneal perforation substitution, providing a low-cost solution for patients in need. Developing a dedicated handheld bioprinter for cornea tissue would be a game-changing achievement, enabling surgeons to deliver LiQD cornea easily to the marked perforation site on the cornea tissue. The cornea handheld bioprinter is also open-source, allowing for widespread accessibility and innovation.

The global donor cornea shortage is a significant challenge for patients with corneal defects. However, in situ, bioprinting using LiQD cornea offers a promising alternative to traditional transplantation and sealants. Developing a low-cost handheld bioprinter dedicated to cornea tissue could revolutionize the field and improve accessibility for patients in need.

36 EFFICACITÉ D'UN CANDIDAT THÉRAPEUTIQUE, RYTVELA, À PRÉVENIR LES DOMMAGES CÉRÉBRAUX ET OCULAIRES DU NOUVEAU-NÉ DANS UN CONTEXTE DE TRAVAIL PRÉTERME.

Béatrice FERRI^{1,2}, Tiffany Habelrih^{1,2}, Xin Hou¹, France Côté^{1,2}, Christiane Quiniou¹ et Sylvain Chemtob^{1,2}

- ¹ Département de Pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche, CHU Sainte-Justine

La prématurité est la principale cause de mortalité néonatale dans le monde entier. De nombreuses études ont montré que l'interleukine-1β joue un rôle majeur dans la physiopathologie de l'accouchementprématuré en induisant la production de médiateurs pro-inflammatoires. L'inflammation dans le milieu gestationnel entraine des dommages aux organes fœtaux, notamment au niveau cérébral. Il n'existe aucun traitement efficace pour remédier à cela, d'où l'importance de développer de nouvelles voies thérapeutiques.

Le laboratoire de Dr Chemtob a développé rytvela, un antagoniste allostérique du récepteur de l'interleukine-1 qui prévient efficacement le travail préterme. L'étude vise à évaluer l'efficacité de l'administration en traitement de rytvela pour prolonger la gestation, moduler la cascade inflammatoire pathologique et ainsi protéger l'intégrité cérébrale et oculaire des souriceaux. L'hypothèse de recherche est que rytvela permet de moduler l'inflammation dans le milieu gestationnel et ainsi préserve l'intégrité du tissu oculaire et cérébral du nouveau-né dans un contexte de travail préterme. L'étude a été menéedans un modèle murin de travail préterme (LPS). Rytvela (2 mg/kg/jour s.c.) a été injecté 2 h après l'induction du travail préterme au 16e jour de gestation. Les taux de prématurité, de survie et le poids des nouveau-nés ont été mesurés. Les cerveaux et les yeux des souriceaux ont été prélevés à la naissance et au 7e jour post-terme et analysés par histologie.

L'administration de rytvela jusqu'à 2 heures après l'induction du travail préterme permet une diminution significative du taux de prématurité (diminution jusqu'à 54%; p<0,05). L'efficacité de rytvela au niveau de l'œil et du cerveau dans un modèle de prématurité demeure à déterminer lors d'analyses futures (travaux en cours).

38 LE KNOCKDOWN SPÉCIFIQUE D'ARF6 RÉDUIT LA PROGRESSION DE L'ATHÉROSCLÉROSE CHEZ UN MODÈLE MURIN.

Emilie FIOLA-MASSON¹, Shirley Campbell¹, Véronique Laplante¹, Pierre Chambon², Marc J. Servant³, Yasunori Kanaho⁴, Jean-François Gauchat¹, Audrey Claing¹

¹ Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec H3T 1J4, Canada



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

- ² Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire Centre National de la Recherche Scientifique, National de la Sante et de la Recherche Medicale, ULP, Collège de France, Illkirch-Strasbourg, France
- ³ Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montreal, Quebec H3T 1J4, Canada
- ⁴ Department of Physiological Chemistry, Faculty of Medicine and Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennohdai, Tsukuba 305- 8575, Japan

Lors du développement de l'athérosclérose, les cellules du muscle lisse vasculaires (CMLV) se transforment phénotypiquement. Elles prolifèrent, migrent et deviennent invasives afin de contribuer au développement de la plaque. Nous avons identifié les GTPases de la famille des ARFs comme interrupteur moléculaire central de ces changements dans des modèles cellulaires. Le but principal de notre étude est de déterminer si dans des modèles animaux, la délétion du gène d'ARF6 réduit la progression de l'athérosclérose.

Nous avons donc développé un nouveau modèle accéléré murin inductible permettant la délétion spécifique d'ARF6 dans les CMLV (Acta2-Cre-ERT2+/ApoE-/Arf6/f). La caractérisation initiale du modèle a permis de démontrer la spécificité de l'inhibition d'ARF6 dans le muscle lisse. Après dix semaines sous diète riche en gras, les aortes des souris ont été prélevées. Par coloration au Oil Red O, nous avons observé une diminution de la taille des lésions chez les animaux ARF6 KO. Cette diminution était accompagnée d'une modification de la structure des plaques. De plus, les populations de cellules leucocytaires pro-inflammatoires circulantes diminuaient dans les souris KO. Pour comprendre le rôle d'ARF6 dans le développement des lésions athérosclérotiques, des études in vitro dans un modèle de CMLV humaines ont aussi été réalisées. Nos résultats suggèrent qu'ARF6 est impliquée dans l'absorption des lipides oxydés, entraînant la formation des cellules spumeuses. Ces études ont permis de démontrer qu'ARF6 joue un rôle important dans les changements phénotypiques des CMLV nécessaires pour la progression de la maladie dans un modèle préclinique.

40 DÉVELOPPEMENT D'APPROCHES THÉRAPEUTIQUES POUR PROTÉGER LE CERVEAU DE LA RIGIDITÉ ARTÉRIELLE.

Joe GERMANOS^{1,2,3,4}, J. YOUWAKIM^{1,2,3,4}, B. LE GAC^{1,2,3,4}, D. VALLERAND^{1,2,3,4}, H. GIROUARD^{1,2,3,4}

- ¹ Physiologie et pharmacologie, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada
- ² Groupe de Recherche Universitaire sur le médicament (GRUM)
- ³ Centre interdisciplinaire de recherche sur le cerveau et l'apprentissage (CIRCA), Montréal, QC, Canada
- ⁴ Groupe de recherche sur la Signalisation Neurale et la Circuiterie (SNC), Montréal, QC, Canada

Mon projet de recherche a pour but de développer des approches thérapeutiques pour protéger le cerveau de la rigidité artérielle. Chez toute personne, même en bonne santé, nos artères se rigidifient avec l'âge, surtout à partir de 50 ans. Cette rigidité peut être accentuée par certains modes de vie ou pathologies comme le tabagisme et le diabète. Il est important de garder nos artères souples car la souplesse des artères est responsable de l'absorption de l'énergie pulsatile du sang à la sortie du cœur qui donne un débit continu dans les plus petits vaisseaux. En revanche, lorsque les artères sont rigides, les petits vaisseaux reçoivent un flux sanguin très pulsé et leur structure n'est pas faite pour résister à ce type de stress. Il peut donc en résulter des lésions des petits vaisseaux. Nous proposons de tester les effets protecteurs de trois agents pharmacologiques dans un modèle murin de rigidité artérielle : le sildénafil, le tempol et la minocycline. Nous allons vérifier si ces médicaments réduisent la rigidité carotidienne tout en offrant une neuroprotection. Les médicaments ont été choisis en fonction de trois mécanismes cérébraux qui sont altérées dans notre modèle : Flux sanguin cérébral (sildénafil), production de radicaux libre (tempol) et inflammation/activation microgliale (minocycline). Ces paramètres seront évalués par débitmétrie et immunohistochimie. Ces résultats serviront d'assise à des traitements chez des patients en combinaison avec ceux qui diminueraient la rigidité artérielle.

42 LES MÉCANISMES DE SUPPRESSION TUMORALE SONT PRÉSERVÉS CHEZ LES FIBROBLASTES DÉRIVÉS DE CELLULES SOUCHES PLURIPOTENTES INDUITES.

GOYER, Marie-Lyn1,2, DESAULNIERS-LANGEVIN, C.2, BENABDALLAH, B.2, BEAUSÉJOUR, C.1,2.

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal
- ² Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Québec, Canada

Avec l'émergence de nouvelles applications utilisant des cellules souches pluripotentes induites (iPSC), il importe de mieux caractériser ces cellules au niveau moléculaire. De fait, il a été observé que les gènes suppresseurs de tumeur *TP53* et *CDKN2A* sont inactivés de façon transitoire lors de la reprogrammation cellulaire. Cependant, le niveau d'activité et la fonction de ces gènes après la différenciation des cellules humaines restent encore peu étudiés. Nous croyons que la reprogrammation cellulaire pourrait alors rendre les cellules différenciées plus sujettes à la transformation. Par conséquent, nous avons évalué l'intégrité des voies moléculaires clés (sénescence cellulaire, apoptose et réparation de l'ADN) dans des fibroblastes humains dérivés d'iPSC



27ème édition de la journée de la recherche GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

comparativement aux fibroblastes parentaux issues d'une biopsie cutanée du même donneur. L'expression des marqueurs d'arrêt du cycle cellulaire a été vérifiée par western blot et/ou qPCR après l'induction de dommages à l'ADN. La capacité à interrompre leur croissance et à entrer en sénescence après irradiation ou surexpression d'un oncogène muté (HrasV12) s'est avéré aussi efficace entre les fibroblastes parentaux et redifférenciées. La capacité de réparation cellulaire, évaluée par la quantité de foyers de dommages à l'ADN (yH2Ax et 53BP1) après irradiation, est aussi similaire. Certaines lignées cellulaires dérivées d'iPSC semblent toutefois plus sensibles à divers stress, corroborant avec des niveaux plus élevés de p21 et GDF15 en réponse à ceux-ci. En conclusion, les fibroblastes dérivés d'iPSC ne semblent pas plus à risque de transformation, mais présentent une disparité clonale pouvant les rendre plus susceptibles à divers types de dommages et limiter leur prolifération.

44 L'ACTIVATION DE FLT4 INDUIT LA CHIMIORESISTANCE DANS LA LEUCÉMIE VIA LASTABILISATION DE MDM2/MDMX ET LA SUPPRESSION DE P53.

Djazia HAFERSSAS^{1,3}, Marion Dubuissez^{1,2,3}, Jonatan Barrera-Chimal³, Clémence Messmer^{3,5}, El Bachir Affar^{3,5},Bruno Larrivée^{1,4}, Xue-Song Liu⁶ and Casimiro Gerarduzzi^{1,3,4}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Québec, Canada
- ² Département de Microbiologie et Immunologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Québec, Canada
- ³ Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Faculté de médecine, centre affilié à l'Université de Montréal, Québec, Canada
- ⁴ Département de médecine, Faculté de médecine, Université de Montréal, Québec, Canada;
- ⁵ Département de Biochimie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Québec, Canada
- ⁶ School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai, China

Background: Aberrant Receptor Tyrosine Kinase (RTK) signaling allows cancer cells to modulate survival, proliferation and apoptosis, leading to tumorigenesis and chemoresistance. In leukemia, FLT4 is frequently deregulated, which correlates with cancer progression. However, little is understood about its overexpression and association with drug resistance. Moreover, chemotherapies require the activation of wild type p53 (wt) in tumor cells to induce their apoptosis. Although p53 is rarely mutated in leukemia (5%), it is unclear why its wild type state is non-functional. Indeed, p53 is negatively regulated by the MDM2/MDMX complex, overexpressed in leukemia, potentially leading to p53 inactivation. The signals modulating the MDM2/MDMX complex levels and p53 could come from deregulated FLT4 to increase the survival of tumor cells.

Objective: characterize the mechanisms of p53 inactivation by FLT4 in leukemic cells to re-activate p53 function and sensitize leukemic cells to chemotherapy-induced apoptosis.

Methods: Using HEK293T and U2OS cellular models, FLT4, MDM2 and MDMX vectors were co-transfected to assess the stability and localization of MDM2/MDMX and analyzed by Mass Spectrometry. The leukemic cell line (REH) was 1) treated with the FLT4 specific ligand (VEGF-C) or 2) transduced and was studied for MDM2/MDMX stability, p53 expression, survival under chemotherapy treatment and proliferation.

Results: The activation of FLT4 stabilizes the complex MDM2/MDMX mediated by CDK4/6 leading to the p53 degradation, the relocalization of MDM2/MDMX to the cytoplasm and resistance to apoptosis.

Conclusion: The aberrant activation of FLT4 increases the proliferation and survival of leukemic cells by stabilizing the complex MDM2/MDMX and suppressing p53-mediated apoptosis

46 DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE CLASSE DE MATÉRIAUX PHOTOSENSIBLES POURL'INGÉNIERIE TISSULAIRE ET LES APPLICATIONS DE BIO-IMPRESSION 3D.

Arman JAFARI, Houman Savoji

Institute of Biomedical Engineering, Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, University of Montreal Research Center, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine, Montreal TransMedTech Institute

Materials, specifically polymers, are extensively used to develop tissue-engineered scaffolds. These scaffolds would act as temporary housing for cells providing support for their survival and proliferation. Hydrogels are a class of polymeric scaffolds that can readily swell in water. Hydrogels will offer an environment that is relatively similar to the native extracellular matrix; therefore, they are great candidates for tissue engineering applications. Plenty of approaches are available for crosslinking polymeric backbones (hydrogel precursors) and preparing hydrogels. Considering the potential combination of these precursors with cells, crosslinking method should be carefully selected. Cells should be able to withstand the crosslinking procedure with minimal to no adverse effect on their behavior. Several studies have shown that applying photosensitive materials for radical polymerization upon exposure to visible light could be a promising approach that can meet such criteria. As a result, the development of new photosensitive materials is in high demand for tissue engineering applications. Here, for



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

the first time, we have developed a new photosensitive material using quince seed mucilage (QS). Several reaction conditions have been tested to find the effect of reaction conditions on the outcome. Synthesized materials have been characterized to investigate their physicochemical and mechanical properties. Obtained results have shown the success of modification of QS to produce photosensitive materials. Besides, they were applied for 3D printing and were successfully 3D printed. Fabricated hydrogels were also shown to be suitable for cell encapsulation. Overall, the results show the potential of these materials for tissue engineering applications.

48 LA RÉGULATION DES CANAUX HCN PAR DES MÉDICAMENTS.

Amélie JEAN JACQUES, Nazzareno D'AVANZO, Audrey CYR-ATHIS Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Les canaux ioniques HCN (hyperpolarization activated cyclic-nucleotide gated) font partie de la grande famille de canaux potassiques et sont exprimés dans le cœur et le système nerveux. Ils sont activés par l'hyperpolarisation de la membrane plasmique et permettent l'entrée d'ions Na+ dans la cellule et la sortie K+ hors de la cellule pour ramener la membrane au potentiel de repos lors d'un potentiel d'action. La dérégulation de ces canaux est impliquée dans des pathologies comme le trouble de dépression majeur, l'épilepsie et le parkinson. Les canaux HCN sont donc des cibles thérapeutiques intéressantes. Par conséquent, le but de ce projet est de tester un nouveau médicament qui pourrait réguler les canaux HCN1, soit la Quétiapine. Il a déjà été démontré que ce médicament inhibe les canaux hERGS qui sont d'autres canaux potassiques, donc l'hypothèse posée est que la Quétiapine inhiberait peut-être aussi les canaux HCN. Pour répondre à l'hypothèse, la technique de pince de tension à 2 électrodes a été utilisée sur la membrane plasmique des ovocytes de grenouilles Xenopus laevis exprimant l'isoforme 1 des canaux HCN. Selon les résultats, la Quétiapine n'a pas d'effets significatifs sur les canaux HCN1. La Norquétiapine (NQTP), qui est le métabolite actif majeur de la Quétiapine à 30 uM et 35 uM réduit le courant des canaux HCN1 de 10%, hyperpolarise les courbes d'activation de -15 mV (test de student valeur p < 0.05) et ralentit la cinétique d'activation des canaux HCN1. Ces résultats suggèrent que la NQTP inhibe les canaux HCN1.

50 PROPAGATION RÉTROGRADE DE LA PROTÉINE TAU ENTRE L'HIPPOCAMPE ET LE CORTEX ENTORHINAL CHEZ LA SOURIS.

Daniel LAMONTAGNE-KAM et Jonathan BROUILLETTE

Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médicine, Université de Montréal

La pathologie tau est un marqueur neuropathologique majeur de la maladie d'Alzheimer (MA) et est fortement liée au déclin cognitif des patients. La protéine tau se propage de manière stéréotypée du cortex entorhinal à l'hippocampe au début de la maladie. Plusieurs études examinant la propagation de tau ont été effectuées en utilisant la protéine tau mutée ou des modèles animaux transgéniques. Étant donné que la protéine tau n'est pas mutée dans la MA, l'objectif principal de cette étude est d'évaluer la propagation rétrograde de la protéine tau non mutée chez la souris. Des fibrilles préformées de tau (2 µg) de petite taille (50-200 nm) ou la solution véhicule contrôle sont injectées dans l'hippocampe de souris C57BL/6J âgées de 2 mois. La protéine tau mutée P301L est également injecté pour déterminer s'il y a une variation de propagation entre les formes mutées et non mutées de tau. La propagation est évaluée à la suite d'injections uniques ou chroniques (24 h après une injection, ou 24 h, 1, 2, 4, 10 ou 13 semaines après 5 journées d'injections consécutives). Les niveaux de propagation et de neurodégénérescence sont déterminés en utilisant des anticorps anti-tau (AT8) et anti-NeuN. Étant donné que la protéine tau se propage avant d'être hyperphosphorylée et de former de gros agrégats, l'étude de la propagation de la protéine tau humaine non mutée dans un modèle de souris non transgénique fournira des informations importantes sur la manière dont la tau influence la neurodégénérescence et le déclin cognitif dans la MA.

52 UNE NOUVELLE ACTIVITÉ INTRACELLULAIRE POUR LA CYTOKINE CLCF1.

Véronique LAPLANTE¹, Marine Rousseau², Ernesto Fajardo³, Sarah Pasquin⁴, Sylvie Lesage⁴, Jean-François Gauchat¹

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ³ Centre de recherche de l'Hôpital Maissoneuve-Rosemont
- ⁴ Département de microbiologie, infectiologie et immunologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal et Centre de recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

La Cardiotrophin-like Cytokine Factor 1 (CLCF1) est une cytokine de la famille de l'IL-6 qui est sécrétée en complexe avec le Cytokine Receptor-like Factor 1 (CRLF1). CLCF1 possède plusieurs fonctions immuno-régulatrices : Chez la souris, une surexpression



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

transgénique de CLCF1 induit une expansion des lymphocytes B dans les organes lymphoïdes secondaires et une hyperglobulinémie, alors que des injections de CLCF1 mènent à une augmentation de la proportion de cellules myéloïdes CD11b+ en circulation. Nous avons étudié l'expression de CLCF1 dans les cellules immunitaires en utilisant la cytométrie en flux sur des cellules primaires de rate. Nous avons détecté CLCF1 dans des lymphocytes T CD4+ et CD8+ primaires, ainsi que dans des lymphocytes T CD4+ différentiés en Th1 et Th17. De manière intéressante, l'ARNm de CRLF1 est indétectable dans les cellules immunitaires, ce qui suggère que CLCF1 est exprimée, mais non-sécrétée par les cellules immunitaires. Ceci nous a amené à l'hypothèse que CLCF1 est un modulateur intracellulaire de la fonction des lymphocytes T. Dans ce projet, nous démontrons que CLCF1 peut former un complexe avec l'une des chaînes du récepteur de l'IL-12, IL12Rβ2, et que la co-expression de CLCF1 et IL12Rβ2 dans des cellules HEK293T mène à la dégradation d'IL12Rβ2 et à une diminution de l'expression de surface d'IL12Rβ2. En conclusion, nos résultats suggèrent que CLCF1 pourrait agir comme régulateur de la voie de signalisation de l'IL-12, telles que la sclérose en plaques et l'arthrite rhumatoïde.

54 CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE DU RÔLE DE LA VOIE MTOR DANS LA VASCULARISATION RÉTINIENNE.

LECOURS Alice¹, ANQUETIL T^{2,3}, BIZOU M^{2,3}, DUBRAC A^{2,3}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Département de pathologie et biologie cellulaire, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ³ Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine

La voie mTOR (mammalian target of rapamycin) exerce un rôle central dans le maintien de l'homéostasie cellulaire et physiologique en régulant de nombreux processus tels que la croissance, la prolifération et la survie cellulaire. Des perturbations dans la régulation de cette voie sont à l'origine de troubles métaboliques, de cancers, du vieillissement et de neurodégénérescence. Des études réalisées durant les dernières années ont rapporté que mTOR joue également un rôle dans le développement et le maintien de la vascularisation rétinienne, le dérèglement de celle-ci étant impliqué dans diverses maladies ophtalmiques telles que la rétinopathie diabétique et la dégénérescence maculaire liées à l'âge. Dans le but d'explorer la voie mTOR comme cible thérapeutique pour les maladies vasculaires rétiniennes, il est tout d'abord essentiel de comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans son rôle dans le développement. Ainsi, l'objectif de ce projet est de décrire le rôle de la voie mTOR dans le développement de la vascularisation rétinienne en étudiant les péricytes et les cellules endothéliales des rétines d'un modèle de souris transgénique possédant une CRE tamoxifène-inductible. Cette dernière induira la suppression soit de Raptor, une protéine majeure du complexe 1 de mTOR, soit de TSC1, un régulateur négatif de l'ensemble de la voie. Nous prévoyons qu'une diminution de la signalisation de mTOR sera observée dans les péricytes et les cellules endothéliales des souris Raptor mutante, ce qui se traduira par un réseau vasculaire appauvri avec une prolifération et une migration cellulaire réduite. D'autre part, une augmentation de la signalisation de mTOR devrait être observée dans les péricytes et les cellules endothéliales des souris TSC1 mutante, ce qui pourra être constaté par une prolifération et une migration cellulaire augmentée.

56 LA DÉPLÉTION D'ARF1 DIMINUE LES NIVEAUX PROTÉIQUES DU POINT DE CONTRÔLE IMMUNITAIRE PD-L1 DANS LE CADRE DU CANCER DU SEIN TRIPLE NÉGATIF.

Rania LEJRI1, Audrey Claing1

¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec H3T 1J4, Canada

Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est la forme la plus agressive de cancer du sein. Notamment, la petite protéine G ARF1 est surexprimée dans ces cancers et contribue au pouvoir invasif des cellules tumorales menant à la formation de métastases. Notre hypothèse est que l'augmentation de l'expression d'ARF1 confère des avantages aux cellules tumorales en modulant les signaux envoyés au stroma pour échapper à la surveillance immunitaire. D'après nos résultats préliminaires, la déplétion d'ARF1 par shRNA réduit l'expression membranaire de PD-L1, une protéine clé dans la suppression de l'immunité anti-cancéreuse. Le but principal de l'étude est d'élucider les mécanismes moléculaires par lesquels ARF1 contrôle l'expression et la fonction de PD-L1.

Nous avons d'abord vérifié si la déplétion d'ARF1 affecte l'expression génique de PD-L1. L'ARN total, analysé par qRT-PCR, des cellules MDA-MB-231 témoins (shRNA contrôles) ou déplétées en ARF1 (shRNA ARF1), stimulées ou non à l'IL-6 ou l'EGF, indique qu'ARF1 n'affecte pas les niveaux d'ARNm de PD-L1, suggérant une régulation post-traductionnelle de PD-L1. En effet, nos expériences récentes de FACS et d'immunobuvardage de type Western confirment que la surexpression d'ARF1 augmente les niveaux d'expression protéique de PD-L1 à la membrane. Actuellement, nous évaluons comment ARF1 peut influencer l'ubiquitination, la glycosylation et la phosphorylation de PD-L1, des processus liés respectivement à sa dégradation, sa stabilité protéique et sa diminution d'expression protéique.

Nos résultats permettront de mieux comprendre le rôle de la GTPase ARF1 dans la régulation des molécules de contrôle cruciales pour l'évasion du système immunitaire.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

58 UN TRAITEMENT SÉNOLYTIQUE AFIN D'AMÉLIORER L'IMMUNOGENICITÉ TUMORALE.

Damien MAGGIORANI¹, Oanh Le¹, Véronique Lisi¹, Hélène Decaluwe¹ et Christian Beauséjour¹

¹ Département de pharmacologie, centre de recherche du CHU Sainte-Justine

La sénescence est un processus associé au vieillissement qui modifie profondément la biologie cellulaire. Les cellules sénescentes arrêtent de proliférer, modifient leurs fonctions et acquirent un nouveau profil sécrétoire. Des études récentes démontrent que les cellules sénescentes sont délétères puisque leur élimination par approche pharmacologique via l'utilisation de composés appelés « sénolytique » permet de réduire la survenue de pathologies associées au vieillissement. Il est aujourd'hui décrit que les patients âgés ou/et les survivants du cancer ayant subis une radio/chimiothérapie accumulent des cellules sénescentes, notamment, au sein des organes lymphoïdes secondaires comme la rate. Cette accumulation favorise une diminution de la réponse immunitaire, toutefois son rôle dans le maintient de l'efficacité des traitements anti-tumoraux reste encore à démontrer. Ainsi, notre étude consiste à déterminer l'effet de la senescence sur l'efficacité du traitement anti-tumorale par immunothérapie. Pour cela, nous utilisons un modèle murin de sénescence induit dans lequel nous éliminons les cellules sénescentes par une approche sénolytique via traitement par ABT263. Nous avons démontré que l'immunothérapie anti-tumorale perd en efficacité dans les souris sénescentes. Par une approche de séquençage sur cellules uniques du micro-environnement tumorale nous avons observé que cette résistance est associée à une infiltration de cellules myéloïdes immunosuppressives. De plus, un traitement sénolytique par ABT263 diminue l'infiltrat de ces cellules myéloïdes et restaure l'efficacité de l'immunothérapie. Cette étude ouvre ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques chez les patients âgés et les survivants du cancer.

60 DÉPLACEMENT DE STRUCTURES VOISINES DU BICEPS BRACHIAL LORS D'UNE ROTATION DE LA MAIN.

MATHIEU Pierre A, Laurier J., Bertrand M.

Institut de génie biomédical. Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal

Une sonde ultrasonore a été placée transversalement au-dessus du milieu du biceps de 6 sujets pour détecter sur les images échographiques les déplacements associés à un changement de la posture de la main de pronation à supination. Le contour du biceps a été délimité pour quantifier sa surface transverse et un triangle défini par le sommet de l'humérus et la position des veines céphalique et basilique avoisinant le biceps a servi pour en établir le déplacement. De pronation à supination, la surface de la coupe du biceps augmente de façon plus importante lorsque le bras est plié et le sujet assis que lorsqu'il est debout avec son bras en extension sur le côté. Dans ces conditions, l'aire des triangles augmente aussi et une faible relation linéaire est présente entre ces deux mesures (pentes entre 1,27 et 2,24 avec des valeurs R² comprises entre 0,23 et 0,93). Pour caractériser les changements, on a utilisé une analyse de la transformation affine des régions triangulaires estimée entre deux postures de la main. On trouve une déformation assimilable à la transformation d'un cercle en une ellipse dont la réduction d'un axe est accompagnée de l'allongement de l'autre axe. Ainsi dans une coupe au milieu du biceps, le déplacement de structures voisines du muscle, dû à un changement de posture de la main, suggère que l'augmentation de la surface du biceps pourrait résulter d'une compression dans une direction accompagnée d'une expansion dans une direction perpendiculaire.

ÉTUDE DE L'EFFET *IN VITRO* ET *IN VIVO* DES MÉDIATEURSLIPIDIQUES VISANT LES ALTÉRATIONS DES CELLULES SOUCHES MUSCULAIRES OBSERVÉES EN DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE TYPE 1 (DM1).

MOKHTARI Inès¹, Molina Thomas¹, Fabre Paul¹, Taeyeon Kim¹, Duchesne Élise², Dumont Nicolas¹

- ¹ Département de physiologie et pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Centre de recherche du CHU Sainte Justine
- ² Département des sciences de lasanté, Université du Québec à Chicoutimi, Centre intégré universitaire de santé et de services sociaux du Saguenay–Lac-St-Jean

Introduction: La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) représente la myopathie la plus fréquente chez l'adulte. Cette maladie est associée à un profil inflammatoire anormalement élevé et à une diminution de la fonction des cellules souches musculaires (CSM). Des études récentes montrent que les médiateurs lipidiques dérivés des omégas-3, comme marésine 2 (MR2) et résolvines D2 (RvD2), ont unrôle actif dans la résolution de l'inflammation. Cependant, leur potentiel thérapeutique pour le traitement de maladies musculaires demeure méconnu.

Objectifs: Évaluer l'effet *in vitro* et *in vivo* des médiateurs lipidiques sur l'inflammation et la fonction des CSM en DM1. **Méthodologie**: Des CSM issues de patientsDM1 ont été utilisées pour évaluer l'expression des gènes inflammatoires par séquençage de cellules uniques. De plus, la quantification des macrophages a été effectuée sur des coupes musculaires de patients DM1. L'impact des médiateurs lipidiques sur la fonction des CSM et sur l'expression des gènesde l'inflammation a été évalué par immunofluorescence et qPCR. Des souris DM1 ont été traitées afin d'évaluer la force musculaire.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Résultats: Les macrophages et plusieurs gènes inflammatoires (CXCL1,IL1, IL6 et CXCL8) sont surexprimés chez les sujets atteints en comparaison aux sujets sains. Les médiateurs MR2 et RvD2 ont diminués divers marqueurs inflammatoires (TNFα et l'IL1) et augmenté significativement la différenciation et la prolifération des CSM. Le traitement des souris avec RvD2 a augmenté significativement leur force musculaire

Conclusion : Ce projet novateur ouvre une nouvelle stratégie thérapeutique pour limiter les atteintes musculaires observées en DM1.

LA PHARMACOGÉNÉTIQUE DE LA MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HÔTE CHEZ LES PATIENTS PÉDIATRIQUES SUBISSANT UNE TRANSPLANTATION DE CELLULES SOUCHE HÉMATOPOÏÉTIQUE.

Covida MOOTOOSAMY¹,², Vincent Gagné¹, Charlenn Flament¹, Marc Ansari¹, Yves Théorêt¹,³, Antoine Chatelain-Laflamme¹, Henrique Bittencourt¹ & Maja Krajinovic¹,²,³

- ¹ Charles-Bruneau Cancer Center, CHU Sainte-Justine Research Center, Montreal, QC, H3T 1C5, Canada
- ² Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, University of Montreal, Montreal, QC, H3T 1J4, Canada
- Department of Pharmacology & Physiology, Faculty of Medicine, University of Montreal, Montreal, QC, H3T 1J4, Canada

Graft-versus-host disease (GVHD) is a common complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). It occurs following recognition of host tissues as foreign by donor T cells, resulting in donor immune cells attacking recipient tissues. Previous studies suggest that genes coding for different components of the immune system, like cytokines and human leukocyte antigen (HLA), may contribute to the development of GVHD. This study seeks to evaluate and verify associations between polymorphisms in cytokines and HLA alleles with GVHD, to develop a predictive model of GVDH.

Participants were recruited from the biobank of the Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine and in the context of a multicenter study (European Society for Blood and Marrow Transplantation). They were distributed in a discovery cohort (n=87) and replication cohort (n=182). The genotypes were obtained through whole exome sequencing (WES data available for discovery cohort and by allele specific PCR in replication cohort). Fifty-eight HLA alleles with carrier frequency above 5% were identified from WES data and analyzed with acute GVHD (grades 2-4). Some HLA alleles were associated with higher GVHD risk, such as HLA-DRB1*07:01 (p=0.004) and HLA-B*15:01 (p=0.009). Carriers of haplotype harboring both alleles had the highest risk (p<0.001). Allele-specific PCR was previously developed for HLA-DRB1*07:01. The same approach is currently being developed for HLA-B*15:01. Analyses are being done in the discovery cohort to verify concordance with sequencing data. Overall, our study aims to highlight the importance of genetics in the development of GVHD and of personalized of risk management for patients receiving allogeneic HSCT.

66 LA PERTE DE PARKIN DÉCLENCHE UNE RÉPONSE INFLAMMATOIRE ET UN STRESS MÉTABOLIQUE DANS LES ASTROCYTES PRIMAIRES.

Sriparna MUKHERJEE, Marie-Josee Bourque, Ilyes Nedjar, Nicolas Giguère, Alex Tchung, Marianne Boutin, Louis-Eric Trudeau Department of Pharmacology and Physiology, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Parkinson's disease (PD) occurs due to aberrant molecular events both inside degenerating neurons (cell autonomous) and in other non-neuronal cells (non cell autonomous). Regarding the cell autonomous mechanism, various research indicate accumulation of α synuclein and oxidative stress due to impaired mitochondrial function .Regarding the non-cell autonomous mechanism, role of glial cells is widely established. Although role of microglia has been extensively studied, the contribution of astrocytes has started to be uncovered. The present work speculates that astrocytes deficient for Parkin will have functional alterations in mitochondria, therefore might show an exacerbated inflammatory response in presence of pathogen associated molecular patterns. To validate our hypothesis, we generated primary glial cultures from WT and Parkin KO mice pups and 10 days after we purified the astrocytes. These cells were challenged with LPS and IFNy and after 6,12 and 24 hrs post treatment, we analysed secretion of cyto-chemokines and found elevated IL-6 secretion in the KO cells. The LPS treated WT and KO astrocytes also had higher expression of iNOS, CCL5, CCL2 and CXCL10 indicative of the cells being pro-inflammatory. Moreover, we observed the changes in glycolytic and mitochondrial respiration pathways upon LPS challenge. Our observations demonstrate that astrocytes become reactive upon PAMP treatment and their metabolic fine-tuning leads to secretion of inflammatory molecules. We postulate that these reactive astrocytes will have an impact on cellular integrity and function of dopamine neurons, and we aim to co-culture these cells together to understand the pathophysiology of PD in context of astrocyte driven inflammation.



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

68 TRAJECTOIRES DE RECHUTE : IMPACT DES STIMULI ASSOCIÉS À LA COCAÏNE SUR LA RECHUTE À LA CONSOMMATION DE LA DROGUE CHEZ LE RAT.

Ndeye Aissatou NDIAYE¹, Domiziana CASALE², Sema ABU SHAMLEH³, Sol'Abraham CASTANEDA-OUELLET¹, Mike ROBINSON^{3,4}, Isabel LAPLANTE⁴ et Anne-Noël SAMAHA^{4,5}

- ¹ Département de Neurosciences, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Département de Psychologie, Faculté des arts et des sciences, Université de Montréal
- ³ Psychology Department, Faculty of arts & science, Concordia University
- ⁴ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ⁵ Centre Interdisciplinaire de Recherche sur le Cerveau et l'Apprentissage, Université de Montréal

Dans l'addiction à la cocaïne, la rechute après abstinence mine le rétablissement. Les stimuli associés à la consommation provoquent l'envie de consommer, et la rechute. Ceci inclut les stimuli conditionnés (SCs) et les stimuli discriminatifs (SDs). Les SCs apparaissent simultanément avec les effets de la drogue et y deviennent associés. Les SDs quant à eux informent de la disponibilité (SD¹) ou non-disponibilité (SD¹) de la drogue. Nous avons validé une procédure pour comparer dans les mêmes rats les effets des SCs et SDs sur la rechute. Des rats ont appuyé sur un levier pour des infusions de cocaïne (15 sessions). Des lumières signalaient la disponibilité (SD¹) ou non-disponibilité (SD¹) de la cocaïne. Une 3º lumière (le SC) était présentée avec chaque infusion. Après abstinence, nous avons comparé la rechute provoquée par ces stimuli. La rechute est indiquée lorsqu'un rat revient appuyer sur le levier après abstinence. Compare au SC+, la présentation du SD⁺ a augmenté le comportement de rechute. Après 20 jours d'abstinence, les rats pouvaient aussi appuyer sur le levier pour se faire présenter chaque stimulus (sans cocaïne), nous permettant de mesurer les effets récompensant de ces stimuli. Les rats ont autant appuyé pour obtenir le SD⁺, le SD⁺SC⁺ et le SC⁺. Donc un SD⁺ est un déclencheur de rechute plus puissant comparé à un SC, même quand les deux stimuli ont une valeur récompensant équivalente. Ces données éclairent sur les mécanismes par lesquels des stimuli associes à la cocaïne peuvent induire la rechute.

70 MECANISME DE L'APPARITION D'ALTERNANCE DU POTENTIEL D'ACTION DANS LA FIBRILLATION AURICULAIRE HUMAINE; ROLE DE L'INTER-RELATION ENTRE LA DYNAMIQUE DU POTENTIELMEMBRANAIRE ET CALCIQUE.

Igniole NGOUMBA 1,2, Philippe Comtois 1,2

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Institut de génie biomédical, Montréal, QC, Canada

L'une des arythmies les plus courantes chez les patients est la fibrillation auriculaire (FA) dont l'incidence augmente avec l'âge. La compréhension des mécanismes liants les caractérisques tissulaires et le risque de la FA est centrale pour l'optimisation du traitement. On sait maintenant que les alternances de durée du potentiel d'action (APD) dans le tissu cardiaque facilite la FA. Généralement ces alternances sont associées à des fréquences cardiaques rapides cependant, recement la FA a été observé à des fréquences lentes chez des patients. En partant d'un modèle mathématique avec et sans le remodelage électrophysiologique associé à la FA chronique d'un myocyte humain, notre objectif est de premierement réaliser une analyse de la sensibilité des alternances aux paramètres du modèle, pour se faire, 18 paramètres associés au remodélage de la FA ont été mis à l'échelle entre 30% et 200% de leur valeur initiale ensuite le tissu a été stimué à différentes fréquences et les alternances APD et de Cai ont été quantifiées, elles ont été significatives que pour le changement des paramètres kica et ec50SR liés aux recepteurs à la ryanodines. Nous avons ensuite déterminer les facteurs dynamiques qui modulent l'apparition d'alternance à ces fréquences. Étant donné que le cycle membranaire est couplé au cycle du calcium intracellulaire (Cai) et vice versa, nous développons un modèle de carte itérée représentant la dynamique de l'APD et du Cai afin de mieux comprendre leur rôle dans la sensibilité à la FA, il sera constitué des variables suivantes : calcium total, calcium dans le reticulum sarcoplasmique (RS), calcium intracellulaire et intervalle diastolique

72 CARTOGRAPHIE CELLULAIRE DU MÉTABOLISME DE L'HOMOCYSTÉINE DANS LA RÉTINE.

Aurélien PERDRIEL¹, Sergio Crespo-Garcia¹

¹ École d'optométrie, Université de Montréal

Background: Homocysteine is an amino acid not present in food that our body synthetizes mainly from methionine. In excess, it can cause damage to blood vessels, including those of the retina. The levels of homocysteine increase naturally with age and have been linked to different sight-threatening vascular pathologies including diabetic retinopathy (DR) and age-related macular degeneration (AMD). While hyperhomocysteinemia has been considered a risk factor to DR and AMD, not much is known about the underlying mechanisms leading to disease. Recently, high levels of homocysteine were found elevated in the retina and vitreous of patients with vascular disease, suggesting that there might exist an ocular local metabolism of homocysteine that fails in disease.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Objective: This project aims at elucidating which retina cell types are responsible of the recycling of homocysteine, and whether the process of aging incapacitates the metabolism of homocysteine and predisposes the retina to suffer vascular complications.

Methods: Gene expression was assessed using single-cell RNA sequencing data of the human retina. Protein expression was studied in the aging retina of foveate non-human primates using immunohistochemistry.

Results: The expression of genes involved in the recycling of homocysteine is heterogeneous and varies among retina cell types. Key genes *CBS* and *FOLR1* were highly associated to glial cells, and the preliminary histological validation confirmed the expression of these targets in the inner retina.

74 INHIBITION DE LSD1 AUGMENTE L'IMMUNOGENICITE DES CELLULES SOUCHES MESENCHYMATEUSES.

Fatemeh Mardani^{1,†}, **Wael SAAD^{1,2,†}**, Nehme El-Hachem^{1,3}, Jean-Pierre Bikorimana⁴, Mazen Kurdi², Riam Shammaa⁵, Sébastien Talbot¹ and Moutih Rafei^{1,4,6,*}

- ¹ Department of Pharmacology and Physiology, Université de Montréal, Montréal, QC H3T 1J4, Canada
- ² Department of Chemistry and Biochemistry, Lebanese University, Hadat, Lebanon
- ³ Pediatric Hematology-Oncology Division, Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine Research, Montréal, QC H3T 1C5, Ca
- ⁴ Department of Microbiology, Infectious Diseases and Immunology, Université de Montréal, Montréal, QC H3T 1J4, Canada
- ⁵ Intellistem Technologies Inc., Toronto, ON M5R 3N5, Canada
- ⁶ Molecular Biology Program, Université de Montréal, Montréal, QC H3T 1J4, Canada

Correspondance: moutih.rafei. 1 @ umontreal. ca

[†] These authors contributed equally to this work.

Mesenchymal stromal cells (MSCs) have emerged as a promising tool in regenerative medicine and immune therapy because of their capacity for multilineage differentiation and immune-suppressive effects. However, recent studies have shown that MSCs can be converted into potent antigen presenting cells (APCs) with the ability to stimulate T-cell responses. This discovery opens up new avenues for using MSCs in cancer immunotherapy as APCs are crucial in initiating and maintaining anti-tumoral immune responses. Previous studies have shown that the drug UM171a can trigger APC-like function in MSCs by inhibiting LSD1. Based on this observation, we tested whether inhibiting LSD1 with tranylcypromine (TC) could instill APC-like functions in MSCs. We found that TC treatment elicits a stress response in MSCs, resulting in enhanced expression of H2-K^b and increased stability of the cell surface peptide: MHC I complexes. This led to efficient CD8 T-cell activation and potent anti-tumoral responses against T-cell lymphoma in the context of prophylactic vaccination. These findings provide a new pharmacological protocol for exploiting MSCs in the design of future anti-cancer vaccines. Targeting LSD1 in MSCs elicits APC-like capabilities that could be easily harnessed in cancer immunotherapy. This approach has the potential to overcome the limitations of traditional anti-tumoral vaccines, which often fail to generate effective T-cell responses against solid tumors.

76 IDENTIFICATION MOLECULAIRE D'UN POINT NEVRALGIQUE POUR L'ACTIVITE DES CANAUX SK4.

SEGURA Emilie^{1,2}, ZHAO J.², MARSOLAIS M.¹, SAUVÉ R.¹, PARENT L.^{1,2}

- ¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de Recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec

La régulation du calcium est cruciale pour la fonction cardiaque. La calmoduline est un senseur ubiquitaire du Ca²+ associé à la modulation de la fonction de nombreux canaux ioniques dont les canaux potassiques activés par le calcium intracellulaire (canaux SK). La structure cryo-EM 3D du canal SK4 montre quatre molécules de CaM intracellulaires liées de façon constitutive à la sous-unité intégrale qui forme le pore transmembranaire. Les hélices cytoplasmiques HA et HB identifiées sur le C-terminus de SK4 hébergent le lobe C de la CaM. La modélisation virtuelle prédit deux poches d'interaction caractérisées par des ponts salins formés soit 1] entre l'hélice HB de SK4 et la main EF3 du lobe C de la CaM avec SK4 Arg352 /CaM Glu84, SK4 Arg355/CaM Glu84 et SK4 Arg355/CaM GluE87, soit 2] entre l'hélice HA de SK4 et la main EF4 de CaM avec SK4 Lys327/CaM Glu123 et SK4 Lys327/CaM Glu127. Le rôle de ces interactions a été testé par des essais de co-immunoprécipitation effectués avec des protéines complètes et de patch-clamp. La co-immunoprécipitation de SK4 avec CaM est prévenue lorsque SK4 R355D et SK4 R352D/R355D sont co-exprimés avec CaM WT mais reconstituée lorsque ces variants sont co-exprimés avec CaM E84K qui restore la liaison électrostatique. L'absence d'interaction se traduit par une diminution significative de la fonction pour SK4 R352D/R355D. Nos résultats confirment la liaison constitutive de la CaM sur les régions proximales du C-terminal de SK4 et identifient l'interaction entre SK4 Arg355 et CaM Glu84 comme déterminante dans ce processus.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

78 EXACERBATION DU DECLIN NEUROLOGIQUE ET PERTE CELLULAIRE NEURONALE CAUSEE PAR LA CONSOMMATION CONTINUELLE D'ALCOOL CHEZ LES RATS AYANT UNE MALADIE DE FOIE CHRONIQUE.

Farzaneh TAMNANLOO^{1, 2}, Xiaoru Chen¹, Mélanie Tremblay¹, Christopher F. Rose^{1, 2}

- ¹ Labo Hépato-Neuro, CRCHUM
- ² Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université de Montréal

Keywords: Alcohol, Hepatic encephalopathy, Neuronal cell loss

Background: Hepatic encephalopathy (HE) is a debilitating neurological complication of chronic liver disease (CLD). Alcohol is a major etiological factor known to induce liver injury. To date, the role of alcohol in the development of HE remains unclear. Here we examined the effects of constant alcohol consumption on the neurological decline in rats with CLD.

Method: 5-week BDL rats and Sham-operated controls were used. Starting day 7 after surgery, rats were gavaged twice a day with alcohol at a dose of 3g/kg, 5 days per week, for 4 weeks. Motor coordination was assessed using Rotarod and anxiety-like behavior was assessed using the open field (OF) and elevated plus maze (EPM). Upon sacrifice, brains were collected for western blot to investigate neuronal integrity in the cerebellum.

Results: Alcohol worsened motor coordination and increased anxiety-like behavior in BDL-alcohol rats. Impairments were associated with decreased neuronal markers of NeuN and SMI311, increased apoptotic markers of cleaved/pro-Caspase3 and Bax/Bcl2, increased necroptosis markers of pRIP3 and pMLKL, decreased total antioxidant capacity and increased ROS marker of 4-HNE in the cerebellum of BDL-alcohol rats when compared to respective controls.

Conclusion: Constant alcohol consumption exacerbates HE by worsening motor coordination impairment and increasing anxiety in BDL rats. Our results show neuronal loss through apoptosis and necroptosis in the cerebellum of BDL-alcohol rats. Additionally, higher levels of ROS marker of 4-HNE and decreased total antioxidant capacity in the cerebellum of BDL-alcohol rats suggest that oxidative stress is the triggering factor of apoptosis and necroptosis leading to neuronal loss/injury.

80 COMBINAISON DE L'ANALYSE DES MODES NORMAUX ET DU DOCKING MOLÉCULAIRE POUR PRÉDIRE L'EFFICACITÉ DE LIAISON DU LIGAND AUX RÉCEPTEURS COUPLÉS AUX PROTÉINES G.

Gabriel TIAGO GALDINO, Olivier Mailhot, Rafael Najmanovich

Département de Pharmacologie et Physiologie – Faculté de Médicine - Université de Montréal

GPCRs are a family of membrane proteins that regulate many biological processes and are attractive targets for drug development, representing approximately 1/3 of global marketed drug targets. Using a coarse-grained approach, we applied normal mode analysis to calculate Dynamical Signatures of different ligand/GPCR complexes, identifying local and global changes in flexibility of different residues upon ligand binding. These were combined with a structural analysis to determine residues in contact with the set of ligands to obtain predictors of the efficacy of new drug candidates as agonists, antagonists, or partial agonists.

We docked a set of ligands with known Emax for GTP-gammaS binding to a crystal structure of the active Mu (MOR) and Kappa (KOR) Opioid Receptors and used LASSO multiple linear regression to train a predictor using contacts and Dynamical Signatures. We obtained a roc AUC> 0.85 when analysing the performance of the model as a binary classifier.

By analyzing the coefficients of these predictors, we identified positions of high importance to the receptor activation, such as L85^{1.47}, that have mutations that are reported to affect morphine response in MOR, and positions with no known mutations reported such as K305^{6.58} for MOR. Our study provides insights into the dynamics and structural features of ligand binding to GPCRs and represents a new tool for predicting the efficacy of new drug candidates that can be coupled to high-throughput screening.

82 UN RÔLE POUR G6PC3 ET SLCA2/SLCA4 DANS LA REPROGRAMMATION MÉTABOLIQUE DES CELLULES SOUCHES DU CANCER DU CERVEAU.

Sima TORABIDASTGERDOOEI and Borhane Annabi

Chaire en Prévention et Traitement du Cancer, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC

Background: Glioblastoma (GBM) is adults' most malignant primary brain tumor. GBM adaptative molecular processes include a high vascularization that provides nutrients and oxygen to tumor inner cells, leading to chemoresistance and tumor growth. GBM cells can further undergo metabolic reprogramming, among which the glucose-6-phosphatase (G6Pase) system has been shown to contribute.

Objective: We questioned what roles components of the G6Pase system have upon acquiring a brain cancer stem cells (CSC) chemoresistance phenotype.

Methods: Total RNA was extracted from four brain cancer cell lines, and cDNA arrays were used to assess gene expression by RT-qPCR. Three-dimensional neurosphere cultures were generated to recapitulate the CSC phenotype. *In silico* analysis of transcript



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

levels in GBM tumors was done by GEPIA. Transient siRNA-mediated gene silencing was used to assess the impact on TGF induced epithelial-to-mesenchymal transition (EMT).

Results: The *in-silico* analysis of GBM clinical tissues revealed a significantly higher expression in *G6PC3*, *SLC37A2*, and *SLC37A4*. The expression of these genes was further found elevated in U87, U251, U118, and U138 GBM cell models compared to the HepG2 hepatoma cells. *G6PC3* and *SLC37A4* levels were induced in CD133-positive neurospheres. Silencing of the selected genes altered TGFβ signaling, and cDNA screening of the EMT and immunity-inflammatory arrays showed induction in the expression of *MMP9* and *ESR1*.

Conclusion: Components of the G6Pase system appear to contribute to the metabolic reprogramming involved in acquiring a brain CSC phenotype. Such molecular signature may support their role in cell survival and chemoresistance and become strategies in future therapeutic targeting.

LES CANNABINOÏDES PEUVENT ÊTRE CLASSÉS EN FONCTION DE LEUR PROFIL DE SIGNALISATION ET LES CATÉGORIES QUI EN RÉSULTENT SONT ASSOCIÉES À DES POTENTIELS DISTINCTS D'ANALGÉSIE.

Giacomo TROTTIER^{1,2}, Paul Dallaire², Derek Robertson², Besma Benredjem¹, Graciela Pineyro^{1,2}

- ¹ Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal
- ² Centre de Recherche du CHU Ste-Justine

There is increasing evidence that $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol (THC) contents and its ratio to cannabidiol (CBD) are not reliable descriptors of the biological activity of phytocannabinoids. To provide a more informative alternative to the current classification, here we describe cannabinoid extracts, their mixes as well as terpenes present in cannabinoid preparations on the basis of the responses they elicit via CB1 and CB2 receptors. Signals by these products were compared to those of synthetic standards and endocannabinoids. Signaling profiles describing the engagement of canonical effectors (Gai/o; Gao proteins and Garr2) by the different products and ligands were obtained in HEK293 cells using BRET-based biosensors.

To analyze these signaling profiles, we developed software tools that allow rapid and automatic analysis of the raw BRET fluorescence and bioluminescence data. The software swiftly performs normalization and scaling of data to a chosen reference. These steps can be accomplished with minimal user intervention. The analysis is based on identifying signaling similarities across the five BRET readouts we assessed ($G\alpha 1-3$; $G\alpha$ proteins and β arr2). For each of the two receptors of interest we automatically identified four major categories of signaling profiles across the different biosensors: full agonists, strong and weak partial agonists as well as inverse agonists/non- efficacious ligands. Moreover, cannabinoids in different signaling categories were associated with distinct degrees of analgesia in an animal model of neuropathic pain.

The data presented indicates that cannabis extracts and mixes can be classified according to signaling profiles and that signaling categories group together cannabinoids with similar potential for in vivo analgesia.

86 RÔLE DE LA PROTÉINE STEP2 DANS LA MÉMOIRE SOCIALE.

Anosha Kiran ULFAT, Vincent Herve, Minh Lam, Jonathan Brouillette
Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, University of Montreal

The CA2 region of the hippocampus plays a key role in the processing of social memory and to grasp a better understanding of the synaptic transmission underlying social memory, regulatory synaptic proteins such as STriatal-Enriched protein tyrosine Phosphatase (STEP) have been under scrutiny. The physiological role of STEP is to oppose synaptic strengthening that takes place during synaptic plasticity. Thus, STEP needs to be degraded to enable the activation of cellular and molecular pathways important for plasticity processes. Since STEP has been shown to be strongly expressed in the CA2, the objective of the current study is to determine if the selective deletion of STEP in the CA2 area will affect the social memory in the rodent model. With the aid of CRISPR/CAS9, the expression of STEP phosphatase was suppressed specifically in the CA2 region, and then mice were evaluated in a battery of social behavioral tasks (social memory test, social interaction test, tube test, three chamber social interaction test) in conjunction with other forms of memory tests (Morris water maze, object recognition test, and passive avoidance test) to ensure that the effects on social memory could be distinguished from other forms of learning and memory. At this point, we have confirmed the deletion of STEP in the CA2 with immunostaining, and we are in the process of collecting behavioral data to support our hypothesis. It is expected that the deletion of STEP will lead to social memory impairment without impacting other forms of learning and memory.



EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

88 DÉLAI D'ACTIVATION ENDO-ÉPICARDIQUE DANS UN MODÈLE D'ARYTHMIE DE L'OREILLETTE GAUCHE.

Elham ZAKERI ZAFARGHANDI, Vincent Jacquemet

Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Institut de génie biomédical, Centre de recherche de l'Hôpital du Sacré-Cœur

Background: Activation delay between the endo- and the epicardial layers of structurally remodeled atrial tissue, notably in conjunction with epicardial fibrosis, has been identified as a potential arrhythmogenic marker.

Objective: To investigate the factors promoting endoepicardial delays in a computational model of atrial fibrillation.

Methods: A 3D bilayer model of the left atrium was constructed using interconnected cables aligned with endo- and epicardial fiber orientation, and modified Courtemanche et al. membrane kinetics. Inter-layer electrical connections were created. These connections had 2 to 10 intermediate nodes (5 different values) representing endoepicardial pathway length. Diffuse fibrosis (20%, 30% or 40% random uncoupling) was introduced in the epicardium only, thus creating a transmural gradient in conduction properties. Conductivity along inter-layer connections was varied between 0.1 and 0,4 mS/cm² (4 values). Sixty episodes of atrial fibrillation (5x3x4 full factorial design) were initiated and endoepicardial delays were computed based on transmembrane potentials.

Results: Atrial fibrillation was sustained for >6 sec in 58/60 cases. The endoepicardial delays ranged from 0 to 14 ms, in agreement with experimental data. In the absence of epicardial fibrosis, the mean delay was <0.1 ms. Higher fibrosis density (FD), smaller transmural conductivity (sigma) and longer transmural pathways (nz) were associated with longer delays. Mean endoepicardial delay was predicted by the formula $0.103 \cdot FD^{0.39} nz^{1.5}$ / sigma^{0.83} with a root mean square error of 0.2 ms (correlation coefficient 0.996). **Conclusion**: Our model provides an arrhythmogenic substrate with controllable activation delays for simulating the impact of endoepicardial dissociation on atrial arrhythmia.

90 L'INFLAMMATION MATERNELLE CAUSE UNE RESTRICTION DE CROISSANCE ET UNE EXPRESSION ABERRANTE DES VOIES DE SÉNESCENCE DANS LE CERVEAU POSTNATAL.

Aliabbas ZIA^{1, 2}, Emmanuel Bajon², Xin Hou², Sylvain Chemtob^{1, 2, 3}

- ¹ Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, University of Montreal
- ² Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, QC H3T 1C5, Canada
- ³ Department of Pediatrics, Ophthalmology and Pharmacology, CHU Sainte-Justine Research Center, Montreal, Quebec, Canada

Introduction: Fetal brain development during embryogenesis and postnatal neuronal maturation are complex processes that require exquisite, time-sensitive physiological regulations. Maternal inflammation (MI) can lead to chorioamnionitis and placental insufficiency, resulting in intrauterine growth restriction (IUGR), which can negatively impact brain development. It is also known that chronic inflammation triggers senescence, leading to the accumulation of senescent cells, which can release senescence-associated secretory phenotypes (SASPs), in turn damaging brain tissue. The intricate interplay between inflammation, senescence, placental dysfunction, and IUGR highlights the need for further research into the underlying mechanisms and the development of preventative strategies to improve maternal and child health outcomes.

Method and Results: Relying on a model of MI (4 and 6 ug LPS injection i.p at GD16 and GD17 respectively), we analyzed senescence-associated mRNA and protein expression in postnatal mouse brains (PT1, PT7, and PT15). We observed an upregulation of CDK inhibitors, including p21Waf1/Cip1, p16INK4a and p53 and SASP factors at PT1 and PT7. In addition, we noted an increased SA-β-galactosidase activity in specific brain regions such as the hippocampus and the ventricles. Additionally, MI resulted in growth restriction, as evidenced by significant effects on body weight and brain weight in PT1 and PT7 mice.

Conclusion: MI has significant, long-lasting effects on postnatal brain development, which we propose takes place via an increased senescence in specific brain regions. These findings highlight the importance of developing preventative strategies to reduce MI and promote maternal and child health, ultimately leading to better health outcomes for both mother and child.



27ÈME ÉDITION DE LA JOURNÉE DE LA RECHERCHE

GABRIEL L. PLAA

EN PHARMACOLOGIE ET PHYSIOLOGIE

Jurys

Présentations orales (Bloc I)	
8 h 45 à 10 h 00	
Catherine MARTEL	
Alexandre DUBRAC	
Présentations orales (Bloc II)	
13 h 30 à 14 h 45	
Éric THORIN	
Sergio CRESPO-GARCIA	
Présentations par affiche (Bloc I)	
11 h 00 à 12 h 30	
1 - 7 - 11 - 37 - 41 - 45 - 53 - 55 - 59	Martin SIROIS
	Madhu ANAND-SRIVASTAVA
13 - 15 - 29 - 39 - 43 - 67 - 71 - 79 - 87	Christian BEAUSÉJOUR
	Guy ROUSSEAU
5 - 9 - 21 - 49 - 65 - 69 - 81 - 85 - 89	Angelo CALDRONE
	Rafael NAJMANOVICH
3 - 17 - 23 - 27 - 31 - 47 - 73 - 77 - 83	Audrey CLAING
	Ines MOKHTARI
19 - 25 - 33 - 35 - 51 - 57 - 61 - 63 - 75	Jean-Philippe GRATTON
	Trang HOANG
Présentations par affiche (Bloc II)	
14 h 45 à 16 h 15	
10 - 18 - 26 - 28 - 36 - 40 - 48 - 56 - 70	Anne-Noël SAMAHA
	Audrey HECTOR
14 - 24 - 42 - 46 - 50 - 64 - 68 - 78 - 88	Anaïs DARRACQ
	Nicolas DUMONT
16 - 32 - 34 - 44 - 62 - 76 - 80 - 84 - 90	Jonathan BROUILLETTE
	Paul-Eduard NEAGOE
2 - 4 - 12 - 30 - 38 - 52 - 58 - 66 - 86	Houman SAVOJI
	Hélène GIROUARD
6 - 8 - 20 - 22 - 54	Lucie PARENT
	Vincent JACQUEMET