

## **Préconditionnement à l'oxytocine des cellules progénitrices circulantes pour l'étude du potentiel thérapeutique sur les maladies cardiaques.**

Evguenia Zdanovich\*<sup>1</sup>, Mélanie Borie<sup>1</sup>, Philippe Rizkallah<sup>1</sup>, Ba-Khoi Nguyen<sup>1</sup>, Louis Mathieu Stevens<sup>12</sup>, Samer Mansour<sup>13</sup>, Jolanta Gutkowska<sup>1</sup>, Nicolas Noiseux<sup>12</sup>

**Introduction.** Les Cellules Endothéliales Progénitrices (CEP) et les Cellules Souches Mésenchymateuses (CSM) confèrent une capacité de régénération du tissu cardiaque. Il a récemment été démontré que l'oxytocine (OT) possède un potentiel cardiomyogénique et angiogénique. Le but de cette étude consiste à déterminer la sensibilité des CEP et CSM à la différenciation endothéliale suite à la stimulation in vitro par l'OT.

**Méthodes.** Les cellules mononucléaires (CMN) ont été isolées du sang périphérique porcin et humain par méthode de séparation au gradient de Ficoll, cultivées plusieurs jours dans du milieu EBM-2 avec facteurs de croissance et 20% FBS pour stimuler la différenciation en CEP. Les CMN ont été incubées plusieurs jours avec  $10^{-7}$ M d'OT et OT-GKR (forme allongée, plus cardiospécifique) ou le véhicule. Les cellules ont été caractérisées à l'aide de différents marqueurs endothéliaux: Lectine, vWF, Angiopoïétine 1-4, CD31, Tie2,  $\alpha$ -SMA, Flt-4 et VEGF. La quantification des CEP a été faite par microscopie à fluorescence suite au triple marquage Dil-LDL, Lectin-FITC et Hoechst. De plus, à l'aide de FACS, on a quantifié l'expression du récepteur à l'OT (OTR) dans les CMN et dans les cellules CD 34+ et CD133+ (précurseurs hématopoïétiques présents en faible quantité dans le sang périphérique avec fort potentiel angiogénique) purifiées avec les billes magnétiques immunomarquées. D'autre part, les CSM ont été isolées par ponction de la moelle osseuse, cultivées dans le milieu  $\alpha$ -MEM ou EBM-2, incubées avec  $10^{-7}$ M d'OT/OT-GKR ou le véhicule. Pour les deux types cellulaires, l'expression de l'ARNm de l'OTR a été quantifiée par le PCR en temps réel, la quantité protéique du OTR a été mesurée par immunobuvardage Western.

**Résultats.** La population hétérogène des CMN exprime peu l'OTR, mais la fraction positive des cellules CD34<sup>+</sup> exprime d'avantage l'OTR. De plus, la stimulation in vitro avec OT/OT-GKR augmente l'expression de OTR pour les CSM. Aussi, on observe une augmentation significative de la différenciation des CMN en CEP suite à la stimulation in vitro avec OT/OT-GKR, ainsi qu'un plus grand nombre des cellules endothéliales matures, démontré par l'immunohistochimie à l'aide des marqueurs endothéliaux.

**Discussion.** Nous avons démontré une forte l'expression du récepteur à l'oxytocine dans les cellules CD34<sup>+</sup>, ce qui leur confère une sensibilité à la stimulation et donc, un potentiel de différenciation angiogénique. De plus, la stimulation avec OT/OT-GKR permet potentiellement une meilleure différenciation des CMN en EPC in vitro, et une meilleure maturation en cellules endothéliales plus matures. Ainsi, une stimulation à l'oxytocine des cellules progénitrices CD34<sup>+</sup> pourrait améliorer leur potentiel thérapeutique pour leur utilisation dans le traitement des maladies cardiovasculaires ischémiques.

1. Centre de Recherche CHUM (CRCHUM), Université de Montréal. 2. Service de cardiologie du CHUM, Université de Montréal. 3. Service de chirurgie cardiaque du CHUM, Université de Montréal.

La présente étude a été supportée par la Fondation des maladies du cœur, le FRSQ et par le Département de chirurgie de l'Université de Montréal.

Déclaration de conflits d'intérêts potentiels: Aucun