

## Le déficit en protéine kinase activée par l'AMP réduit les lésions pulmonaires induites par l'ozone et le stress oxydant chez les souris

Projet EST 2007-68

HULO S., EDME JL., CHEROT-KORNOBIS N., de BROUCKER V., SOBASZEK A., NEVIERE R.

### Contexte et objectifs du projet

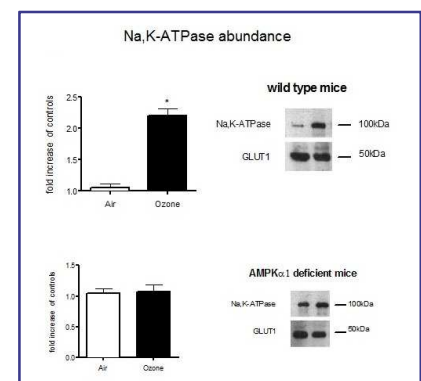
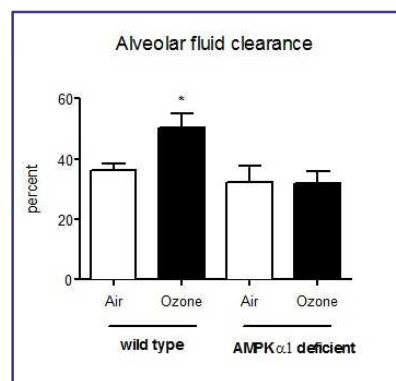
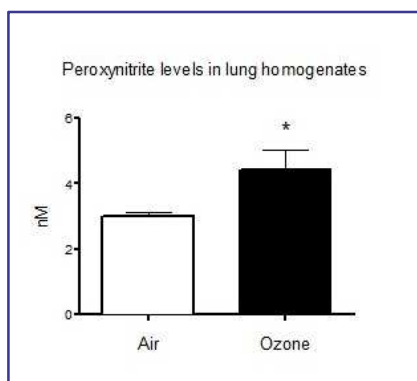
Une exposition aiguë à l'ozone induit la production de radicaux oxydants et nitrosants toxiques pour le parenchyme pulmonaire. Parmi ceux-ci, le peroxy-nitrite joue un rôle dans la nitration de résidus de tyrosine modifiant ainsi de nombreuses protéines kinases impliquées dans la signalisation cellulaire. Il a récemment été proposé que le peroxy-nitrite activait la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK), protéine qui participe à la réponse au stress cellulaire. Le but de notre recherche était d'évaluer le retentissement d'une exposition à l'ozone sur la clairance du liquide alvéolaire, la production de peroxy-nitrite et de déterminer le rôle de l'AMPK lors de ce retentissement.

### Méthode

Des souris témoins et des souris déficientes en sous-unité  $\alpha 1$  de l'AMPK ont été exposées à l'ozone (2,0 ppm pendant 3 heures) dans des cages en verre. Les expérimentations ont été réalisées 24 heures après l'exposition à l'ozone. La clairance du liquide alvéolaire (AFC) a été évaluée grâce à l'albumine marquée au FITC. La numération cellulaire, l'activité de la myéloperoxydase (MPO), les concentrations de cytokines, les marqueurs du stress oxydant (malondialdéhyde (MDA), peroxy-nitrite, NADPH oxydase) ont été dosés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (BAL) ou dans les homogénats de poumon. Les taux d'AMPK phosphorylée et l'expression de la Na-K-ATPase sur la membrane plasmique ont été déterminées par Western blot.

### Résultats

Chez les souris témoins, l'exposition à l'ozone induit une inflammation des poumons au vu de l'accroissement de la concentration des protéines totales, du nombre de leucocytes dans le BAL et l'activité de la myéloperoxydase et des taux de cytokines pro-inflammatoires dans les homogénats. Une augmentation des taux de peroxy-nitrite (3 vs 4,4 nM,  $p = 0,02$ ) et de malondialdéhyde (110 vs 230 pmoles / g de tissu humide) ont été détectés dans les homogénats des souris témoins exposées à l'ozone. L'exposition à l'ozone provoque une augmentation du rapport AMPK phosphorylée/AMPK totale de 80% chez les souris témoins. L'exposition à l'ozone entraîne, chez les souris témoins, une augmentation de l'AFC et de l'expression basolatérale de la Na-K-ATPase, qui ne se produisent pas chez les souris déficientes en sous-unité  $\alpha 1$  de l'AMPK.



### Conclusions et perspectives

L'ensemble de nos résultats suggèrent que l'activation de l'AMPK participe à l'augmentation de l'AFC, de l'inflammation et du stress oxydant. D'autres études sont nécessaires pour comprendre comment la voie de l'AMPK peut offrir une nouvelle approche pour la prévention des lésions pulmonaires induite par l'ozone.