

Université de Montréal

**La protéine MAP kinase-activated protein kinase-2  
n'est pas essentielle lors de la phase inflammatoire  
du processus de guérison après un infarctus du  
myocarde chez la souris**

par Joëlle Trépanier

Département de biochimie et médecine moléculaire, Université de Montréal  
Faculté de médecine

Mémoire présenté  
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise  
en biochimie  
option générale

26 juillet 2019

© Joëlle Trépanier, 2019

Université de Montréal  
Département de biochimie et médecine moléculaire, Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

**La protéine MAP kinase-activated protein kinase-2  
n'est pas essentielle lors de la phase inflammatoire  
du processus de guérison après un infarctus du  
myocarde chez la souris**

Présenté par  
**Joëlle Trépanier**

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

**Dr Nikolaus Heveker**  
Président-rapporteur

**Dr Bruce G. Allen**  
Directeur

**Dr Catherine Martel**  
Membre du jury



## Résumé

La première phase pour la fibrose réparatrice après un infarctus du myocarde (IM) est la réponse inflammatoire. Sans inflammation, la cicatrisation est perturbée ce qui provoquerait la rupture du myocarde. Une forte réponse inflammatoire peut mener à une rupture en raison d'une dégradation excessive de la matrice extracellulaire. Afin d'améliorer le pronostic des patients, des techniques pour contrôler la réponse inflammatoire sont recherchées.

En réponse au stress, MK2 (MAP kinase-activated protein kinase-2) est activée par p38 $\alpha$  et  $\beta$ . Cette kinase régule l'inflammation en stabilisant l'ARNm de cytokines. Les souris où MK2 est inactivée (MK2<sup>-/-</sup>) présentent une diminution de l'expression des cytokines après l'injection de lipopolysaccharides.

L'objectif de l'étude était de déterminer si l'absence de MK2 altérerait l'inflammation post-IM provoqué par la ligature permanente de l'artère interventriculaire antérieure chez des souris mâles MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>.

Cette étude démontre une réduction significative de mortalité chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Les échocardiographies ont révélé une altération similaire des fonctions cardiaques chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, mais la structure était moins affectée chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. La coloration au trichrome de Masson n'a démontré aucune différence pour la taille de la cicatrice ou la quantité de collagène. Aucune différence n'a été remarquée dans le recrutement des leucocytes. L'utilisation d'un RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array spécifique aux cytokines a démontré que l'abondance d'ARNm tend à être réduite dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup>, mais l'inflammation n'était pas réduite comparativement aux souris MK2<sup>+/+</sup>.

En conclusion, MK2 ne semble pas essentielle à la réponse inflammatoire post-IM dans le cœur des souris.

**Mots-clés** : MK2, infarctus du myocarde, inflammation, fibroblastes, cardiofibroblastes, fibrose réparatrice

## Abstract

The first phase of reparative fibrosis following a myocardial infarct (MI) is an inflammatory response. Without inflammation, scar formation is impaired, which leads to heart rupture. A strong response can also lead to heart rupture due to excessive ECM degradation. Efficient ways of controlling inflammation are constantly being explored to improve the prognosis in patients.

In response to cellular stress, MAP kinase-activated protein kinase-2 (MK2) is activated by p38 $\alpha$  and  $\beta$ . This protein serine/threonine kinase mediates the inflammatory process by stabilising pro-inflammatory cytokine mRNA. MK2-deficient mice (MK2<sup>-/-</sup>) show an impaired expression of cytokines, such as IL-1 $\beta$  and IL-6, in response to lipopolysaccharide injection.

The objective of this study was to determine if the absence of MK2 impaired the inflammatory phase following an MI induced by permanent ligation of the left anterior descending artery (LADL) in 12-week-old male MK2<sup>+/+</sup> and MK2<sup>-/-</sup> litter mate mice.

This study shows that mortality was significantly reduced in MK2<sup>-/-</sup> mice. Echocardiographic imaging showed that heart function was affected in similar ways in MK2<sup>+/+</sup> and MK2<sup>-/-</sup> mice whereas heart structure was less affected MK2<sup>-/-</sup> mice. Masson's trichrome staining revealed no difference in scar size and collagen content. No differences were observed in neutrophil and macrophage recruitment. The use of a RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array specific to cytokines showed that mRNA fold expression appeared to be reduced in MK2<sup>-/-</sup> healthy tissues but that the inflammatory response was not impaired.

In conclusion, MK2 was not essential for the inflammatory phase of post-MI wound repair in the male mouse heart.

**Keywords** : MK2, myocardial infarct, inflammation, fibroblasts, cardiofibroblasts, reparative fibrosis

# Table des matières

Résumé.....	I
Abstract.....	II
Table des matières.....	III
Liste des tableaux .....	VIII
Liste des figures .....	X
Liste des sigles .....	XI
Remerciements.....	XVIII
Introduction.....	1
1. Cellules composant le cœur .....	1
1.1 Cardiomyocytes .....	1
1.2 Cardiofibroblastes.....	3
1.3 Cardiomyofibroblastes .....	4
1.4 Cellules endothéliales.....	5
2. Cellules du système immunitaire .....	6
2.1 Neutrophiles .....	6
2.2 Monocytes.....	7
2.3 Macrophages.....	8
2.3.1 Macrophages M1.....	9
2.3.2 Macrophages M2.....	10
2.3.4 Cellules spumeuses.....	12
3. Composantes de la matrice extracellulaire.....	14
4. Infarctus du myocarde.....	16
4.1 Phases de guérison post-IM .....	17
4.1.1 Phase d'inflammation aiguë .....	17
4.1.2 La phase de prolifération .....	19
4.1.3 La phase de maturation .....	19

4.2 Conséquences associées à un IM.....	20
4.2.1 Réponse inflammatoire inadéquate .....	20
4.2.2. La fibrose réparatrice.....	20
4.2.3. La fibrose pathologique .....	21
4.2.4 Rupture du myocarde .....	22
5. Les MAPK.....	23
5.1 p38MAPK.....	25
5.2 Activation de la voie p38MAPK.....	26
5.3 Rôles des isoformes de p38MAPK.....	27
5.4 Inhibition de p38MAPK.....	29
6. Les MAPKAPK .....	30
6.1 MK2.....	31
6.2 Structure de la protéine .....	32
6.3 Régulation de MK2.....	33
6.4 Rôles principaux .....	34
6.4.1 Migration et prolifération cellulaire.....	35
6.4.2 Réponse inflammatoire .....	36
6.5 Homologue de MK2 : MK3.....	39
6.6 Homologue de MK2 : MK5.....	39
6.7 LPS : étude de la réponse inflammatoire .....	40
6.8 Objectifs de l'inhibition de MK2 dans le cadre de maladies .....	41
7. Cytokines et facteurs de croissance : outils de communication cellulaire au cours de l'inflammation.....	43
7.1 Types de cytokines.....	43
7.2 Expression et interrelation des cytokines au cours d'une réponse inflammatoire .....	45
7.3 Problèmes associés à une dérégulation de l'expression des cytokines.....	50
Hypothèse et objectifs .....	51
Matériel et méthodes .....	52

Matériel .....	52
Souris .....	52
Méthodes.....	53
Génotypage des souris .....	53
Induction de l'infarctus du myocarde (IM) .....	54
Diagnostic de rupture cardiaque .....	55
Échocardiographie transthoracique et calculs.....	55
Échocardiographie du ventricule gauche .....	55
Échocardiographie du ventricule droit .....	56
Collecte des tissus .....	57
Analyses histologiques immunohistologiques .....	57
Culture et traitement des cardiofibroblastes .....	59
Essai de migration.....	59
Extraction d'ARN .....	60
qPCR : expression des isoformes p38MAPK.....	60
qPCR : plaques RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array.....	62
Extraction des protéines.....	63
Méthode de Bradford.....	63
Immunobuvardage .....	64
Analyses statistiques .....	65
Résultats.....	66
L'expression de la protéine MK2 est complètement éliminée des souris MK2 <sup>-/-</sup> et entraîne une diminution de l'expression de la protéine p38α .....	66
Expression de l'ARN des isoformes de p38MAPK dans le VG des souris MK2 <sup>+/+</sup> et MK2 <sup>-/-</sup> .....	70
L'expression de l'ARNm de p38α ne change pas significativement selon le génotype ni selon l'induction d'un IM .....	72
L'expression de l'ARNm de p38β augmente significativement dans l'infarctus des souris MK2 <sup>+/+</sup> à 5 jours post-IM seulement .....	72



L'expression de l'ARNm de p38 $\gamma$ et de p38 $\delta$ ne change pas significativement selon le génotype ni selon l'induction d'un IM .....	73
Le taux de survie lors de la phase inflammatoire post-IM est amélioré chez les souris MK2 <sup>-/-</sup> .....	74
Évaluation des structures et des fonctions cardiaques du LV et du RV par échocardiographie des souris MK2 <sup>+/+</sup> et des souris MK2 <sup>-/-</sup> 3 et 5 jours post-IM.....	75
L'absence de MK2 améliore la conservation de la structure du VG à 5 jours post-IM .....	76
L'absence de MK2 n'altère pas les effets de l'IM sur le VD .....	79
L'absence de MK2 n'altère pas la taille de l'infarctus .....	82
L'absence de MK2 n'a pas d'incidence sur la composition de la zone de l'infarctus en collagène.....	83
Infiltration des cellules inflammatoires .....	85
La présence des neutrophiles n'est pas affectée par l'absence de MK2 .....	85
La présence des macrophages n'est pas affectée par l'absence de MK2 .....	88
Évaluation du patron d'expression des transcrits d'ARNm des cytokines et chimiokines impliquées dans la réponse inflammatoire par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array ».....	92
Le profile d'expression d'ARNm dans les tissus sains des souris MK2 <sup>-/-</sup> 3 jours post-IM diffère des souris MK2 <sup>+/+</sup> et un arrêt de l'inflammation a lieu 5 jours post-IM .....	92
Chimiokines : l'absence de MK2 altère l'expression de Cxcl3 3 jours post-IM....	94
Interleukines : L'absence de MK2 n'affecte pas significativement la stabilité de l'ARNm d'IL-6, d'IL-10 et d'IL-1 $\beta$ .....	96
Interférons : L'absence de MK2 entraîne une augmentation de l'abondance d'ARNm de l'IFN- $\alpha$ dans les tissus de l'infarctus .....	97
Facteurs de croissance : l'abondance de l'ARNm de Csf2 est plus élevée dans l'infarctus en l'absence de MK2 .....	98
Superfamille des récepteurs de TNF : l'abondance de TNF- $\alpha$ n'est pas régulée par MK2 suivant un IM .....	99

Autres cytokines : l'absence de MK2 n'a pas d'incidence sur l'abondance de l'ARNm de TGF- $\beta$ 2 .....	101
Cytokines anti-inflammatoires : l'absence de MK2 ne semble pas affecter l'abondance d'IL-10 significativement.....	102
L'absence de MK2 ne diminue pas la migration des CF .....	103
Compilation des résultats.....	105
Discussion .....	107
Conclusion.....	118
Bibliographie .....	121
Annexe 1 : Tableaux.....	i

## Liste des tableaux

Tableau 1. Séquences des amorces utilisées pour effectuer le génotypage des souris MK2 <sup>+/+</sup> et MK2 <sup>-/-</sup> .....	54
Tableau 2. Séquences des amorces utilisées pour quantifier les niveaux d'expression des transcrits des quatre isoformes de p38MAPK. ....	62
Tableau 3. Paramètres d'échocardiographie de la structure et des fonctions du VG des souris MK2 <sup>+/+</sup> et MK2 <sup>-/-</sup> âgées de 12 semaines qui ont subi la chirurgie LADL mesurés 3 et 5 jours post-IM.....	i
Tableau 4. Paramètres d'échocardiographie de la structure et des fonctions du VD des souris MK2 <sup>+/+</sup> et MK2 <sup>-/-</sup> âgées de 12 semaines qui ont subi la chirurgie LADL mesurés 3 et 5 jours post-IM.....	v
Tableau 5. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : chimiokines.....	i
Tableau 6. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : chimiokines... ..	iii
Tableau 7. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interleukines... ..	v
Tableau 8. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interleukines. ....	vii
Tableau 9. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interférons. ....	ix
Tableau 10. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interférons. ....	x
Tableau 11. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : facteurs de croissance.....	xi
Tableau 12. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT <sup>2</sup> Profiler PCR Array » : facteurs de croissance.....	xii

<b>Tableau 13. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : membres de la superfamille des récepteurs de TNF.....</b>	<b>xiii</b>
<b>Tableau 14. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : membres de la superfamille des récepteurs de TNF.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Tableau 15. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : autres cytokines.....</b>	<b>xv</b>
<b>Tableau 16. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : autres cytokines.....</b>	<b>xvi</b>
<b>Tableau 17. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : cytokines anti-inflammatoires.....</b>	<b>xvii</b>
<b>Tableau 18. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : cytokines anti-inflammatoires.....</b>	<b>xviii</b>

## Liste des figures

Figure 1.	Schématisation des trois phases de guérison du myocarde post-IM et des cellules impliquées au fil du temps.....	17
Figure 2.	Schéma de la cascade MAPK classique en 3 étapes.....	24
Figure 3.	Schéma de la structure primaire de MK2-CT1 et MK2-CT2.....	32
Figure 4.	La protéine MK2 est absente chez les souris MK2 <sup>-/-</sup> et cela entraîne une diminution significative de l'expression de la protéine p38α.....	67
Figure 5.	Seule l'expression de l'ARNm de p38β augmente significativement dans l'infarctus des souris MK2 <sup>+/+</sup> 5 jours post-IM, mais pas dans celui des souris MK2 <sup>-/-</sup> .....	71
Figure 6.	L'absence de MK2 améliore le taux de survie lors de la phase inflammatoire post-IM.....	75
Figure 7.	L'absence de MK2 n'affecte pas taille de la zone de l'infarctus de façon significative à 3 et 5 jours post-IM.....	82
Figure 8.	La composition en collagène dans l'infarctus évolue de façon similaire chez les souris MK2 <sup>+/+</sup> et MK2 <sup>-/-</sup> .....	84
Figure 9.	L'absence de MK2 n'altère pas la présence des neutrophiles dans les zones péri-ischémiques et dans l'infarctus à 3 et 5 jours après l'IM.....	87
Figure 10.	L'absence de MK2 n'altère pas la présence des macrophages dans les zones péri-ischémiques à 3 et 5 jours post-IM.....	90
Figure 11.	L'absence de MK2 altère le patron d'expression des cytokines et des chimiokines impliqués dans la réponse inflammatoire dans les tissus sains, mais pas dans l'infarctus à 3 jours après l'IM.....	93
Figure 12.	La migration cellulaire des CF murins n'est pas affectée de façon significative par l'absence de la protéine MK2.....	104

## Liste des sigles

A : Vitesse du flux trans-mitral lors de la contraction auriculaire

ACAT1 : Acetyl-CoA acetyltransferase

ADP : Adénosine diphosphate

$A_m$  latéral : Vitesse de l'anneau trans-mitral du côté latéral de l'anneau lors de la contraction auriculaire

$A_m$  septal : Vitesse de l'anneau trans-mitral du côté septal lors de la contraction auriculaire

ANG II : Angiotensine II

ASK1 : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5*

AT : Temps d'accélération

$A_t$  : Flux trans-tricuspidé du remplissage de l'oreillette

$a'_t$  : Vitesse de l'anneau tricuspide durant le remplissage de l'oreillette

ATP : Adénosine triphosphate

AUF1 : *AU-rich element RNA-binding protein 1*

$\alpha$ -SMA : *Alpha smooth muscle actin*

BCL2 : *BCL2 apoptosis regulator*

BNIP-2 : *BCL2 interacting protein 2*

BMP : Protéine osseuse morphogénétique

$\beta$ -TrCP : *F-box/WD repeat-containing protein 1A*

CCL : *Monocyte chemoattractant protein*

CCR : *C-C chemokine receptor type*

CD206 : Récepteur du mannose

CD31 : *Platelet Endothelial-Cell Adhesion Molecule-1*

CDC25B : *Cell division cycle 25B*

CDK5 : *Cyclin dependent kinase 5*

CEC : Couplage excitation-contraction

CF : Cardiofibroblastes

CHK : *Checkpoint kinase*

CM : Cardiomyocytes

CMF : Cardiomyofibroblastes  
CNTF : *Ciliary neurotrophic factor*  
COX-2 : Cyclooxygénase 2  
CPA : Cellule présentatrice d'antigène  
CREB : *cAMP responsive element binding protein 1*  
CSF1 : *Macrophage colony-stimulating factor*  
CSF2 : Facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages  
CSF3 : *Granulocyte Colony-Stimulating Factor*  
CTF1 : *Cardiotrophin-1*  
CXCL1 : *Chemokine (C-X-C motif) ligand*  
CXCR : *C-X-C motif chemokine receptor*  
CX43 : *Gap junction protein alpha 1*  
CX45 : *Gap junction protein gamma 1*  
D : Vitesse du flux veineux pulmonaire à la diastole  
DAB : Diaminobenzidine  
DAMP : Motifs moléculaires associés aux dégâts  
DC : Cellules dendritiques  
DLG : *Discs large MAGUK scaffold protein*  
DLK : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 12*  
DRO : Dérivé réactif de l'oxygène  
DTT : Dithiothréitol  
E : Vitesse du flux trans-mitral lors du remplissage rapide  
E<sub>m</sub> latéral : Vitesse de l'anneau trans-mitral du côté latéral lors du remplissage rapide  
E<sub>m</sub> septal : Vitesse de l'anneau trans-mitral du côté septal lors du remplissage rapide  
EC : Cellules endothéliales  
ECG : Electrocardiogramme  
ECT : Échocardiographie cardiaque transthoracique  
EDR : Taux de décélération du remplissage rapide  
EDT : Temps de décélération du remplissage rapide  
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique  
EEF2K : *Eukaryotic elongation factor 2 kinase*

EF : Fraction d'éjection  
EGR1 : *Early growth response 1*  
EPC : Cellule progénitrice endothéliale  
ERK : *Extracellular signal-regulated kinase*  
E<sub>t</sub> : Flux du remplissage rapide trans-tricuspide  
e't : Vitesse de l'anneau tricuspide durant le remplissage rapide  
E<sub>t</sub>DR : Taux de décélération du flux du remplissage rapide trans-tricuspide  
E<sub>t</sub>DT : Temps de décélération du flux du remplissage rapide trans-tricuspide  
ET-1 : *Endothelin 1*  
FAS : *Fas cell surface death receptor*  
FGF : Facteurs de croissance des fibroblastes  
FOXP3 : *Forkhead box P3*  
FS : Fraction de raccourcissement  
FTM : Flux transmitral  
GAPDH : *Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*  
GKAP : *DLG associated protein 1*  
HIF-1 $\alpha$  : *Hypoxia inducible factor 1 subunit alpha*  
HNRPA0 : *Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0*  
HOP : *HOP homeobox*  
HSP : *Heat shock protein*  
HSP70 : *Heat shock protein family A (Hsp70) member 4*  
HuR : *Human antigen R*  
ICAM-1 : *Intercellular adhesion molecule 1*  
IFN : Interféron  
IL : Interleukine  
IL-1R : *Interleukin 1 receptor*  
IL-1Rn : *Interleukin-1 receptor antagonist*  
IM : Infarctus du myocarde  
IRF : *Interferon regulatory factor*  
IVRT : Temps de relaxation isovolumique  
IVRTc : Temps de relaxation isovolumique corrigé



JAK : Janus kinase  
JNK : *C-Jun amino (N)-terminal kinase*  
 $K_d$  : Constante de dissociation  
KSRP : *KH-type splicing regulatory protein*  
LADL : Ligature permanente de l'artère descendante du ventricule gauche  
LDL : Lipoprotéine de basse densité  
LIF : *LIF interleukin 6 family cytokine*  
LPS : Lipopolisaccharides  
LSP1 : *Lymphocyte specific protein 1*  
LVAW<sub>d</sub> : Diamètre de la paroi antérieure du ventricule gauche  
LVD<sub>d</sub> : Dimensions du ventricule gauche à la diastole  
LVD<sub>s</sub> : Dimensions du ventricule gauche à la systole  
LVET : Temps d'éjection du VG  
LVOT : Flux d'écoulement du VG  
LVPW<sub>d</sub> : Diamètre de la paroi postérieure du ventricule gauche  
MAPK : *Mitogen-activated protein kinase*  
MAPKAPK : *MAP kinase-activated protein kinase*  
MAPKK : *Mitogen-activated protein kinase kinase*  
MAPKKK : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase*  
MAPT : *Microtubule associated protein tau*  
MDM2 : *MDM2 proto-oncogene*  
MEC : Matrice extracellulaire  
MEF : Fibroblastes embryonnaires de souris  
MEKK : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase*  
MKP1 : *Mitogen-activated protein kinase phosphatase 1*  
MK : *MAP kinase-activated protein kinase*  
MK2<sup>+/+</sup> : Génotype de type sauvage  
MK2<sup>-/-</sup> : Génotype où MK2 est inactivée  
MKK : *Mitogen-activated protein kinase kinase*  
MLK2 : *Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 10*  
MMP : *Matrix metallopeptidase*

MNK : *MAPK interacting serine/threonine kinase*  
MPO : Myéloperoxydase  
MPI : Indice de performance myocardique  
MRTF : *Myocardin related transcription factor*  
MSK : *MAP kinase interacting serine/threonine kinase*  
MV<sub>CO</sub> : Temps de l'ouverture à la fermeture de la valve mitrale  
MyoD : *Myogenic differentiation 1*  
NCEH : *Neutral cholesterol ester hydrolase*  
NES : Séquence d'exportation nucléaire  
NF-κB : *Nuclear factor-kappa B*  
NK : Cellules tueuses naturelles  
NLK : *Nemo-like kinase*  
NLS : Signal de localisation nucléaire  
OSM : *Oncostatin M*  
OxLDL : LDL oxydé  
PAMP : Motifs moléculaires associés aux pathogènes  
PDE4 : *Phosphodiesterase 4*  
PF4 : *Platelet factor 4*  
PKD1 : *Polycystin 1, transient receptor potential channel interacting*  
PMSF : Fluorure de phénylméthylsulfonyle  
PPAR : *Peroxisome proliferator-activated receptor*  
PP2A : Protéine phosphatase 2  
PSV : Pic systolique de vitesse  
p21: *Cyclin dependent kinase inhibitor 1A*  
p27 : *Proteasome 26S subunit, non-ATPase 9*  
p38 : *p38 mitogen-activated protein kinases*  
PIM1 : *Pim-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase*  
PI3K : *Phosphoinositide 3-kinases*  
PKA : Protéine kinase A  
PKD1 : *Polycystin 1, transient receptor potential channel interacting*  
PTEN : *Phosphatase and tensin homolog*

qPCR : Réaction en chaîne par polymérase quantitative  
RANK : *Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*  
RR : Intervalle RR  
RSK1 : *Ribosomal protein S6 kinase A1*  
RSK2 : *Ribosomal protein S6 kinase A3*  
RSK3 : *Ribosomal protein S6 kinase A2*  
RSK4 : *Ribosomal protein S6 kinase A6*  
RVAW<sub>d</sub> : Épaisseur de la paroi antérieure du VD à la fin de la diastole  
RVD<sub>d</sub> : Dimension du VD à la fin de la diastole  
RVET : Temps d'éjection du VD  
RyR2 : Récepteur de la ryanodine 2  
S : Vitesse du flux veineux pulmonaire à la systole  
SAB : *SH3 domain binding protein 5*  
SDS-PAGE : Migration électrophorèse de polyacrylamide en présence de sulfate de sodium dodécylque  
SERCA2 : *Sarcoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase 2*  
SH2 : *Homologie Src 2*  
S<sub>L</sub> : Vitesse systolique à la base de la paroi latérale  
S<sub>R</sub> : Contractilité systolique de la paroi du VD  
S<sub>S</sub> : Vitesse systolique à la base de la paroi septale  
SMAD : *SMAD family member*  
SNTA1 : *Syntrophin alpha 1*  
SPP1 : Ostéopontine  
SOCS : *Suppressor of cytokine signalling*  
SPAG9 : *Sperm associated antigen 9*  
SRF : *Serum response factor*  
STAT : *Signal transducer and activator of transcription*  
STMN1 : *Stathmin 1*  
SV : *Stroke volume*  
SVF : *Sérum de veau foetal*  
TAB1 : *TGF-beta activated kinase 1 binding protein 1*

TAK1 : *Transforming growth factor beta-activated protein kinase 1*  
TAO : *TAO kinase*  
TAPSE : Excursion systolique de l'anneau tricuspide  
TAU : *Microtubule associated protein tau*  
TDI : Imagerie Doppler tissulaire  
TGF- $\beta$ 1 : *Transforming growth factor beta 1*  
Th1 : Lymphocytes T auxiliaires de type 1  
Th2 : Lymphocytes T auxiliaires de type 2  
TIMP : *Tissue inhibitors of metalloproteinases*  
TIP-2 : *GIPC PDZ domain containing family member 1*  
TLR : *Toll-like receptors*  
TM: Temps-mouvement  
TNF- $\alpha$  : Facteur de nécrose tumorale alpha  
TNFSF11 : *Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11*  
TNFSF13b : *B-cell activating factor*  
TNFRSF11b : Ostéoprotégérine  
Treg : Lymphocytes T régulateurs  
TTP : *Tristetraprolin*  
TRPC6 : *Transient receptor potential canonical 6*  
TV<sub>CO</sub> : Temps de la fermeture à l'ouverture de la valve tricuspide  
TYK2 : Tyrosine kinase 2  
UV : Ultra violet  
VCAM-1 : *Vascular cell adhesion molecule 1*  
VD : Ventricule droit  
VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire  
VG : Ventricule gauche  
WMSI : Score de l'indice du mouvement de la paroi ventriculaire

# Remerciements

Il me tient à cœur de remercier toutes les personnes impliquées de près ou de loin dans ce projet. Le succès de ce projet est grandement dû à leur soutien et à leur précieuse aide.

Tout d'abord, j'aimerais témoigner de ma reconnaissance au Dr Bruce Allen qui m'a donné la chance de travailler sur un sujet passionnant au cours duquel j'ai beaucoup appris. Il a toujours été disponible lorsque j'ai eu besoin de conseils et a aussi fait preuve d'une grande confiance en me donnant de l'indépendance pour gérer le déroulement de mon projet de recherche.

Merci à Dr Nikolaus Heveker, président-rapporteur du jury, et à Dr Catherine Martel d'avoir accepté d'être membres du jury pour l'évaluation de mon mémoire. Je voudrais aussi souligner l'aide Dr Nathalie Trescases qui a pris le temps de relire mon manuscrit.

Je désire remercier Dr Angelo Calderone qui a accepté d'exercer le rôle de parrain tout au long de ma maîtrise et avec qui j'ai pu partager maintes discussions édifiantes. Ces échanges m'ont permis de développer mon sens critique par rapport à mes différentes lectures, mais aussi sur ma propre approche par rapport à mon travail.

Je voudrais aussi souligner l'aide précieuse que m'ont apportée mes collègues de laboratoire : Pramod Sahadevan, Sherine Ali Nawaito et Fatiha Sahmi. Ils ont su m'accueillir dans leur belle équipe et m'ont enseigné toutes les techniques que j'avais besoin de maîtriser afin d'accomplir mon projet. Lorsque j'ai eu des difficultés, je savais que je pouvais compter sur eux pour me conseiller afin de retourner sur la bonne voie.

Merci à l'équipe de l'animalerie de l'Institut de cardiologie de Montréal qui s'est occupé de notre colonie de souris avec grand soin. Plus précisément, j'aimerais remercier Natacha Duquette et Marc-Antoine Gillis, les assistants de recherche qui ont fait les chirurgies et qui m'ont tout enseigné sur les soins à apporter aux animaux. Sans votre travail remarquable, ce projet n'aurait pas pu être accompli. Votre bonne humeur et votre passion étaient contagieuses. Merci aussi à Dr Robert Parent ainsi que Adam Sanscartier qui fait un excellent travail pour la gestion des animaux en plus d'avoir pris le temps de répondre à toutes mes questions.

Dr Martin Sirois ainsi que son équipe du laboratoire d'histologie Marie-Hélène Clavet et Cynthia Torok ont apporté une contribution fort importante. Ce laboratoire a préparé les tissus pour les analyses histologiques et immunohistologiques en plus de participer à leur analyse afin d'accélérer le processus de travail.

Danielle Gélinas et Yan Fen Shi, toutes deux techniciennes en échocardiographie, ont accompli un travail impeccable pour la prise ainsi que pour l'analyse des données. Ce fut un vrai plaisir de collaborer avec elles.

Un grand merci à mes parents Danielle et Michel qui m'ont toujours encouragée à relever les défis que je me donne et qui m'ont supportée dans tous les projets que j'entreprends.

Finalement, j'aimerais remercier ma précieuse Véronique qui a toujours su me redonner courage dans les moments les plus difficiles. C'est grâce à elle si j'ai pu me rendre aussi loin et je suis chanceuse de l'avoir à mes côtés.

# Introduction

## 1. Cellules composant le cœur

Le cœur est un organe composé d'une grande variété de cellules maintenues par une structure complexe de MEC). Ces dernières communiquent ensemble pour assurer le bon fonctionnement de l'organe : les CM, les CF, les EC, les cellules souches et les cellules immunitaires (1). Cette complexité cellulaire permet au cœur d'optimiser ses fonctions, car leur communication permet de réguler la performance cardiaque et le remodelage (1).

### 1.1 Cardiomyocytes

Les CM sont les cellules composant la majorité du volume du cœur, mais correspondent seulement au tiers des cellules qui forment l'organe (2, 3). Elles sont superposées à une épaisseur de 2 à 5 cellules en plus d'être entourées par un réseau complexe de collagène (2). Ces cellules sont d'une importance vitale puisqu'elles sont responsables de transmettre des influx électriques et confèrent les fonctions de contractilité au cœur (3, 4). Elles sont jointes aux extrémités par des jonctions gap, c'est-à-dire une agrégation de canaux intercellulaires liant le cytosol de deux cellules ensemble (5, 6). Ces jonctions permettent aux CM de communiquer entre elles afin qu'elles se contractent de façon coordonnée (5). Ultiment, cela mène à une contraction cardiaque efficace qui permet de perfuser les organes du corps adéquatement (5).

Les fonctions contractiles du cœur sont régulées par un processus de synchronisation très précis nommé le couplage excitation-contraction (CEC) (7). Un cycle normal commence avec un stimulus de dépolarisation qui active les canaux calciques voltage-dépendants des CM (7, 8). L'entrée d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulaire dans la cellule par les canaux calciques de type L est suivie par l'activation des récepteurs RyR2 situés sur le réticulum sarcoplasmique (5, 7, 8). Il y a alors relâche des ions  $\text{Ca}^{2+}$  emmagasinés dans le réticulum sarcoplasmique ce qui fait passer la

concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire de 100 nM à 10  $\mu\text{M}$  (7, 8). Cette relâche de calcium est un processus passif nommé la dépolarisation où le cytosol devient chargé positivement (4). Le calcium relâché dans le cytosol se lie au complexe de troponine et entraîne un changement de conformation de la protéine (7). Ce changement libère le site de liaison des filaments d'actine à la myosine et la liaison entre les deux protéines engendre la contraction des CM et ce qui correspond à la systole (4, 5, 7). Le cycle est terminé lorsqu'un ADP est relâché des chaînes lourdes de myosine (7). L'espace est alors libre pour qu'un ATP s'y lie ce qui détache la myosine de l'actine et permet au muscle cardiaque de relaxer (7, 8). Finalement, il y a recapture du  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique par SERCA2a, une pompe à calcium qui requière de l'ATP, retrouvée dans le réticulum sarcoplasmique (4, 8). La fermeture des canaux calciques et l'ouverture des canaux de potassiques ont aussi lieu (4, 8). Le tout rétablit la charge négative du cytosol (4, 8). Cette étape correspond à la diastole où le ventricule se remplit de sang et les cellules sont prêtes à déclencher un nouveau cycle (4, 8).

La particularité des CM par rapport aux cellules des muscles squelettiques est que la quantité de calcium relâchée lors de la dépolarisation est beaucoup plus faible (4). Cela permet de réguler plus finement la réponse contractile étant donné que le complexe troponine n'est pas saturé (4).

Puisque les CM sont incapables de proliférer une fois le cœur complètement développé, ils sont extrêmement susceptibles à l'hypoxie (9). En effet, le principe établi est que les CM sont différenciés de façon terminale puisqu'ils perdent leur habilité à se diviser peu de temps après la naissance (5, 10). Lorsqu'il y a une perte massive de ces cellules, elles sont donc nécessairement remplacées par une cicatrice composée de CMF et de collagène (11). La charge de travail des CM doit aussi être augmentée afin de compenser pour les cellules fonctionnelles perdues (5). Le tout peut entraîner diverses pathologies qui seront expliquées plus loin (5).



## 1.2 Cardiofibroblastes

Les fibroblastes se retrouvent dans les tissus conjonctifs de la majorité des organes (11). Ces cellules sont d'origine mésenchymateuse et jouent un rôle majeur dans le processus de cicatrisation (2, 11). Chez l'adulte, les fibroblastes sénescents ou apoptotiques sont remplacés par la prolifération des fibroblastes environnants (12). À la suite d'une blessure, la source principale des fibroblastes est aussi les fibroblastes environnants, mais à eux s'ajoutent ceux provenant de la moelle osseuse ainsi que des cellules endothéliales et de l'épicaarde (13). Peu importe l'origine de ces cellules, leurs fonctions ne diffèrent pas puisque c'est l'environnement qui dictera leur phénotype (13). Après une blessure, peu importe le type, le pic de prolifération des fibroblastes est atteint au cours de la première semaine puis retourne à l'état de base (13).

Les CF plus spécifiquement, sont les cellules les plus nombreuses dans le cœur (2). Ils se situent dans le réseau de collagène dans un état de quiescence et servent d'échafaudage aux CM (2, 14). Les CF sont connectés entre eux grâce à la connexine CX45, alors que CX43 sert à les relier aux CM (2). Ces cellules forment le tissu conjonctif du cœur et maintiennent la structure de l'espace interstitiel et périvasculaire en sécrétant du collagène, des MMP et des TIMPS (11, 15). Ils participent aussi à la coordination de la contraction des CM, mais ne peuvent pas participer aux mouvements, car ils n'expriment pas de protéines contractiles (2, 14).

Les CF sont des cellules sentinelles qui peuvent répondre à divers types de stimuli tels que les signaux mécaniques, électriques et chimiques afin de donner une réponse appropriée comme l'inflammation (2). Les signaux mécaniques sont transmis via les cellules avoisinantes et les distorsions de la MEC puisque les CF y sont associés de façon très intime grâce aux nombreuses molécules d'adhésion telles que les cadhérines et les connexines (2). Ces distorsions entraînent une reprogrammation de leur expression génique, activent leur prolifération et altèrent les signaux d'apoptose qui peuvent être dus à l'activation de la voie p38MAPK, PI3K ou

JAK/STAT (2). La communication électrique a lieu grâce au couplage entre les CF et les CM (2). Les CF possèdent également des récepteurs pour capter les cytokines ce qui permet de répondre rapidement et adéquatement à un stress comme la nécrose de cellules après un IM (2, 11). La relâche de facteurs de croissance et d'hormones peut aussi altérer le phénotype des CF (2). Les CF sont particulièrement sensibles à l'interleukine 1 (IL-1), une interleukine pro-inflammatoire (2). Lorsqu'ils sont activés, ceux-ci deviennent des CMF (2). Leur phénotype peut être pro-inflammatoire, puisqu'ils sont spécialisés dans la sécrétion de cytokines et la dégradation de la MEC, ou ils peuvent au contraire changer pour un phénotype anti-inflammatoire en participant à la résorption de l'inflammation, la formation de fibrose et la sécrétion de collagène (13, 16).

### **1.3 Cardiomyofibroblastes**

Tel que mentionné plus haut, une fois les CF activés, ils se différencient en CMF, un type de cellule spécialisé dans la formation d'une cicatrice après une blessure (2, 16). Les CF exprimant ce phénotype sont absents dans un cœur en santé (2). C'est seulement à la suite d'une lésion que le processus de différenciation en CMF est activé chez les fibroblastes déjà présents, les cellules épithéliales, les cellules de muscles lisses ainsi que les cellules en circulation comme les péricytes (2, 11). Cette différenciation augmente l'expression des ICAM-1 et des VCAM-1 en plus d'activer l'expression d' $\alpha$ -SMA et de fibronectine (17, 18). Le mécanisme classique de transformation des CF en CMF implique l'activation de la voie p38MAPK par TGF- $\beta$  et l'ANG II ce qui cause la translocation de MRTF dans le noyau ce qui altère l'expression des gènes (11, 17).

Le rôle principal des CMF est de sécréter les composantes servant à former et maintenir la MEC telles que le collagène, la fibronectine, diverses MMP ainsi que leurs inhibiteurs (2, 16). Le processus complet de différenciation des CF en CMF n'est pas parfaitement défini, mais plusieurs groupes pensent qu'ils traversent différents phénotypes au cours des phases de guérison d'un IM (16). Au jour 0 d'un IM, les CF exhiberaient un phénotype où ils participent à la maintenance de

l'homéostasie de la MEC (16). Dans les premières 24 heures, le phénotype devient pro-inflammatoire, l'un des phénotypes les mieux connus, où les CMF sécrètent des cytokines pro-inflammatoires et des MMP (11, 16, 18). Cette transformation est due à la relâche de DRO et de diverses cytokines comme IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$  par les macrophages et les cellules environnantes (11, 16). Au jour 3, une nouvelle transformation aurait lieu avec la relâche de cytokines anti-inflammatoires et des signaux proangiogéniques tels que l'IL-10 et TGF- $\beta$  (16). Vers le jour 7, les CMF participent à la synthèse de nouvelles composantes de la MEC (16). Finalement, après quelques semaines, le phénotype se stabilise et les CMF servent à maintenir la cicatrice obtenue (16).

## **1.4 Cellules endothéliales**

Les EC sont des cellules présentes dans la microcirculation du cœur et participent à la structure vasculaire en formant la couche interne des vaisseaux sanguins et lymphatiques (1, 19, 20). Elles sont capables de répondre à plusieurs types de signaux puisqu'elles expriment une panoplie de récepteurs qui captent les métabolites, les cytokines ainsi que les facteurs neurohormonaux et les facteurs de croissance (1). Cela leur permet de moduler la contractilité des CM en sécrétant différents facteurs dont les effets sont inotropes en plus de partager plusieurs jonctions gap pour réguler l'environnement ionique (1, 19). Elles participent à la maintenance des fonctions cardiaques en participant à la survie des CM en régulant, entre autres, l'inflammation, la croissance des tissus et l'angiogenèse (1, 19, 20). L'équilibre entre les signaux de vasoconstriction, de vasodilatation et de coagulation est médié par les EC (20).

L'endothélium peut être structuré de façon continue, ce qui est normalement le cas dans les veines et les artères ainsi que dans les capillaires du cœur, ou de façon discontinue comme dans les zones où il y a beaucoup de sécrétion de molécules telles que dans capillaires des glandes (20). Les EC sont capables d'altérer leur structure pour se resserrer ou se relâcher afin de réguler le passage des molécules présentes dans la circulation sanguine de la lumière vers les tissus (20).

Lorsqu'il y a une blessure ou une ischémie, les EPC migrent de la moelle osseuse vers la zone affectée pour reformer la couche endothéliale (20). Les EC ont un rôle particulièrement important dans le recrutement des leucocytes, car, lorsqu'elles sont activées, elles sécrètent des sélectines P et des sélectines E qui interagissent avec les ICAM-1 et les VCAM-1 présentes à la surface des cellules immunitaires (20).

Une dysfonction des EC peut entraîner plusieurs problèmes, car l'homéostasie vasculaire n'est pas maintenue (20). Une dysfonction endothéliale sévère mène à la formation d'athérosclérose, participe à l'hypertension artérielle, peut causer l'activation de la thrombose, peut entraîner des hémorragies ou encore mener au recrutement excessif des leucocytes (20, 21). Ces problèmes font partie des facteurs pouvant augmenter les risques de subir un IM (22).

## **2. Cellules du système immunitaire**

### **2.1 Neutrophiles**

Les neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants dans l'organisme (23). Ces cellules proviennent de la moelle osseuse et, dans des conditions normales, sont produites à un taux constant (24). Une fois qu'ils sont complètement différenciés, leur durée de vie est particulièrement courte puisqu'elle est estimée à quelques jours, mais peut être prolongée dans des conditions d'inflammation (23, 24). Leur recrutement a lieu suite à divers événements tels qu'une infection, une blessure stérile comme un IM ou un cancer (23). En effet, plusieurs facteurs sont sécrétés tels que les facteurs CSF2 et CSF3 ce qui induit la production et le recrutement de leucocytes (23). Ces cellules jouent un rôle particulièrement important dans les débuts d'une réponse inflammatoire (23). Par contre, si l'inflammation persiste, les neutrophiles peuvent causer des dommages additionnels (23).

Le récepteur principalement impliqué dans le recrutement des neutrophiles est CXCR2, mais les neutrophiles peuvent aussi exprimer CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, CXCR3 et CXCR4 (24). CXCR2 peut interagir avec les chimiokines CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL6 et CXCL7 (24). Les neutrophiles ont tendance à migrer en groupe ce qui entraîne une forte accumulation de cellules dans la zone affectée (24). Dans le cadre d'une blessure stérile, leur rôle serait de participer au nettoyage des débris cellulaires et matriciels par phagocytose, mais leur activité peut aussi entraîner la nécrose des tissus en périphérie (24). Ceci serait dû au fait que les protéines accumulées dans les granules des neutrophiles sont particulièrement toxiques et que leur relâche a lieu même après une faible stimulation (24). La quantité de cytokines produite par un neutrophile est beaucoup plus faible que les autres leucocytes, mais le nombre de neutrophiles présents lors d'une réponse inflammatoire vient compenser pour cette sécrétion plus faible (24).

L'inflammation s'interrompt lorsque les neutrophiles commencent à mourir par apoptose, soit de façon spontanée ou à cause de médiateurs qui déclenchent le processus (24). Différentes molécules ayant un effet anti-inflammatoire sont l'annexine A1, TGF- $\beta$ 1, IL-1Rn, IL-10 et IL-22(24). L'annexine A1 est sécrétée par les neutrophiles qui entrent en apoptose tardive, ce qui contribue au recrutement des monocytes pour phagocyter les neutrophiles et les cellules en apoptose afin d'éviter la relâche de leur contenu toxique dans les tissus (25).

## **2.2 Monocytes**

Les monocytes sont des leucocytes présents chez tous les vertébrés et sont facilement reconnaissables grâce à leur noyau en forme de « U » (26). Ces cellules de courte durée de vie proviennent de l'hématopoïèse dans la moelle osseuse et sont aussi stockées dans le réservoir splénique (27, 28). Elles sont capables de phagocyter les débris cellulaires en plus de sécréter des cytokines et des facteurs de croissance qui jouent un rôle dans la formation du tissu de granulation (9, 29). La particularité des monocytes est leur plasticité fonctionnelle très flexible qui permet de répondre rapidement à une réaction inflammatoire (26). Lors d'une telle réponse, ce

sont les monocytes Ly6C<sup>hi</sup> et CD14<sup>+</sup>, respectivement retrouvés chez la souris et chez l'humain, qui sont recrutés par la chimiokine CCL2 dans la zone affectée afin de servir comme précurseur aux macrophages (26, 27, 29, 30). En effet, ces cellules sont spécialisées dans la sécrétion de signaux qui leur permettent de se différencier en macrophages pour participer à une réponse inflammatoire (26, 27, 29-31). Cette différenciation est due à l'activation de l'inflammasome, un complexe protéique impliqué dans la maturation de protéines suite à un signal pro-inflammatoire, mène au clivage d'IL-1 $\beta$  et d'IL-18 (32). Lorsqu'un grand nombre de monocytes provenant du sang est engagé dans une réponse immunitaire, le spleen, un organe qui sert de réservoir pour ce type de cellule, produit et relâche de nouveaux monocytes (31). En parallèle, leur production est aussi issue de l'hématopoïèse, un processus déclenché par la présence d'IL-1 $\beta$  (31).

## 2.3 Macrophages

Les macrophages sont des cellules provenant de la lignée myéloïde principalement reconnues pour leur spécialisation dans la phagocytose (26). Ils dérivent des monocytes qui circulent en périphérie (28). Cette capacité à ingérer des corps étrangers et des débris permet, par exemple, de réguler le développement en détruisant les cellules inutiles ou de participer à la guérison d'une blessure en nettoyant les débris cellulaires et matriciels (26). D'autres rôles majeurs leur sont attribués tels que la régulation de la réponse des autres cellules immunitaires lors d'une réponse immunitaire innée ou adaptative (26, 30, 33). De plus, ils sécrètent des facteurs qui stimulent la prolifération cellulaire et qui activent la transformation des CF en CMF (26, 30, 33). Deux origines de macrophages ont été définies et sont associées aux tissus sains ou à une réaction inflammatoire (26). La vaste majorité des macrophages qui patrouillent dans les tissus sains sont établis lors du développement prénatal et ils sont capables de maintenir leur nombre en s'auto-renouvelant (26). Leur maintenance dans les tissus est donc indépendante de l'hématopoïèse (26). La deuxième origine des macrophages provient des monocytes qui viennent infiltrer les tissus lors d'une réponse inflammatoire (26). Ceux-ci ont une

longévité plus courte, mais semblent exercer les mêmes fonctions cellulaires que les macrophages provenant de l'embryogenèse .

Selon le type de réponse nécessaire, les macrophages sont souvent décrits comme étant capables de se polariser en deux sous-groupes dont les effets sont opposés : les macrophages classiques M1, caractérisés comme pro-inflammatoires, ou les macrophages alternatifs M2 qui jouent un rôle anti-inflammatoire (34, 35). L'équilibre entre les deux phénotypes est influencé par des protéines médiatrices telles que les cytokines sécrétées par les cellules environnantes (35). En échange, les macrophages peuvent aussi altérer le microenvironnement en sécrétant diverses cytokines et chimiokines qui modifient le comportement des cellules en périphérie (35). Ces interactions complexes entre les macrophages et leur environnement ont pour résultat de produire un éventail phénotypique pouvant tendre vers le côté M1 ou M2 (34, 36). La variété des récepteurs présents à la surface de leur membrane et la panoplie de cytokines pouvant être exprimées démontrent que le répertoire de phénotype n'est pas simplement binaire (34). Afin de faciliter la compréhension, seuls les deux extrêmes phénotypiques seront présentés.

### **2.3.1 Macrophages M1**

Les macrophages M1 s'activent en présence de différents facteurs tels que le LPS lors d'une infection bactérienne, le CSF2 ou l'INF- $\gamma$  ou encore par la présence de PAMP ou de DAMP (18, 27, 28, 30, 34, 37). INF- $\gamma$  est produit par les cellules Th1, les macrophages ainsi que les NK et est identifié comme étant l'activateur principal des M1 (34). CSF2 a comme effet chez les M1 d'entraîner la présentation d'antigène et du complément et d'augmenter leur chimiotaxie, leur adhésion et la phagocytose (34). Ces cellules sont attirées par la présence d'ICAM-1 et de VCAM-1 et sont spécialisées dans la phagocytose pour éliminer les pathogènes ou les débris cellulaires (30, 35, 36).

Ces cellules présentatrices d'antigène participent à l'activation de la réponse du système immunitaire adaptatif (30, 35, 36). Leur rôle est pro-inflammatoire

puisqu'elles peuvent sécréter, entre-autres, de l'IL-1 $\beta$ , de l'IL-6, du TNF- $\alpha$  et de l'interleukine 12 (IL-12) (18, 27, 28, 37). Elles produisent aussi des chimiokines, des facteurs de croissance et certaines MMP pour aider au nettoyage des débris cellulaires et de la matrice endommagée (30). Les facteurs de transcription IRF5 et STAT1 sont d'autres facteurs nécessaires à l'activation des macrophages M1 (28, 30). Certains séparent le phénotype en deux familles : les macrophages M1a qui sont spécialisés contre l'inflammation due à des pathogènes et M1b qui sont activés lors d'inflammation stérile (30).

Après un IM, les macrophages M1 sont recrutés dans les tissus atteints dès la première journée (27). À ce moment leur signature est principalement pro-inflammatoire, car ils répondent à l'hypoxie, et participent à la dégradation de la MEC endommagée (27). Les voies associées à IL-1, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, MAPK sont alors activées (27). Vers le 3<sup>e</sup> jour, la signature devient phagocytaire (27). La reprogrammation métabolique commence à s'établir pour changer vers le phénotype M2 et leur prolifération est augmentée (27). Sept jours après l'IM, la signature devient réparatrice : le phénotype change des macrophages M1 à M2 (27, 38). Il y a inhibition des MMP pour cesser la dégradation de la MEC et des signaux sont sécrétés pour activer les CF en CMF ce qui entraîne une augmentation de la production de collagène (27).

Tout comme pour les neutrophiles, la présence prolongée de macrophages M1 peut aggraver les dommages aux tissus en repoussant la signalisation anti-inflammatoire et la formation de la cicatrice (30, 38). Ces dommages supplémentaires entraînent une augmentation de la taille de l'infarctus (38).

### **2.3.2 Macrophages M2**

Les macrophages M2 ont pour rôle de résorber l'inflammation et, ainsi, enclencher la réparation du tissu par la formation d'une cicatrice dans la zone affectée (18, 37). En effet, ils sont spécialisés dans la réparation des tissus en sécrétant des facteurs anti-inflammatoires, pro-angiogéniques et profibrotiques en plus



de diminuer leur expression de facteurs pro-inflammatoires ainsi que celle des cellules environnantes (28, 36, 38). Le processus de polarisation permettant aux macrophages de passer du phénotype M1 au phénotype M2 est dû à la phagocytose de neutrophiles entrés en apoptose et de cellules nécrosées (18, 28, 30, 37). Ce processus nécessaire pour résorber la réponse inflammatoire et déclencher la réparation des tissus est nommé efferocytose (36, 39). L'exposition à divers facteurs tels que CSF3, IL-4, IL-13, IL-10 et TGF- $\beta$ 1 activent les facteurs STAT6, IRF4 et PPAR- $\gamma$  qui sont aussi des signaux nécessaires à la polarisation des macrophages vers le phénotype M2 (18, 28, 30, 36, 37).

À leur tour, les macrophages M2 vont participer à la résorption de l'inflammation en sécrétant ces mêmes molécules anti-inflammatoires, en diminuant leur production d'IL-12 et en exerçant certains processus comme l'efferocytose et l'autophagie (18, 30, 39). L'efferocytose est le procédé par lequel les cellules phagocytaires retirent les cellules qui entrent en apoptose (36, 39). Habituellement, lors la réponse inflammatoire, l'efferocytose a lieu quand un trop grand nombre de neutrophiles en apoptose est accumulé dans les tissus (36, 39). Le nettoyage de ces cellules permet d'éviter la relâche de leur contenu pro-inflammatoire dans l'environnement (18, 28, 30, 36, 37, 39). Les cellules qui entrent en apoptose exposent leur phosphatidylsérine ce qui sert de signal de reconnaissance pour déclencher ce processus (36). Un autre signal menant à l'activation de l'efferocytose est la sécrétion d'IL-13 par les cellules Treg activées (40). En parallèle, c'est ce même mécanisme d'efferocytose qui module la polarisation des macrophages en M2 ce qui entraîne la production de cytokines anti-inflammatoires comme IL-10 et TGF- $\beta$  en plus d'inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires (18, 28, 30, 36, 37). La modulation de la polarisation des macrophages M1 vers le phénotype M2 est aussi régulée par l'autophagie (41-43). Ce processus catabolique sert à maintenir l'homéostasie intracellulaire par la dégradation de divers substrats grâce aux lysosomes (41-43). Ce mécanisme comparable à la digestion permet de résorber l'activité de l'inflammasome ainsi que la relâche de cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 $\beta$  et IL-18 (42, 43). En effet, après l'exposition des macrophages à

certains signaux, l'interleukine pro-IL-1 $\beta$ , par exemple, ainsi que les composantes de l'inflammasome sont ciblées par les autophagosomes, puis sont dégradés par le lysosome ce qui inhibe le phénotype pro-inflammatoire des macrophages (43). Les macrophages M2 sont aussi capables de sécréter les chimiokines CCL17, CCL22 et CCL24 qui recrutent différentes cellules telles que les basophiles, les éosinophiles, les lymphocytes Treg et les lymphocytes Th2 (28).

Une sous catégorisation des macrophages M2 a été établie : les M2a qui sont activés par la présence d'IL-4 ou d'IL-13, M2b qui sont activés suite à la présence de LPS et M2c qui sont activés par IL-10 et le TGF- $\beta$  (30). En fait, M2a et M2c sont responsables de la régulation de la réponse immunitaire adaptative (38). Les M2b sont plutôt spécialisés dans la sécrétion de signaux anti-inflammatoires (38). Un bon équilibre entre les macrophages M1 et M2 a pour effet d'améliorer la réparation des tissus ce qui mène à une conservation des fonctions cardiaques (38).

Si la polarisation des macrophages vers le phénotype M2 fait défaut, cela peut entraîner une prolongation de la réponse inflammatoire et entraîner des dommages supplémentaires dus à une activité importante de macrophages M1 (36). Si le processus d'efferocytose pour nettoyer les cellules en apoptose ne peut pas être déclenché, par exemple, cela peut entraîner l'activation excessive des macrophages du phénotype M1 ou encore diminuer les signaux permettant la résorption de l'inflammation (36). De façon similaire, si le processus d'autophagie est altéré, la réponse inflammatoire peut se voir prolongée puisque l'augmentation de l'expression de l'inflammasome ainsi que de certaines cytokines comme IL-1 $\beta$  et IL-18 est observée (41, 43). Donc, si ces divers processus sont inhibés, le phénotype restera plutôt du côté des macrophages M1 pro-inflammatoires (41).

#### **2.3.4 Cellules spumeuses**

La spécialisation des macrophages pour la phagocytose leur confère un rôle central dans la réponse immunitaire, mais cette habileté à internaliser des corps étrangers peut aussi contribuer au développement de problèmes comme

l'athérosclérose (44, 45). En effet, un important nombre de cellules spumeuses, c'est-à-dire des cellules ayant phagocyté une forte quantité de cholestérol, sont retrouvées dans les stries lipidiques de l'intima des artères (44). Au départ, ces plaques de lipides sont inoffensives (44, 45). Par contre, si le nombre de cellules spumeuses n'est pas contrôlé, les plaques peuvent dégénérer en athéromes qui réduisent sévèrement la lumière des vaisseaux et diminuent le flux sanguin dans la région normalement irriguée (44-47). Éventuellement, cela peut se développer en plaque nécrotique ce qui augmente les risques de formation d'un thrombus capable d'entraîner un événement grave tel qu'un IM (44-47).

La formation d'athérosclérose commence avec l'expression de signaux tels que VCAM-1 par des cellules endothéliales artérielles endommagées (44, 48). Ces signaux causent le recrutement des monocytes sous la couche endothéliale du vaisseau sanguin ainsi que leur activation en macrophages M1 capables de sécréter des enzymes oxydatives (44). Ces enzymes ont pour effet d'oxyder le LDL déjà présent dans les tissus en OxLDL (44). La présence d'OxLDL active la sécrétion de CCL2 par les cellules endothéliales et augmente le recrutement des macrophages (44). En parallèle, les cellules endothéliales et vasculaires retrouvées en périphéries ainsi que les macrophages phagocytent rapidement le OxLDL (48). Lorsque cette molécule est phagocytée, elle se fait estérifier par l'enzyme ACAT1 et c'est sous cette forme qu'elle reste emprisonnée dans le réticulum endoplasmique (45, 48). Normalement, le NCEH hydrolyse le LDL estérifié ce qui libère l'espace dans le cytosol, mais le processus n'est pas assez rapide ce qui entraîne une accumulation excessive dans les cellules (45, 48). En effet, les macrophages activés M1 sont efficaces dans la phagocytose du LDL, mais les pompes d'efflux sont inhibées lorsque l'environnement est gorgé de signaux pro-inflammatoires ce qui entraîne l'apparence spumeuse des cellules (48). L'équilibre entre la phagocytose de la lipoprotéine et sa dégradation est donc débalancé ce qui entraîne la formation et l'accumulation des cellules spumeuses dans la région (48, 49).

Dans les débuts de la formation de la plaque, le processus d'efferocytose permet nettoyer les macrophages M1 qui entrent en apoptose ce qui pallie à la formation de cellules spumeuses (46). Par contre, l'efficacité de ce processus diminue au fil du temps ce qui entraîne une accumulation de celles-ci (46). Éventuellement, les macrophages entrent en nécrose lorsque leur contenu en LDL est trop important (46, 48). Cette nécrose entraîne un cycle vicieux par la relâche du contenu intracellulaire pro-inflammatoire prolonge le processus de formation de cellules spumeuses en recrutant d'autres macrophages dans la plaque (46, 48). Les tissus deviennent alors particulièrement fragilisés à cause du nombre important de cellules nécrosées ce qui augmente les chances de formation d'un thrombus (44-47). Ce sont ces plaques qui sont les plus dangereuses puisqu'elles peuvent déclencher une thrombose et, ultimement, entraîner l'occlusion d'une artère (44-48). Divers facteurs pouvant exacerber la formation de ce type de plaques ont été identifiés dont l'hypercholestérolémie, l'hypertension et l'hyperglycémie (44, 48).

### **3. Composantes de la matrice extracellulaire**

La composante principale dans la composition de la MEC du cœur est le collagène, une protéine idéale pour supporter les contractions du muscle cardiaque tout en préservant sa géométrie (15, 50). En effet, le collagène confère une certaine rigidité aux parois du myocarde tout en étant assez élastique pour optimiser les fonctions cardiaques en répartissant l'énergie dans la structure (50). Le réseau est aussi composé de laminine et de fibronectine, mais à des niveaux plus bas (15, 51). Afin de conserver l'intégrité du cœur, la synthèse et la dégradation du collagène ont lieu au même rythme (51). Les sous-types de collagène principaux formant la MEC du cœur sont le collagène de type I qui composerait 80 % du collagène total dans le cœur et le collagène de type III qui serait présent à environ 11 % (15, 50, 51). Plus près des CM se retrouve une structure composée de collagène de type IV et de laminine (15). Normalement, les fibres de collagènes sont positionnées en parallèle avec les CM afin d'aider à supporter leur structure et les cellules y sont accrochées grâce à leurs intégrines (51).

Il existe plus d'une douzaine de types de collagène en hélices. La structure de la plupart des types de collagène ressemble à de longues chaînes polypeptidiques capables de s'associer en triples hélices de taille variable (51). Afin de stabiliser le réseau formé par les différentes fibres de collagène, certaines modifications post-traductionnelles ont lieu telles que la réticulation (15). Une réticulation excessive du collagène peut entraîner une rigidité excessive de la structure(15).

L'expression des types de collagène I et III dans le myocarde doit être équilibrée adéquatement (50). Le type I forme des fibres épaisses qui servent à former une capsule fibreuse du cœur (51). Une synthèse excessive ce type de collagène serait associée à une augmentation de la rigidité ventriculaire (50). Cette rigidité peut mener à des problèmes d'hypertension ou à une sténose aortique (50). À l'opposé, le collagène de type III est fortement exprimé dans les organes qui ont besoin de flexibilité comme les muscles (51). Sa structure de fibres minces lui permettrait de conférer plus de souplesse aux tissus (50). Une trop grande expression entraînerait potentiellement la dilatation du myocarde (50).

Différentes MMP sont impliquées dans la dégradation du collagène (51). MMP1 participe au clivage des molécules de collagène entières, et est qualifié de collagénase des tissus interstitiels, alors que MMP2 continue à dégrader les fragments obtenus par l'activité de MMP1 (51, 52). Tout comme MMP1, MMP8 et MMP13 sont capables de cliver le collagène de type I, II et III (52). MMP9, tout comme MMP2, est une gélatinase et est capable de cliver le collagène de type IV (52). Afin d'éviter une dégradation trop importante, les TIMP sont capables de former un complexe avec les MMP pour inhiber leur activité de clivage (51). En plus de réguler la dégradation du collagène dans le cadre de la maintenance de l'intégrité de la MEC, les MMP peuvent aussi participer au remodelage du myocarde après un évènement traumatique tel qu'un IM (52).

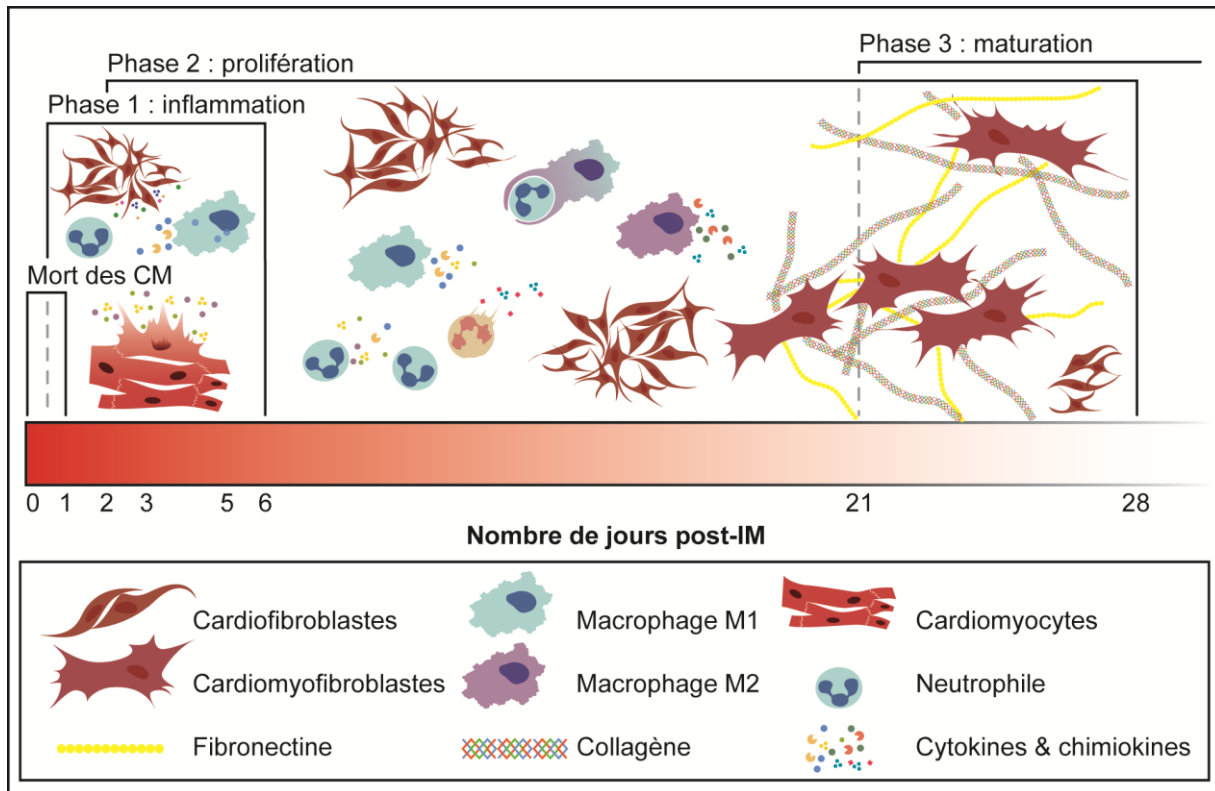
## 4. Infarctus du myocarde

L'IM est l'un des problèmes de santé majeurs dans plusieurs pays et se produit principalement chez les personnes âgées (52). L'augmentation de l'occurrence de ce type d'évènement dans la population est probablement liée à la modification des habitudes de vie comme une mauvaise alimentation et une baisse de l'activité physique (52). Au cours des 50 dernières années, plusieurs avancées ont été faites sur les méthodes de traitement des IM ce qui a significativement amélioré le pronostic et la qualité de vie des personnes atteintes (22).

L'IM est le résultat de l'occlusion d'une artère coronaire entraînant une ischémie prolongée en bloquant totalement le flux sanguin (22, 53). Par contre, une occlusion complète due à un thrombus n'est pas la seule cause d'un IM (22). Une augmentation du rythme cardiaque trop importante ou une diminution de la pression sanguine affectent le flux sanguin suffisamment pour que l'apport en oxygène ne puisse plus fournir le muscle adéquatement (22, 53). Donc, une baisse de l'apport en oxygène sur une période d'au moins 20 minutes est suffisante pour causer la nécrose d'un nombre important de CM (11, 53). Malheureusement, ces dommages sont irréversibles, car ces cellules contractiles sont différenciées de façon terminale (11, 54). Les capacités régénératives du cœur adulte sont limitées, puisqu'il n'existe plus de facteurs pour déclencher la prolifération de CM (11, 54). Le seul moyen de pallier à la perte des CM est l'activation des CF grâce à la réponse inflammatoire (11). Ceux-ci migrent dans la région ischémique où ils se différencient en CMF afin de sécréter du collagène pour former une cicatrice permanente (9, 11).

En effet, la mort soudaine de CM est suivie par la relâche d'une multitude de composantes cellulaires telles que la troponine T, de l'ARN ribosomal, d'IL-1 $\beta$  et de TNF- $\alpha$  (11, 55). Ces composantes activent le système immunitaire inné et enclenchent le processus de guérison de l'infarctus du myocarde composé de 3 phases : l'inflammation aiguë, la prolifération et la maturation (9, 11).

## 4.1 Phases de guérison post-IM



**Figure 1. Schématisation des trois phases de guérison du myocarde post-IM et des cellules impliquées au fil du temps.** L'occlusion d'une artère cause la mort des CM par nécrose ou apoptose et entraîne la relâche de signaux cellulaires (11, 53). Ces signaux pro-inflammatoires déclenchent la phase d'inflammation dans les 12 heures après la mort des CM, par le recrutement de plusieurs cellules immunitaires telles que les macrophages M1 et les neutrophiles qui participent au nettoyage des débris cellulaires et matriciels ainsi que par l'activation des CF qui migrent vers la zone affectée (11, 28, 54). Cette phase est maintenue jusqu'à environ 6 jours après l'IM (11, 28, 54). La seconde étape, la phase de prolifération, entrecoupe la première étape puisqu'elle débute autour du second jour (16, 30, 54). À ce moment, les tissus deviennent particulièrement riches et des signaux anti-inflammatoires commencent à être sécrétés par les macrophages et les CF (16, 30, 54). En effet, la néovascularisation débute, les neutrophiles commencent à entrer en apoptose, les macrophages M1 se transforment en M2 et les CF se transforment en CMF spécialisés dans la production de MEC (16, 30, 54). Cette phase peut s'étendre jusqu'à 4 semaines post-IM (54). La troisième et dernière phase est la maturation où la plupart des cellules entrent en apoptose vers la 3<sup>e</sup> semaine après l'IM (9, 54). Il reste alors principalement les CMF présents afin de maintenir l'intégrité de la cicatrice en sécrétant les différentes composantes de la MEC (13, 54, 56).

### 4.1.1 Phase d'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une phase cruciale, car elle permet d'orchestrer la dégradation des débris cellulaires en recrutant diverses cellules et d'activer la réparation des tissus au moment adéquat et de façon ordonnée (11, 28). Cette phase

est déclenchée dans les 12 à 16 heures après l'ischémie et s'étend sur une durée de 5 à 6 jours (Figure 1, p. 17) (54). Normalement, cette réponse physiologique est capable de s'autoréguler afin de revenir à un état homéostatique (28). Ce processus d'arrêt de l'inflammation est crucial, car une réponse inflammatoire exacerbée peut causer des dommages supplémentaires aux tissus (57). Le processus d'inflammation permet tout d'abord de recruter les leucocytes appropriés pour nettoyer les nombreux débris cellulaires ainsi que les débris matriciels situés dans la zone de l'infarctus (9, 11, 29). Les neutrophiles sont les premières cellules à être recrutées et, lorsque leur nombre atteint un pic, une grande quantité de monocytes provenant de la circulation sanguine sont recrutés dans les tissus (31). Cette présence importante des monocytes est due à la présence de CCL2 et de CCL7 ainsi que la présence d'ICAM-1 et de VCAM-1 exprimés par les autres leucocytes et les EC (31). Ces monocytes sécrètent une grande quantité de TNF- $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$  pour se transformer en macrophages M1 pro-inflammatoires (31). Le nettoyage des débris par les neutrophiles et les macrophages par phagocytose ainsi que la sécrétion de diverses protéases libère l'espace pour les CF qui sont activés et recrutés dans la lésion par les signaux pro-inflammatoires (11, 28, 54). Ces CF commencent alors le processus de fibrose réparatrice afin de remplacer les tissus perdus en formant une cicatrice composée de collagène résistante à la pression (9, 11, 27, 31).

Une multitude de voies sont activées après une ischémie telles que NF- $\kappa$ B, celle de VEGF, JAK-STAT et MAPK (9, 55, 57). Ces voies sont activées par une multitude de signaux relâchés par les cellules nécrosées tels que les DRO et les DAMP qui servent principalement à activer les monocytes et les CF (16, 30). Il y a ensuite la relâche de diverses cytokines telles que TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$  (9). Par contre, une signalisation prolongée peut réprimer la réparation des tissus ce qui peut résulter en une cicatrice plus importante (30). C'est pourquoi plusieurs mécanismes existent pour contrebalancer, comme la polarisation des macrophages en M2 (anti-inflammatoires) et l'apoptose des neutrophiles causés par l'IL-10 et l'annexine A1 (9, 27, 30).



### **4.1.2 La phase de prolifération**

La phase de prolifération, aussi nommée phase de granulation à cause de son apparence particulière, est l'étape où l'inflammation se résorbe et que le tissu devient le plus riche en cellules (11, 54). En effet, les macrophages continuent à être recrutés, les neutrophiles commencent à entrer en apoptose, les CF se transforment graduellement en CMF, la néovascularisation débute et le remplacement de la MEC est enclenché (16, 30). La phase d'inflammation est entrecoupée par la phase de prolifération, puisque cette dernière débute au 2<sup>e</sup> ou au 3<sup>e</sup> jour après l'IM et s'étend sur environ 4 semaines (Figure 1, p. 17) (54).

La formation du tissu de granulation débute avec l'infiltration des cellules immunitaires, des fibrocytes et des cellules vasculaires (11, 30). Ensuite il y a l'activation des CF en CMF qui commencent à produire du collagène et réparer la MEC (11, 30). L'angiogenèse commence aussi à se dérouler pour le rétablissement du réseau vasculaire et donc de l'apport en oxygène et en nutriments (9, 11, 30).

Les signaux moléculaires post-MI servant à la prolifération des cellules lors de cette phase ne sont pas tous bien connus (11). Les cytokines IL-1 et CTF1 et les FGF et TGF- $\beta$  sont impliqués dans le recrutement des CF qui finissent par devenir le type cellulaire dominant dans l'infarctus (11, 16). En fait, il faut un équilibre entre les signaux de recrutement et d'inhibition de la migration pour ne pas avoir un trop grand nombre de CF sinon la fibrose deviendrait excessive (11). CCL2 inhibe leur infiltration et IL-10 a l'effet de changer leur phénotype pour qu'ils deviennent anti-inflammatoires (11, 16, 30). Lorsque les macrophages M1 phagocytent les neutrophiles en apoptose, cela modifie leur phénotype en macrophages M2 spécialisés dans la sécrétion de molécules anti-inflammatoires (11).

### **4.1.3 La phase de maturation**

La phase de maturation est la plus longue des étapes de la guérison post-IM puisqu'elle sert à conserver l'intégrité de la nouvelle cicatrice (54). Les signaux sécrétés pour causer l'arrêt de la phase de granulation ne sont pas très bien connus

(11). Le tissu perd la richesse cellulaire qu'il présentait à la phase précédente, car un grand nombre de cellules telles que les cellules vasculaires, les CF et les macrophages enclenchent le processus d'apoptose (9, 54). Les CMF composent la majorité des cellules restantes et ont pour rôle de maintenir la cicatrice en sécrétant du collagène et d'autres composantes de la MEC (Figure 1, p. 17) (13, 54, 56). IL-10 continue à être sécrété pour préserver leur phénotype anti-inflammatoire et des facteurs profibrotiques tels que TGF- $\beta$  peuvent être détectés (16).

## **4.2 Conséquences associées à un IM**

### **4.2.1 Réponse inflammatoire inadéquate**

Plusieurs problèmes pouvant avoir des conséquences dramatiques sont associés à une réponse inflammatoire inappropriée. Une réponse inflammatoire trop forte aggrave l'état de la blessure, car l'activité des protéases devient trop intense (11). De plus, il est connu que l'inflammation limite la guérison des tissus en plus de causer des dommages supplémentaires à la zone affectée, puisque la présence de DRO promeut l'arrêt du cycle cellulaire ainsi que l'apoptose des cellules endothéliales (30). L'activité des neutrophiles peut aussi causer des dommages supplémentaires aux tissus sains et augmenter la perte de CM (23, 58). Cela entraîne un remodelage du cœur par dilatation du ventricule ce qui amincit la paroi du ventricule et, par conséquent, détériore ses fonctions (11, 58). Il peut aussi y avoir une hypertrophie des tissus du myocarde qui ont survécu à l'ischémie ce qui peut entraîner, entre autres, une insuffisance cardiaque, des dysfonctions contractiles et une irrégularité du rythme cardiaque (14).

### **4.2.2. La fibrose réparatrice**

Une fibrose normale, pouvant aussi être qualifiée de fibrose réparatrice, est associée la réticulation du collagène et à une augmentation nette de la MEC dans la zone ischémique afin de former une cicatrice stable pour rétablir la résistance de la paroi (9, 11, 16). Celle-ci sert à pallier aux capacités de régénération limitées du cœur en stabilisant la zone affectée grâce à la formation d'une cicatrice (11, 59).

### **4.2.3. La fibrose pathologique**

Une fibrose pathologique a le potentiel de causer des conséquences désastreuses sur les fonctions et l'intégrité structurelle du cœur (59). En effet, la cicatrice obtenue en présence d'une fibrose pathologique limite les mouvements du ventricule, car il devient trop rigide (9, 11, 16). L'ANG II est le facteur principal dans le développement de la fibrose pathologique, car ce peptide induit la prolifération des CMF, augmente leur production de collagène ainsi que d'autres protéines composant la MEC, en plus d'activer l'expression de TGF- $\beta$ , d'ET-1 et d'IL-6 (2, 16). La sécrétion de TGF- $\beta$  exacerbe la prolifération et la migration des CF, leur transformation en CMF et la production de MEC (2). La surcharge de pression et de volume sont deux facteurs d'activation des CF dans les tissus sains post-IM qui peuvent aggraver les conséquences de l'IM (2).

Une fibrose trop importante dégrade les fonctions cardiaques puisque la paroi gagne en rigidité (11, 30). Cette fibrose résulte d'un remodelage de l'organe où il y a une altération physique des structures du cœur : une augmentation de la taille des CM et une composition trop importante en collagène (59). En effet, les CMF deviennent très actifs et sécrètent une surabondance de collagène (17). Cet excès de collagène altère la circulation électrique entre les CM en plus d'affecter l'hémodynamie du cœur ce qui diminue la disponibilité de l'oxygène et des nutriments (16, 30, 50). Un autre problème associé à l'hypertrophie entraînée par un excès de fibrose est une augmentation de la taille des CM en réponse au stress de la paroi ventriculaire (15). Cette augmentation de la taille des cellules a lieu afin de compenser pour les fonctions cardiaques insuffisantes (60). Ces changements dans la structure peuvent donc altérer la relaxation du ventricule, conférer une rigidité lors de la diastole ou encore augmenter les risques de développer ce qui, si elle devient trop grave, peut mener à de l'insuffisance cardiaque (11, 15, 17, 50). Normalement, plus la taille de l'infarctus est importante, plus les risques de développer ces problèmes sont élevés (52).

#### 4.2.4 Rupture du myocarde

Une fibrose déficiente entraîne un amincissement de la paroi, car les CM sont nécrosés et le manque de MEC n'est pas compensé, ce qui fragilise dangereusement la zone ischémique (16, 59). Une fibrose déficiente pourrait être due, par exemple, à une réponse inflammatoire trop faible et, donc, à l'absence d'activation des CF qui, normalement, migreraient dans la zone pour remplacer les cellules nécrosées et sécrèteraient du collagène afin de rétablir la MEC (13). La paroi amincie et affaiblie du ventricule subit alors des tensions importantes à chaque contraction et risque de rompre à tout moment, puisqu'elle n'a plus la même capacité à supporter des tensions mécaniques (59). De façon similaire, une réponse inflammatoire trop puissante mène à une dégradation de la MEC par les MMP qui est trop importante ce qui fragilise aussi les tissus (61, 62). Cette complication, souvent fatale, est appelée rupture du myocarde (63). Il existe trois types de ruptures : le type I arrive dans les premières 24 heures et est une déchirure subite en forme de fente, le type II a lieu un peu plus tard et résulte en une fente due à l'érosion des tissus, alors que le type III est une perforation du tissu aminci d'un anévrisme causé par l'IM (64, 65).

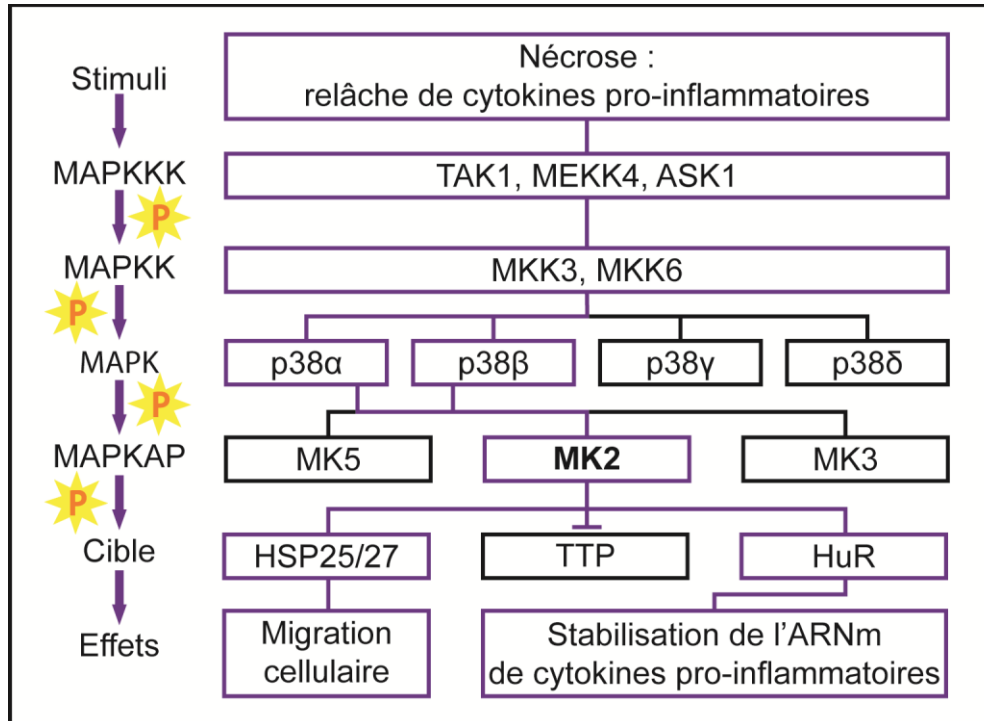
Le résultat d'une rupture du myocarde chez l'humain est une fissure qui peut s'étendre sur quelques millimètres à plusieurs centimètres (66). Une rupture du VG surviendrait à la suite d'environ 4 % des IM et composerait de 12 à 21 % des morts dues à la rupture du myocarde (63). Par contre, l'instauration de la reperfusion du myocarde avec des agents thrombolytiques, aussi appelés agents fibrinolytiques, a permis de diminuer les risques de rupture à moins de 1 % (67). Ce type de traitement est utilisé dans les premières heures après l'infarctus afin de détruire le thrombus responsable de l'occlusion de l'artère (64, 68). L'avantage majeur de cette méthode est la restauration de la circulation sanguine dans la région affectée, ce qui limite la taille de l'infarctus en réduisant la nécrose cellulaire dans les tissus et, au final, diminue le remodelage du VG (64, 68). Les agents thrombolytiques agissent en activant la pro-enzyme plasminogène en plasmine active qui pourra alors cliver la fibrine présente dans le thrombus (69, 70). Cette technique se sert donc du processus de fibrinolyse déjà présent dans l'organisme qui est spécialisé dans la

régulation de la thrombose pour entraîner la réouverture de vaisseaux bloqués par un caillot sanguin (70).

Il a été établi depuis longtemps que les risques de subir une rupture du myocarde sont plus élevés lors de la première semaine après l'IM à cause du grand nombre de cellules nécrosées et de la minceur du tissu (52, 61, 62, 64). En général, le décès est dû à une tamponnade cardiaque, c'est-à-dire l'accumulation de sang dans la paroi thoracique, qui finit par comprimer le cœur et empêcher son bon fonctionnement (71). L'échocardiographie est la méthode la plus utilisée pour diagnostiquer une rupture cardiaque puisqu'elle est rapide et a une sensibilité de 100 % (67). La seule technique permettant de traiter la fissure est de retirer la zone de l'infarctus, puis de fixer un greffon pour refermer la plaie (67). L'une des méthodes potentielles permettant de diminuer l'incidence des ruptures cardiaques serait de diminuer l'activité des MMP ou de limiter leur expression afin d'éviter une dégradation excessive de la MEC (61).

## **5. Les MAPK**

Les MAPK composent une famille de protéines kinases sérine/thréonines exprimées de façon ubiquitaire afin de répondre adéquatement à un stimulus extracellulaire tel qu'un dommage tissulaire ou une infection pathogénique (72-75). Ces kinases se coordonnent en différentes voies afin de réguler une importante quantité de réponses cellulaires telles que la migration cellulaire, la mitose, l'apoptose, la survie cellulaire, la différenciation cellulaire, l'expression génique et la réponse du système immunitaire inné et adaptatif (72, 74-76). Chez les mammifères, 14 MAPKs ont été séparées en 7 groupes qui sont, à leur tour, divisés en deux voies (57, 72).



**Figure 2. Schéma de la cascade MAPK classique en 3 étapes.** À gauche est présenté un schéma de la cascade MAPK classique où un stimulus extracellulaire vient activer la phosphorylation en trois étapes d'une MAPKKK, puis d'une MAPKK et d'une MAPK afin d'amplifier le signal (57, 73, 76). La MAPK peut ensuite activer une MAPKAP qui pourra phosphoryler ses cibles et entraîner une réponse cellulaire adéquate selon le signal reçu (57, 73, 76). À droite est illustré un exemple de cascade d'activation de MK2 entraînée par la relâche de cytokines pro-inflammatoires par des cellules nécrosées (77, 78). Cela peut activer diverses MAPKKK telles que TAK1, MEKK4 et ASK1 qui peuvent alors phosphoryler MKK3 ou MKK6 (57, 79-81). Ces MAPKK sont alors capables d'activer, entre autres, les MAPK p38 $\alpha$  et p38 $\beta$  qui interagissent avec la MAPKAP MK2 (79, 80, 82). Lorsque MK2 est phosphorylé par l'une des deux kinase p38, la protéine peut alors interagir avec ses diverses cibles comme HSP25/27 ou TTP et HuR (77, 78, 82-84). Ultimement, cette cascade peut avoir divers effets sur la cellule tels que l'activation de la migration cellulaire via HSP25/27 ou l'induction d'une réponse inflammatoire en diminuant l'affinité de TTP pour l'ARNm de cytokines pro-inflammatoires et en augmentant celle de HuR (77, 78, 82-84).

Les voies classiques sont composées de 10 kinases : ERK1/2, JNK1/2/3, ERK5 et les 4 isoformes de p38MAPK (p38 $\alpha$ , p38 $\beta$ , p38 $\gamma$  et p38 $\delta$ ) (72). Leur activation est due à la phosphorylation des résidus thréonine et tyrosine présents dans la boucle d'activation dont le motif conservé est Thr-X-Tyr (72, 85). Ces voies forment une cascade en trois étapes où, après un stimulus extracellulaire, les MAPKKK sont activées par phosphorylation et vont ensuite phosphoryler les MAPKK qui pourront finalement interagir avec les MAPK (Figure 2, p. 24) (57, 73, 76). La phosphorylation des MAPK déclenche leur activité enzymatique et ces dernières

peuvent alors activer leurs cibles telles que les MAPKAPK pour amplifier une réponse cellulaire adéquate (57, 73, 76).

Les voies atypiques sont composées de 4 kinases : ERK3/4, ERK7/8 et NLK (57, 72). Cette voie ne partage pas la cascade en trois étapes décrites précédemment (57, 72). De plus, le motif d'activation conservé Thr-X-Tyr est remplacé par les motifs Thr-X-Gly ou Thr-X-Glu chez ERK3/4 et NLK (72). Finalement, les substrats ciblés par les MAPK de la voie atypique sont plus restreints puisqu'elles agissent seulement sur les sérines et les thréonines qui sont suivies d'une proline (72).

## 5.1 p38MAPK

Les p38MAPK sont des protéines kinases sérine/thréonine activées par différents stress cellulaires tels que les rayons UV, le stress oxydatif, les chocs thermiques ou osmotiques, l'apoptose, ainsi que la présence de cytokines inflammatoires ou de facteurs de croissance (72, 82, 86, 87). Ces kinases sont présentes de la levure jusqu'aux mammifères et partagent approximativement 40 % d'identité avec les autres MAPK (86, 88). La panoplie de réponses cellulaires régulées par la voie de p38MAPK inclut l'apoptose, la division cellulaire, la migration cellulaire ainsi que la réponse inflammatoire (82). La durée et l'intensité du signal affectent les effets biologiques entraînés par la cascade p38MAPK, mais, dans tous les cas, la réponse peut être observée en quelques minutes (89).

Il existe quatre isoformes de p38MAPK qui partagent environ 60 % d'identité : p38 $\alpha$ , p38 $\beta$ , p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  (86). Ces isoformes sont aussi connus sous les noms MAPK14, MAPK11, MAPK12 et MAPK13. Le groupe p38MAPK est souvent séparé en deux sous-groupes (85). Le premier sous groupe est composé de p38 $\alpha$  et p38 $\beta$  qui sont tous deux exprimés de façon ubiquitaire dans les tissus et partagent une homologie de séquence de 75 % (72, 85, 87, 90). Entre les deux, p38 $\alpha$  est l'isoforme exprimé de façon dominante (91). Le second sous-groupe est composé de p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  dont l'homologie entre elles est de 65 %, et dont l'homologie avec p38 $\alpha$

est de 62 % et de 61 % respectivement (72, 85, 87, 90, 92). De plus, l'expression de ces dernières est spécifique à certains tissus (72, 85, 87, 90, 92). En effet, p38 $\gamma$  est exprimé principalement dans les muscles striés incluant le cœur (87, 90). L'ARNm de p38 $\delta$  est retrouvé à des niveaux élevés dans les tissus endocriniens tels que les glandes de la prostate, salivaires, pituitaires, et surrénales et est exprimé de façon plus modérée dans les poumons, les reins, les testicules, le pancréas, la peau, la trachée, l'estomac, le colon et l'intestin grêle (87, 90, 92). La séquence la mieux partagée entre les 4 isoformes se situe dans le domaine catalytique où l'homologie est à plus de 90 % et dont le motif est composé des résidus Thr-Gly-Tyr (87, 92). Il est établi que p38 $\alpha$  et p38 $\gamma$  sont les isoformes exprimés le plus abondamment dans le cœur entier, suivis par p38 $\beta$  et p38 $\delta$  qui sont présents à des niveaux beaucoup plus bas (87). L'inhibition ciblée de l'isoforme p38 $\alpha$  chez la souris entraîne une létalité embryonnaire, car il est nécessaire pour la formation du placenta (80, 87, 90). À l'inverse, les souris où les autres isoformes sont inhibés développent un phénotype apparemment normal, probablement car les autres isoformes sont capables de pallier à l'absence de l'un d'entre eux grâce à leurs rôles similaires (80, 87).

## 5.2 Activation de la voie p38MAPK

Les activateurs classiques des p38MAPKs sont MKK3, MKK4 et MKK6 (79, 80). MKK3 et MKK6 sont normalement identifiés comme étant les activateurs classiques de p38MAPK et sont hautement spécifiques à ce groupe de MAPK (79, 80). Ces MAPKK ont toutes deux la capacité d'activer tous les isoformes de p38MAPK grâce aux protéines d'échafaudage SPAG9 et BNIP-2, mais MKK6 interagit principalement avec p38 $\gamma$  en présence de TNF- $\alpha$  (72, 87). L'activation de p38MAPK se fait par changement conformationnel suivant la modification du résidu Phe169 dans la boucle d'activation (85). La capacité de l'une ou l'autre des MAPKK présentée à activer l'un des isoformes de p38MAPK dépend de plusieurs facteurs (87). Le tissu impliqué, le type et la force de signal reçu, ainsi que des niveaux d'expression des isoformes p38MAPK et de leurs activateurs MKK3 et MKK6 dans la cellule sont tous des facteurs importants (72, 87). Dans certains cas, tels que l'exposition aux rayons UV, MKK4, un activateur de JNK, est capable d'activer



principalement l'isoforme p38 $\alpha$  et semblerait aussi être un activateur de p38 $\delta$  (72, 80, 87, 92). Les activateurs de MKK3 et MKK6 sont TAK1, MEKK1, MEKK4, DLK, MLK2, TIP-2, TAO1, TAO2 et ASK1 (57, 81). Ce grand nombre d'activateurs permet à la cellule de répondre à une vaste variété de signaux afin de déclencher différentes voies pour une réponse rapide et appropriée (80).

### **5.3 Rôles des isoformes de p38MAPK**

Plusieurs études ont démontré que l'activité de p38 $\alpha$  est reliée à la formation de fibrose dans différents tissus tels que le cœur, les poumons et les reins puisque cette kinase joue un rôle dans la prolifération des CF et leur transformation en CMF (17). Dans la cellule au repos, p38 $\alpha$  semble être retrouvé dans le cytoplasme et dans le noyau. Normalement, la phosphorylation de p38 $\alpha$  se fait de façon classique avec l'une des kinase située en amont, mais elle peut aussi s'autophosphoryler grâce à une interaction avec TAB1 (89). Ce type d'événement a été détecté dans le cas d'ischémies du cœur, mais cette autophosphorylation n'entraînerait pas l'activation usuelle de ses cibles (89). L'activation de p38 $\alpha$  par l'expression constitutive de MKK6 chez la souris mène à une forte formation de fibrose même en l'absence d'un stimulus extérieur (17). À l'inverse, l'inhibition de p38 $\alpha$  bloque la différenciation des CF en CMF, puisqu'elle ne peut plus activer le facteur de transcription SRF régulant l'expression du TRPC6 qui peut, à son tour, activer la cascade de signalisation associée à la calcineurine nécessaire à la formation de CMF (17). Parmi la soixantaine de substrats de p38 $\alpha$ , les cibles les mieux connues sont MNK1, MK2/3 et MK5 qui régulent un grand nombre de fonctions biologiques telles que l'inflammation et la migration cellulaire (72, 86, 93).

La kinase p38 $\beta$  partage beaucoup de rôles avec p38 $\alpha$  tels que leur capacité à activer MK2 et MK3 ou encore à réguler la contractilité du cœur (80, 94). Puisque la plupart des études sont faites avec des inhibiteurs qui agissent sur les deux isoformes, il y a peu d'informations spécifiques sur l'activité de p38 $\beta$  (91). Il a été démontré que p38 $\beta$  n'était pas impliqué dans la réponse inflammatoire induite par l'injection de LPS étant donné que la réponse immunitaire de souris p38 $\beta$ <sup>-/-</sup> était

normale (91). D'autres études semblent indiquer que l'activation de cette kinase après une ischémie aurait un effet cardioprotecteur, puisqu'elle limiterait la consommation d'adénosine triphosphate (ATP) dans la zone ischémique afin de préserver l'énergie disponible, ce qui améliorerait la survie de CM (94).

L'isoforme p38 $\gamma$  aurait un rôle dans la réponse aux dommages faits à l'ADN et la régénération des tissus en plus d'être impliqué dans certains cancers (80). Cette kinase a un C-terminal plus court que les autres isoformes et sa séquence permet la liaison avec le domaine PDZ de diverses protéines telles que SNTA1, l'isoforme de synthrophine le plus abondant dans le cœur, ainsi que DLG4 et DLG1 (80). Cette liaison permet à p38 $\gamma$  d'altérer son activité par phosphorylation (80). La kinase est tout de même capable de cibler d'autres substrats sans domaine PDZ comme SAB et MyoD (80). La phosphorylation DLG1 cause sa dissociation de la protéine GKAP ce qui la libère du cytosquelette et affecte, entre autres, la forme que prend la cellule (80). DLG1 est aussi capable d'interagir avec des protéines capables de s'associer avec les acides nucléiques (80). Sa régulation par p38 $\gamma$  peut donc affecter la transcription, la conservation d'ARNm défectueux dans le noyau ainsi que la réparation de l'ADN (80). La kinase p38 $\gamma$  change de compartiment cellulaire selon le type de signal reçu par la cellule (80). Après un stress hyper-osmotique, elle s'accumulera dans le noyau, alors que l'exposition à des rayons UV la maintiendra dans le cytoplasme (80). L'expression de p38 $\gamma$  est particulièrement élevée dans les muscles squelettiques : cette kinase est impliquée dans leur développement en régulant la transformation des myoblastes en myotubes (80, 89).

Il a été démontré récemment que p38 $\delta$  serait fortement impliqué dans divers processus comme la régénération des tissus, l'apoptose, la différenciation cellulaire et la production de cytokines, ainsi que dans le développement des maladies inflammatoires, neurodégénératives, métaboliques et dans certains cancers (80, 85, 92). Les facteurs d'activations principaux de l'isoforme sont l'exposition aux rayons UV, le stress oxydatif et les chocs osmotiques, mais le niveau d'activation varie selon la source de stress, le type de cellule impliquée et la force du signal (92). Des

conditions hypo-osmotiques, par exemple, activeront p38 $\delta$  plus fortement que p38 $\gamma$  (92). Certaines cibles identifiées *in vitro* seraient TAU et STMN1, toute deux impliquées dans la régulation des microtubules (80). La phosphorylation de TAU par p38 $\delta$  entraînerait une déstabilisation dans la formation du réseau de microtubules, alors que celle de STMN1 augmenterait la polymérisation des microtubules (80, 92). La kinase jouerait aussi un rôle dans le développement du diabète de type 1 et 2 puisqu'elle est impliquée dans la sécrétion d'insuline ainsi que dans la régulation de la mort des cellules  $\beta$  du pancréas (80, 92). Il semblerait aussi que p38 $\delta$  régulerait la traduction de protéines impliquées dans la réponse cellulaire lors d'un stress en phosphorylant le facteur EEF2K (92). Il a été démontré chez des souris p38 $\delta^{-/-}$  que la protéine joue un rôle dans le recrutement des neutrophiles aux sites où il y a de l'inflammation par la régulation du substrat PKD1 qui régule à son tour PTEN (92). Dans un modèle de souris p38 $\delta/\gamma^{-/-}$ , il a été démontré que, dans le contexte de polyarthrite rhumatoïde, les niveaux d'expression des cytokines IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  et IL-17, ainsi que la production de cellules T sont diminués (92).

## 5.4 Inhibition de p38MAPK

Les composés pyrimidine imidazole ont un effet d'inhibition préférentiel pour les isoformes p38 $\alpha$  et p38 $\beta$  et n'ont donc pas d'effets sur p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  (90, 95). Plusieurs essais cliniques ont permis d'étudier des inhibiteurs de ces p38MAPK dans l'espoir d'améliorer le pronostic de patients subissant un IM ou de réduire les symptômes dus à des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite ou l'asthme (96, 97). Au final, ces nombreux inhibiteurs n'ont pas démontré l'efficacité escomptée, en plus d'entraîner de nombreux effets secondaires graves (93, 97). En effet, les inhibiteurs provoquent des étourdissements, l'apparition d'éruptions cutanées, des symptômes touchant le tractus gastro-intestinal, font la promotion des infections opportunistes en plus d'avoir une toxicité importante pour le foie, le cœur ainsi que le système nerveux central (82, 93, 97). La perte de l'équilibre entre les voies pro-inflammatoires et anti-inflammatoires régulés par p38MAPK serait la source de cette toxicité (93, 97). Normalement, p38MAPK contrôle négativement TAK1 en interagissant avec TAB1 ce qui inhibe l'activation de JNK, une autre voie pro-

inflammatoire de la cascade MAPK classique (93, 97, 98). En l'absence de p38MAPK, TAK1 est alors libre d'activer une forte réponse inflammatoire par l'intermédiaire de la voie JNK (77, 93, 98). De plus, p38MAPK régule la résorption de la réponse inflammatoire de deux manières (93). L'activation de cette kinase entraîne l'augmentation de l'expression de protéines anti-inflammatoires telles que MKP1 (93). Ensuite, p38MAPK active les protéines MSK1 et MSK2 qui régulent la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (93). L'expression ubiquitaire de p38MAPK ainsi que sa multitude de cibles sont d'autres aspects pouvant être problématiques par rapport à son inhibition (93). En effet, plus de soixante cibles sont comptées et elles jouent une grande variété de rôles physiologiques à travers l'organisme (82, 93). Cette complexité rend les effets de l'inhibition de p38MAPK difficiles à prédire puisque cette inhibition manque de spécificité (82, 93).

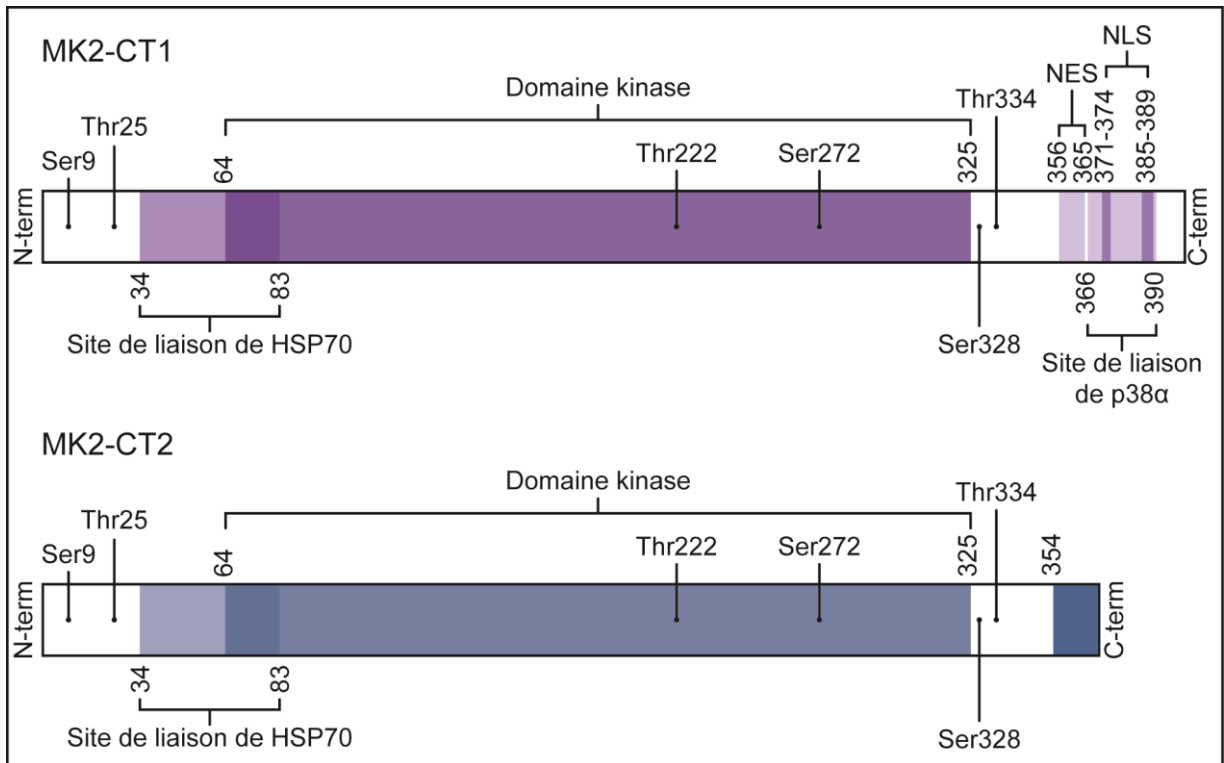
## **6. Les MAPKAPK**

La famille des MAPKAPK se situe en aval des voies MAPK classiques et atypiques, et est séparée en 6 groupes : RSK1-4, MNK1-2, MSK1-2, MK2-3 et MK5 (57). Les protéines RSK sont ciblées par ERK1, ERK2 et ERK5 (57). Elles jouent un rôle dans la croissance, la prolifération, la migration et la survie cellulaire, ainsi que la régulation transcriptionnelle et traductionnelle (57). Les MNK peuvent être activées par ERK1, ERK2 et p38MAPK et réguleraient la réponse inflammatoire, la prolifération et la survie cellulaire ainsi que la régulation transcriptionnelle et traductionnelle (57). Les protéines MSK partagent les mêmes activateurs que les MNK et sont impliquées dans certains processus neurologiques, la réponse inflammatoire et la régulation transcriptionnelle et traductionnelle (57). Les kinases MK2 et MK3 sont toutes deux phosphorylées par p38MAPK et auraient des fonctions similaires (57). Les activateurs de MK5 sont principalement ERK3 et ERK4, mais certains pensent que p38MAPK pourrait aussi phosphoryler MK5 (57). Mon projet porte sur la protéine kinase MK2.

## 6.1 MK2

MK2 est une protéine kinase sérine/thréonine basophile retrouvée dans le noyau lorsqu'elle n'est pas active (77, 99). Même si MK2 a été identifiée comme étant activée par ERK1/2, son activateur principal est en fait p38 $\alpha$  et peut aussi être activée par p38 $\beta$  (Figure 2, p. 24) (76, 78, 82, 100). Le domaine kinase de MK2 a une forte homologie avec les protéines MK3 et MK5, mais pas avec les autres kinases sérine/thréonine connues (82). La séquence consensus ciblée pour la phosphorylation d'une protéine par MK2 est X-X-Hyd-X-Arg-X-X-Ser-X-X (101). Plusieurs rôles ont été attribués à MK2 tels que la régulation de la biosynthèse de cytokines dans la réponse inflammatoire, l'architecture du cytosquelette, la migration cellulaire, la survie cellulaire, la régulation de facteurs de transcription, la réponse aux dommages de l'ADN, l'apoptose, l'endocytose et le contrôle du cycle cellulaire (78, 81, 82, 99, 102, 103). De nombreuses maladies ont aussi été associées à MK2 comme, par exemple, l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, l'asthme, la maladie inflammatoire de l'intestin, le diabète de type 2, divers cancers ainsi que les maladies neuro-inflammatoires telles que l'Alzheimer (78, 93, 103, 104). Étant donné que MK2 se retrouve en aval de p38MAPK, plusieurs pensent qu'il serait possible de cibler cette kinase comme voie thérapeutique afin de contourner les effets secondaires entraînés par l'usage d'inhibiteurs de p38MAPK dans le traitement des maladies mentionnées précédemment (82).

## 6.2 Structure de la protéine



**Figure 3. Schéma de la structure primaire de MK2-CT1 et MK2-CT2.** MK2-CT1 a une masse moléculaire de 40 kDa et est d'une longueur de 400 acides aminés (77, 99). Le site de liaison à HSP70 est situé aux positions 34 à 83 et le site de liaison à p38 $\alpha$  est aux positions 366 à 390 (78, 81, 82). Le domaine NES se trouve aux positions 356 à 365, alors que le domaine NLS est divisé en deux segments situés aux positions 371 à 374 et 385 à 395 qui se superposent au site de liaison à p38 $\alpha$  (77). Le domaine kinase entrecoupe partiellement le site de liaison de HSP70, car il se situe aux positions 64 à 325 (78, 82). Thr222 et Ser272 sont situés dans le domaine catalytique, alors que Thr334 est à l'extérieur, et ces sites peuvent être phosphorylés par p38 $\alpha$  (78, 82). Ser9, Thr 25 et Thr334 sont des sites de phosphorylation additionnels (77). MK2-CT2 est un variant d'épissage de 370 acides aminés dont la masse moléculaire est de 42 kDa (82, 100). L'ensemble des positions 354 à 370 est composé de la séquence GCLHDKNSDQATWLTRL ce qui remplace les sites de localisation ainsi que de liaison à p38 $\alpha$ , alors que le reste de la protéine reste le même (82, 100).

MK2 est une protéine composée de 400 acides aminés dont la masse moléculaire est d'environ 46 kDa (Figure 3, p. 32) (77, 99). La région N-terminale située entre les positions 10 et 40 est formée de deux régions riches en proline qui forment de multiples feuillets  $\beta$  (77, 82). La séquence 34 à 83 est nécessaire à la liaison entre la protéine chaperonne HSP70 et MK2 (81). De plus, MK2 comporte une boucle riche en glycine dont la séquence est Gly-Leu-Gly-Ile-Asn-Gly (105). La région C-terminale est formée principalement d'hélices  $\alpha$  et aux positions 366 à 390 de ce

segment se retrouve le site de liaison de la protéine p38 $\alpha$  (77, 82). Le signal de localisation nucléaire (NLS) segmenté en deux parties est situé aux positions 371 à 374 et 385 à 389 et la séquence d'exportation nucléaire (NES) se retrouve aux positions 356 à 365 (77). Le domaine kinase se retrouve entre les positions 64 et 325 et les sites de phosphorylation de MK2 par p38 $\alpha$  sont Thr222 et Ser272, deux résidus situés dans le domaine catalytique, ainsi que Thr334 situé à quelques positions après le domaine kinase (78, 82). Il existe d'autres sites de phosphorylation tels que Ser9, Thr25 et Ser328 (77).

Deux variants d'épissage de MK2 ont été identifiés chez l'humain ainsi que chez la souris : MK2-CT1, la protéine entière, et MK2-CT2 qui est la version tronquée de la protéine (Figure 3, p. 32) (82, 100). MK2-CT2 est composé de 370 acides aminés et a une masse moléculaire d'environ 42 kDa (82, 100). La différence structurale entre les deux variants se situe au niveau C-terminal puisque la séquence C-terminale de MK2-CT2 est substituée par la suite GCLHDKNSDQATWLTRL aux positions 354 à 400 (82, 100). Les séquences correspondant au NLS, au NES et au site de liaison de p38 $\alpha$  sont donc toutes présentes chez MK2-CT1, mais pas chez MK2-CT2 (77, 82, 100). Étant donné que la séquence C-terminale diffère, seul MK2-CT1 forme un complexe avec p38 $\alpha$  (82, 100). Malgré cela, les deux variants d'épissage sont capables d'avoir une activité catalytique, car il a été démontré que MK2-CT2 peut participer à la production de TNF- $\alpha$  même s'il est moins efficace que MK2-CT1 (100).

### **6.3 Régulation de MK2**

Lorsque la cellule est à l'état de repos, p38 $\alpha$  inactivé est dans le cytoplasme et MK2 est dans le noyau (82). Lorsque p38 $\alpha$  est phosphorylée par un de ses activateurs, la kinase migre vers le noyau afin de se lier à MK2 (100). Cela permet la formation d'un complexe entre MK2, p38 $\alpha$  et HSP70 avec sa co-chaperone HOP afin de stabiliser p38 $\alpha$  en bloquant sa dégradation par le protéasome (81). Ainsi, avec l'aide de HSP70 et HOP, les deux kinases forment un complexe dont la constante de dissociation ( $K_d$ ) est de 20 nM (77, 81). La formation de ce complexe permet à p38 $\alpha$

de réguler deux éléments chez MK2 : sa localisation cellulaire et son activité catalytique (100). La phosphorylation de MK2 par p38 $\alpha$  sur le résidu Thr334 cause un changement conformationnel chez cette dernière (77, 78). Une boucle vient alors recouvrir le NSL et, par le fait même, libère le NES ce qui entraîne le déplacement du complexe p38 $\alpha$ -MK2 du noyau vers le cytoplasme grâce à un mécanisme relié à l'exportine 1 (77, 78). L'activation du domaine catalytique de MK2 a lieu lorsque les résidus Thr222 et Ser272 sont phosphorylés par p38 $\alpha$  (77, 78). De plus, il a été démontré que la phosphorylation de Thr222 était particulièrement importante pour la phosphorylation subséquente des cibles de MK2 impliquées dans la migration cellulaire, le cycle de division cellulaire, l'apoptose et la stabilisation de divers ARNm (77, 78). Il a été rapporté que l'activation de MK2 n'est pas nécessaire pour que l'exportation du complexe vers le cytosol ait lieu (100). La sumoylation de MK2 à la Lys339 cause une diminution de son activité kinase (78).

La kinase p38 $\alpha$  est stabilisée lorsqu'elle forme un complexe avec MK2 (100). Quand MK2 est absent, une diminution significative de p38 $\alpha$  est détectable dans le cœur, les poumons, le foie, les reins, le cerveau et partiellement dans la rate (100). Par contre, il n'y a pas de diminution dans le thymus (100). La liaison entre les deux kinases force p38 $\alpha$  à adopter une conformation inactive, puisque la séquence dans le NLS de MK2 se lie au Glu-Asp présent dans le domaine kinase de p38 $\alpha$  (79, 100).

## 6.4 Rôles principaux

MK2 peut phosphoryler une importante variété de cibles dont le motif retrouvé entre ces différentes molécules correspond à X-X-Hyd-X-Arg-X-X-S-X-X où « Hyd » est équivalent à un acide aminé hydrophobe de grande taille (82). Ces cibles jouent des rôles physiologiques très variés tels que le remodelage du cytosquelette, la maintenance de la stabilité génomique et la stabilisation de différents ARNm dont la région 3'-UTR est riche en éléments AU (82). La protéine MK2 a un éventail de substrats plus limité que celui de p38MAPK ce qui la rend plus intéressante que p38MAPK comme cible thérapeutique pour réguler la réponse inflammatoire (82).



### **6.4.1 Migration et prolifération cellulaire**

La première cible de MK2 qui a été identifiée est HSP27 chez l'humain et HSP25 chez la souris (82). En général, les protéines de choc thermique participent au repliement approprié de protéines ce qui aide à la survie cellulaire lorsqu'elles subissent un choc thermique (106). HSP25/27, plus précisément, est une protéine qui joue un rôle de chaperon pour empêcher la dénaturation irréversible de certaines protéines due à un stress cellulaire (106, 107). En effet, une accumulation de protéines dénaturées entraîne la formation d'agrégats qui sont cytotoxiques (106, 107). Ces agrégats peuvent être dégradés par le protéasome pour éviter une trop grande abondance de ces derniers, mais le rôle de HSP27/25 permet d'éviter ce type de problème à la source (106, 107). De plus, HSP27/25 est aussi impliqué dans la régulation de la migration, la différenciation ainsi que la prolifération cellulaire (77, 78, 82, 84).

Dans le cadre de la migration et de la prolifération cellulaire, HSP27/25 forme des multimères capables de se lier à l'extrémité négative des filaments d'actine (77, 78). Puisque l'actine a pour rôles la régulation de la migration et de la division cellulaire, l'activité de HSP27/25 a pour effet d'inhiber ces fonctions (108-110). Lorsque MK2 phosphoryle HSP27/25 aux résidus Ser19 et Ser40, cette dernière est incapable de former des multimères et ne peut donc plus interagir avec les filaments d'actine pour inhiber son activité de remodelage du cytosquelette (77, 78, 82, 108). L'activité de MK2 mène donc à l'activation de la migration et de la division cellulaire (82). Il a aussi été démontré que HSP27/25 est nécessaire pour la stabilisation de l'ARNm de la COX-2, une protéine impliquée dans la régulation de l'inflammation (78). Cette réponse a été observée dans le cadre d'injections de LPS pour activer la réponse inflammatoire (82). De plus, il semblerait que l'activité de p38MAPK, en combinaison avec l'activité de MK2, stabiliserait les transcrits de MMP2 et MMP9 ce qui faciliterait la migration et l'invasion cellulaire (82).

## 6.4.2 Réponse inflammatoire

Un autre groupe de cibles de MK2 bien identifié est composé de protéines telles que TTP, AUF1 et HuR (82). Ce groupe de protéines est capable de lier la région 3'-UTR riche en éléments AU de divers ARNm ce qui influence positivement ou négativement leur demi-vie et mène à une réponse cellulaire appropriée (82, 83). Les régions 3'-UTR de ces ARNm sont constituées de pentamères AUUUA, d'heptamères UAUUUUAU et de nonamères UUAUUUAUU qui se superposent pour former des répétitions spécifiques (82, 83). La spécificité de ces régions peut être affectée par divers facteurs tels que la longueur du segment et le microenvironnement formé par la structure secondaire (83). La spécificité des protéines qui lient ce type de région peut aussi être affectée par plusieurs facteurs comme les modifications post-traductionnelles qui leur sont apportées, dans ce cas-ci la phosphorylation par MK2, ainsi que les interactions entre ces protéines (83). TTP et HuR, par exemple, sont en compétition pour lier les mêmes séquences, alors que TTP et KSRP interagissent de façon coopérative (83).

Il a été démontré que l'injection de LPS dans des cellules MK2<sup>-/-</sup> résulte en une production significativement diminuée de TNF- $\alpha$ , d'IL-1 $\beta$ , d'interleukine 8 (IL-8), d'IL-10 et d'IFN- $\gamma$ , toutes des molécules impliquées dans la régulation de la réponse inflammatoire (57, 82). Tel que mentionné précédemment, AUF1, TTP et HuR sont des substrats de MK2 et ont un effet sur la stabilité des cytokines mentionnées précédemment (82, 83). Des études démontrent que AUF1 est responsable de la déstabilisation de l'ARNm des transcrits suivants : CSF2, IL-6, TNF- $\alpha$  et VEGF (82). Les transcrits déstabilisés par TTP sont COX-2, CSF2, IL-1, IL-6, IL-8, MMP9, TNF- $\alpha$  et VEGF $\alpha$  (82, 93, 102). HuR réprime la traduction de p27 et FAS, et stabilise les transcrits suivants : COX-2, Cyclins, CSF2, HIF-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, MMP9, p21, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PIM1, BCL2 et VEGF (82, 83). De plus, il est décrit que l'expression constitutive d'ARNm, qui est dégradé rapidement dans les cellules à l'état de repos, a l'avantage de permettre une réponse rapide et adéquate en cas de changement dans l'environnement cellulaire (82).

TTP est principalement connu pour son rôle anti-inflammatoire puisque c'est un facteur de dégradation de l'ARNm de plusieurs cytokines pro-inflammatoires (77, 83, 93). Dans une cellule au repos, TTP n'est pas phosphorylé et conserve son affinité pour lier et déstabiliser divers ARNm (83). Par contre, lorsque cette protéine est active, elle est dégradée rapidement par le protéasome ce qui permet d'équilibrer le taux de dégradation d'ARNm entraîné par cette protéine (83). Les effets de la phosphorylation de TTP dépendent de la kinase et du site de phosphorylation impliqués dans cette modification post-transcriptionnelle ainsi que les interactions avec les protéines 14-3-3 présentes (83). Lorsque MK2 phosphoryle TTP aux résidus Ser52 et Ser178, les sites de liaison des protéines 14-3-3, cela entraîne son inactivation en diminuant son affinité pour ses cibles puisque son  $K_d$  passe de  $5 \cdot 10^{-7}$  à  $7 \cdot 10^{-6}$  (78, 82, 83, 93, 111). Certains affirment que cela la rend TTP moins efficace pour entrer en compétition avec HuR dans la liaison avec l'ARNm qu'ils ciblent, alors que d'autres pensent que cela entraîne la séquestration de TTP puisque des protéines 14-3-3 viennent s'y lier (83, 93, 102). Cette phosphorylation a comme second effet de stabiliser TTP puisqu'elle ne peut plus être dégradée par le protéasome (78, 83, 93). Donc, lorsque la phase inflammatoire est activée, TTP est inactive, stabilisée et s'accumule dans la cellule (77, 78, 112). La déphosphorylation de TTP et des enzymes impliquées dans la voie p38MAPK/MK2 par la protéine PP2A est l'une des voies permettant de résorber la réponse inflammatoire puisque cela réactive la grande quantité de TTP accumulée au cours de l'inflammation afin de lier l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires et promouvoir leur dégradation (102, 112).

De façon similaire à TTP, AUF1 est présent dans le cytosol et déstabilise les ARNm qu'il cible (82). Cette protéine régule la stabilité de l'ARNm des proto-oncogènes, des facteurs de croissance, des cytokines et de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (82). La protéine  $\beta$ -TrCP est capable d'ubiquitiner AUF1 pour entraîner sa dégradation (82, 113). Certains pensent que la phosphorylation de HSP27/25 serait nécessaire pour que  $\beta$ -TrCP puisse ubiquitiner AUF1 (113). Donc, l'activation de la cascade p38MAPK-MK2-HSP27/25 entraînerait la dégradation de AUF1 par le protéasome, ce qui stabilise l'ARNm qu'AUF1 cible (82).

HuR est une protéine exprimée de façon ubiquitaire qui réside dans le noyau lorsque la cellule est au repos (83). Ses cibles régulent une grande variété de fonctions telles que la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et l'apoptose (82). Différentes kinases peuvent phosphoryler HuR telles que CDK5 dont l'effet est de diminuer l'affinité de HuR pour ses cibles (83). De plus, sa phosphorylation par MK2 déplace HuR vers le cytoplasme et augmente son affinité pour ses cibles (83). En combinaison avec la diminution d'affinité de TTP, l'augmentation de la liaison compétitive de HuR pour se lier à la région 3'-UTR d'ARNm permet de stabiliser ces dernières (82). Il semblerait que MK2 régule l'expression de ICAM-1 et d'IL-8 via l'activité de HuR (82). Un autre facteur pouvant participer à la stabilisation de certains transcrits d'ARNm est HNRPA0 lorsqu'il est phosphorylé à Ser84 (57).

MK2 peut également moduler la réponse inflammatoire en phosphorylant la sous-unité gp130 du récepteur d'IL-6 au niveau du résidu Ser782 (57). Cela entraîne l'internalisation, puis la dégradation du récepteur (57). L'effet obtenu est une diminution de la transcription des gènes régulés par STAT3 (57).

La régulation du cycle cellulaire serait une autre voie modulée par MK2 (82). Une étude réalisée sur des cellules d'ostéosarcome MK2<sup>-/-</sup> a démontré une perte du point de contrôle G2/M après irradiation des cellules avec des rayons UV (82). Cette perte de contrôle serait probablement due à l'absence des interactions entre MK2 et CHK1 ainsi que CHK2 (82). Un autre facteur impliqué serait CDC25B puisque sa phosphorylation par MK2 sur les résidus Ser169, Ser323, Ser353 et Ser375 cause également un arrêt du cycle cellulaire au point de contrôle G2/M (78). De plus, MK2 régulerait le cycle cellulaire à la phase G1/S puisque la kinase activerait MDM2 (78, 82). MDM2, à son tour, entraînerait la dégradation de p53 en s'y liant (78, 82). La protéine p53 est responsable, entre autres, de l'arrêt du cycle cellulaire à G1/S, de la sénescence et de la réparation de l'ADN (78, 82).

Plusieurs autres substrats de MK2 ont été identifiés tels que PDE4 impliqué dans l'expression de cytokines, le facteur de transcription CREB, LSP1 qui joue un rôle dans le recrutement de certains leucocytes, le facteur de transcription EGR1 qui régule l'expression de la pompe calcique SERCA2 (86, 100, 104, 114-116). L'étendue de toutes les cibles de MK2 reste encore à être élucidée.

## **6.5 Homologue de MK2 : MK3**

Les protéines MK2 et MK3 ont une structure très similaire puisque leur homologie est de 75 % et leur site de reconnaissance pour lier leurs cibles est presque identique (78, 82, 117). Tout comme MK2, MK3 comporte un motif NLS ce qui veut dire qu'elle se trouve dans le noyau des cellules à l'état de repos (82). Sa phosphorylation par p38 $\alpha$  expose le motif NES de MK3 qui se relocalise dans le cytoplasme et, tout comme MK2, MK3 peut aussi être activée par p38 $\beta$  (82, 117). Ces deux kinases partagent une grande variété de substrats ce qui implique qu'elles ont des rôles qui s'entrecoupent, mais c'est l'activité enzymatique de MK2 qui est dominante puisque MK3 est exprimée à des niveaux plus faibles (82, 117). Ce partage de rôles physiologiques est appuyé par le fait que la surexpression de MK3 peut aider à pallier l'absence de MK2 dans certaines circonstances (57). MK3 serait aussi impliquée dans la régulation d'ARNm dont la région 3'-UTR est riche en éléments AU, puisque des études ont démontré que les niveaux d'expression de TNF- $\alpha$  après l'injection de LPS est encore plus réduite chez les souris où MK2 et MK3 ont été inactivées (82). Cela est probablement dû, entre autres, au fait que MK3 est capable de phosphoryler HNRPA0 sur le résidu Ser84 ce qui stimule l'expression de TNF- $\alpha$  (57). Par contre, il n'y a pas de réduction dans la production de cytokines après l'injection de LPS dans un modèle de souris MK3<sup>-/-</sup> (57). Ensuite, MK3 aurait la capacité de former un complexe stable avec p38 $\alpha$  ce qui permettrait une conservation partielle de la MAPK en l'absence de MK2 (117).

## **6.6 Homologue de MK2 : MK5**

MK5 et MK2 sont similaires, mais ne partagent pas une homologie de séquence aussi forte que MK2 avec MK3 (118). De plus, tout comme MK2 et MK3,

MK5 semble pouvoir être activée par p38 $\alpha$  et p38 $\beta$ , mais les kinases ERK3 et ERK4, des membres de la cascade atypique MAPK, semblent être les activateurs principaux de MK5 *in vivo* (119). Contrairement à MK2, l'expression de la protéine MK5 est plus limitée puisqu'elle est détectable dans les CF, mais pas dans les CM malgré la présence d'ARNm dans les deux types de cellules (119). Tout comme MK2, MK5 serait capable de réguler HSP27/25 afin de moduler la réorganisation du cytosquelette (118). Par contre, la régulation de HSP27/25 par MK2 serait contrôlée par l'activité de la voie p38MAPK, alors que celle par MK5 serait probablement une réponse à l'activation de la voie de la protéine kinase A (PKA) (118). Notre équipe a démontré que MK5 joue un rôle important dans le développement de la fibrose réparatrice après un IM (119). La diminution de l'expression de MK5 dans des souris MK5<sup>+/-</sup> a en effet mené à une diminution de la taille de l'infarctus, de la cicatrice et de la présence de collagène dans la blessure (119). Cette diminution de fibrose serait associée au fait que l'activité de MK5 est nécessaire au recrutement et à la prolifération des CF (119). En effet, nous avons démontré que ces fonctions cellulaires sont significativement diminuées dans les CF MK5<sup>-/-</sup> (119).

## **6.7 LPS : étude de la réponse inflammatoire**

Le LPS est une endotoxine pro-inflammatoire bactérienne utilisée fréquemment dans les études où un signal induisant l'inflammation est nécessaire (120, 121). Cette endotoxine est un stimulateur du système immunitaire efficace dont les effets sont très bien connus en plus d'être décrits avec détails dans la documentation scientifique (120, 121). En effet, l'injection de LPS est une méthode très fréquemment utilisée qui a servi à élucider le rôle de MK2 dans la réponse inflammatoire ou encore à déterminer les mécanismes impliqués dans l'activation des macrophages (30, 112, 122). Cette PAMP est capable de stimuler non seulement les cellules du système immunitaire, mais aussi les cellules environnantes telles que les CM ou les cellules gliales (121, 123). Le patron d'expression des cytokines sécrétées par les macrophages après leur activation par la présence de LPS est bien établi (122). En effet, le LPS entraîne la production de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15 et TGF- $\beta$  qui vont alors activer différentes cascades en réponse au stimulus

pro-inflammatoire(122). Cette méthode est donc particulièrement efficace pour induire une réponse inflammatoire importante de façon constante et est fréquemment utilisée puisque ses effets sont bien connus.

L'injection de LPS imite le contexte d'une infection bactérienne, car cette molécule est normalement présente sur la membrane de bactéries à Gram négatif (30, 112, 122). Une inflammation stérile est entraînée par des conditions différentes comme une ischémie ou la présence de dépôts cristallisés dans les jointures (124). Il est établi que plusieurs des mécanismes inflammatoires activés par la présence d'un pathogène sont aussi impliqués dans la réponse stérile (124, 125). Par contre, des voies de signalisation distinctes sont aussi activées, mais elles restent encore à être caractérisées adéquatement (124, 125). De plus, la synergie entre les différents éléments déclencheurs n'est toujours pas décrite adéquatement (124). Ainsi, l'inflammation après un IM, par exemple, n'entraînerait pas exactement la même réponse pro-inflammatoire que la simple injection de LPS étant donné que d'autres cascades méconnues peuvent être activées par ce type d'événement.

## **6.8 Objectifs de l'inhibition de MK2 dans le cadre de maladies**

Des études précédentes ont démontré que l'inhibition de MK2 peut apporter plusieurs avantages intéressants afin d'améliorer le pronostic de certaines maladies comme pour le diabète de type 2 (104, 126). L'absence de MK2 chez des souris diabétiques a atténué certains symptômes tels que la résistance à l'insuline et l'accumulation de dépôts de lipides dans certains organes comme que le cœur (120, 121). En plus, ces souris étaient protégées contre la détérioration des fonctions cardiaques normalement observée lorsque la maladie progresse (104, 126). Les individus atteints de diabète sont plus à risque d'être atteints d'un IM, car cette maladie cause une accélération du développement d'athérosclérose et augmente les chances de formation d'un thrombus (127, 128). Ensuite, la possibilité d'un décès après un IM est plus élevée chez les diabétiques et, s'ils survivent, les conséquences

associées sont généralement plus importantes que chez les individus exempts de la maladie (128, 129).

Selon ce qui a été observé à ce jour, MK2 semble être une cible thérapeutique particulièrement intéressante pour contrôler le diabète. Par contre, aucune étude a encore démontré quelles pouvaient être les conséquences entraînées par son absence après un IM. La kinase MK2 est qualifiée par plusieurs comme étant le régulateur principal des protéines qui modulent la stabilité de l'ARNm des cytokines inflammatoires (82, 130). Dans certains modèles expérimentaux chez lesquels du LPS a été injecté, l'inhibition de la kinase causait une diminution significative de l'expression de cytokines particulièrement importantes dans le déclenchement de la réponse inflammatoire comme IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$  et TNF- $\alpha$  (57, 82). Il semble donc que l'activité de la kinase soit essentielle pour l'activation d'une réponse inflammatoire (82, 130). Étant donné que cette réponse est cruciale à la réparation des tissus, toute altération peut avoir des conséquences graves et irréversibles (131). Sans inflammation, le recrutement des cellules essentielles au nettoyage des débris, à la formation du tissu de granulation et à la fibrose réparatrice n'ont pas lieu (131). Dans le cadre d'un IM, cela aurait comme répercussion d'empêcher la formation adéquate d'une cicatrice permettant d'éviter la rupture du myocarde, une conséquence certainement mortelle.

Comme les diabétiques sont plus susceptibles de subir un IM et que l'inhibition de MK2 semble avoir des effets positifs sur les symptômes de cette maladie, il est crucial de déterminer quelles conséquences cette inhibition peut avoir sur la réparation du myocarde après un infarctus. Après tout, il n'est pas encore établi quel est le rôle de MK2 dans la réponse inflammatoire post-IM, l'étape essentielle pour déclencher la fibrose réparatrice.



## **7. Cytokines et facteurs de croissance : outils de communication cellulaire au cours de l'inflammation**

Les cytokines sont habituellement de très petites protéines d'environ 15 à 20 kDa capables d'avoir des effets de suppression ou de stimulation cellulaire et dont la durée de vie est très courte (28, 132). Leur effet est relativement localisé puisqu'elles sont impliquées dans la régulation autocrine et paracrine des cellules (28, 132). Les cytokines sont souvent appelées facteurs de croissance quand le signal peut être envoyé sur une plus grande distance (28, 132). Elles sont sécrétées afin de moduler ou de mobiliser différents types de cellules en se liant à leurs récepteurs membranaires (28, 132). L'effet d'une cytokine peut être pléiotropique ou plus sélectif selon la composition des récepteurs avec lequel elle interagit puisque les sous-unités qui les composent peuvent s'associer de façon variée (28, 132, 133). Il existe 4 types de récepteurs dont les actions sont différentes (28). Le premier type mène à l'activation des voies MAPK, impliqué dans la différenciation, la prolifération et la survie cellulaire, et NF- $\kappa$ B, un pivot dans l'activation des cellules immunitaires (28, 134). Le second type active la voie JAK-STAT aussi impliquée dans la régulation des cellules immunitaires et est capable d'activer MAPK (28, 135). Le troisième type active les SMAD qui sont impliqués dans la réparation et l'homéostasie des tissus (28, 136). Le quatrième type a un domaine tyrosine kinase et interagit avec des facteurs de croissance (28).

### **7.1 Types de cytokines**

Les chimiokines ont comme particularité d'être chioattractantes, mais peuvent aussi réguler d'autres fonctions biologiques (132, 137). En règle générale, les chimiokines portant le motif CC seraient spécialisées dans le recrutement des monocytes et de certains leucocytes, alors que celles portant le motif CXC seraient spécialisées pour attirer les neutrophiles (138). Une augmentation de la présence de ces deux types de chimiokines corrèle fortement avec l'activation de la réponse inflammatoire ainsi que le processus de guérison post-IM (139).

Les interleukines sont sécrétées par un type cellulaire afin d'avoir un effet d'activation ou d'inhibition sur un autre type de cellule comme activer la migration, la différenciation et la croissance cellulaire (28, 132). Elles étaient d'abord identifiées comme étant des glycoprotéines sécrétées par les monocytes et les lymphocytes, mais elles peuvent en fait être produites par une grande variété de cellules telles que les fibroblastes et la grande famille des leucocytes (133). Elles sont séparées en plusieurs familles telles que la famille des IL-1, la famille des IL-6 et la famille des IL-10 (28). Parmi les 11 membres d'IL-1 on retrouve IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-18, et IL-38 (28, 140). Ils ont une activité pro-inflammatoire et doivent souvent être clivées par des caspases comme l'inflammasome ou des protéases pour être activées (28, 140). La famille des IL-6 participe à la maintenance de l'homéostasie des tissus quand il y a une infection ou la présence de dommages et peut donc avoir des effets pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires selon les autres signaux présents dans l'environnement (28, 141-144). Les nombreux membres incluent IL-6, IL-11, CNTF, LIF, OSM, CTF1 et IL-27 (28, 133). La famille des IL-10 participe à la résolution de la réponse anti-inflammatoire et elle est composée de plusieurs membres comme IL-10, IL-20, IL-28 et IL-29 (28, 132, 133).

Les interférons ont comme rôle principal d'induire la réponse de cellules immunitaires à cause de la présence de pathogènes (28, 145). Ils sont séparés en 3 classes : le type I, le type II et le type III (28, 145). La classe de type I a été découverte comme un médiateur de la réponse inflammatoire dans le cadre d'une infection virale et serait sécrétée par tous les types de cellules (28, 146). La classe de type II a pour seul membre IFN- $\gamma$  et joue un rôle dans l'activation du système immunitaire inné et adaptatif (28, 146). IFN- $\gamma$  a comme cible principale les macrophages du phénotype M1, mais peut aussi activer les cellules B et les cellules T (28). Le type III est aussi activé par une infection virale ou fongique et aurait comme fonction de moduler le système immunitaire en activant directement les neutrophiles (147, 148).

## 7.2 Expression et interrelation des cytokines au cours d'une réponse inflammatoire

La relâche de DAMP causée par la nécrose des CM après un IM induit l'expression complexe d'une panoplie de signaux cellulaires afin d'orchestrer la réponse inflammatoire, l'étape clef pour amorcer la réparation des tissus (28, 149). Une forte augmentation d'IL-1 sécrété par les cellules environnantes comme les CF et les EC ainsi que la présence importante de TNF- $\alpha$  relâché par les cellules nécrosées a lieu rapidement après une ischémie, mais ces signaux pro-inflammatoires diminuent significativement déjà quelques heures après l'événement (16, 28, 32). La demi-vie d'IL-1 est très courte et se fait neutraliser rapidement par IL-1R $\alpha$  et IL-1R $\beta$  (28). La lésion de tissus musculaires entraîne aussi une forte expression de SPP1, une protéine matricellaire multifonctionnelle exprimée principalement par les macrophages, ainsi que par une variété de types cellulaires (150). Elle sert à réguler les interactions de cellule à cellule ainsi qu'entre les cellules et la MEC en plus de participer au recrutement des cellules immunitaires (150). Elle est associée principalement aux macrophages et aux neutrophiles, mais elle peut aussi être impliquée dans la régénération des myoblastes des muscles squelettiques ainsi que dans la production de la fibrose (150). Son augmentation peut être détectée dans les 12 heures à 24 heures après la blessure et retourne à des niveaux de base dans les deux 2 semaines suivantes (150).

Après un IM, la présence de l'IL-1 en combinaison avec la sécrétion de la cytokine pro-inflammatoire IL-18 par les monocytes et les cellules endommagées entraîne une réponse de type 1 et polarise les monocytes en macrophages M1 en stimulant la production d'IFN- $\gamma$  (28, 32, 133, 140, 149, 151). Ce type de réponse induit fortement la phagocytose chez les Th1 pour le nettoyage des débris (28, 146, 152). IFN- $\gamma$  joue un rôle dans l'activation du système immunitaire inné et adaptatif et cet interféron a comme cible principale les macrophages pour les polariser en M1, mais peut aussi activer les cellules B et les cellules T (28, 146). L'activation des leucocytes retrouvés dans les tissus affectés a comme effet d'amplifier le recrutement des neutrophiles, des monocytes et des macrophages, car ils augmentent, entre

autres, l'expression de molécules d'adhésion en plus de maintenir l'expression de cytokines pro-inflammatoires se qui s'additionne aux signaux déjà présents (28, 153-156). Ces cytokines sont aussi capables d'activer diverses cellules comme les EC et les CF ce qui amplifie la production des signaux pro-inflammatoires CSF2, IL-6 et IL-1 $\beta$  en plus d'activer les récepteurs d'ANG II (11, 16, 157).

La présence d'IL-1 $\beta$ , plus précisément, induit une augmentation de la migration des CF, mais bloque leur transformation en CMF (11). Cette inhibition permettrait le nettoyage des débris avant que la sécrétion de collagène soit activée pour reconstruire la MEC (11). De plus, cette interleukine cause l'augmentation de l'expression de MMP, de VEGF, d'IL-8 et de TGF- $\beta$  (28, 158). IL-1 $\alpha$  est spécialisée dans l'augmentation de la sécrétion d'IL-1 $\beta$ , d'IL-8, de MMP3, de TNF- $\alpha$ , CXCL1, CXCL2, CXCL5 et CXCL8 (16). Ces dernières sont efficaces dans le recrutement des neutrophiles (24). IL-15 est exprimée principalement par les cellules dendritiques et les monocytes quand il y a activation de leur TLR et elle a un effet anti-apoptotique en régulant BCL2, STAT5B et FOXP3 (28, 159, 160).

CSF2 est fortement sécrété par les cellules T activées, mais peut aussi être produit par les CF après un IM (28, 161). Le signal est transféré aux cellules myéloïdes avoisinantes afin d'attirer un grand nombre de neutrophiles et de monocytes et atteint même les myélocytes présents dans la moelle pour stimuler la production de leucocytes (161). Une production intense de CSF2 est associée à un besoin urgent de neutrophiles et de macrophages (28, 161). D'autres chimiokines sont impliquées dans le recrutement rapide des leucocytes. La chimiokine CCL2 est fortement exprimée même plusieurs jours après un IM ce qui attire les cellules mononucléaires telles que les monocytes et les NK (28, 139). CCL3 et CCL4 ont une efficacité plus faible, mais participent aussi au recrutement des monocytes et de certains leucocytes (138, 139). La cytokine CTF1 fait partie de la famille des cytokines IL-6 et serait exprimée à des niveaux élevés dans le cœur, les cellules de l'endothélium vasculaire ainsi que les adipocytes (162-164). Elle aurait comme effet d'entraîner une augmentation de l'expression d'ICAM-1 et de CCL2 ce qui recrute un

plus grand nombre de monocytes (162, 165). Le ligand TNFSF11, quant à lui, est impliqué dans l'activation des neutrophiles pour les recruter dans la zone d'inflammation (166). Il permet d'activer la sécrétion de protéases telles que MMP9 (166). L'accumulation de tous ces signaux de recrutement des cellules inflammatoires sert à permettre la dégradation des débris présents dans la zone ischémique pour préparer les tissus à la formation d'une cicatrice (28, 161).

TNFRSF11b est un récepteur membre de la superfamille des récepteurs TNF capable d'entrer en compétition avec le récepteur RANK, puisqu'ils peuvent lier le même ligand : TNFSF11 (167). Cela a pour effet de neutraliser les effets de TNFSF11 comme l'activation des neutrophiles, car TNFRSF11b est un récepteur leurre (166, 167). Une augmentation de TNFRSF11b dans le plasma a été identifiée comme étant un marqueur relatif à l'athérogénèse, le remodelage et l'inflammation (168).

La stimulation de l'angiogenèse après un IM permet de rétablir l'apport en oxygène et en nutriments dans les tissus affectés et, ultimement, participe à la conservation des fonctions cardiaques (169). OSM est une molécule de la famille des cytokines IL-6 sécrétée par les cellules inflammatoires (169). Cette dernière stimule l'angiogenèse en augmentant l'expression de VEGF et de FGF dans les tissus en périphérie de l'infarctus (169). Son expression a aussi pour effet d'inhiber l'apoptose et la fibrose de façon significative (169). VEGF $\alpha$ , l'un des isoformes de VEGF, est un joueur clef dans les processus de vasculogénèse et d'angiogenèse et plus de promouvoir la perméabilité des vaisseaux (170-172). Déjà, 3 jours après un IM, la formation de nouveaux vaisseaux peut être détectée et elle atteint un pic à 7 jours après l'IM (170). Par contre, l'expression de l'ARNm de VEGF $\alpha$  après un IM est particulièrement élevée dans la zone péri-infarctus dans les 12 heures après l'évènement, puis commence à décliner après 24 heures pour retourner à des niveaux normaux dans les 48 heures après l'IM (170, 173). Cet ARNm serait exprimé par les macrophages, les EC, les CF et les cellules des muscles lisses suite à une ischémie (172, 174). En effet, l'ARNm de VEGF serait stabilisé dans des conditions

d'hypoxie et son expression serait stimulée par la présence d'IL-1, d'IL-6 et de TNF- $\alpha$  (171). La courte durée de vie de VEGF $\alpha$  refléterait le fait que ce facteur sert d'élément initiateur pour l'angiogenèse et que d'autres éléments prennent ensuite la relève (170, 172, 175).

Certaines interleukines ont des effets pro-inflammatoires et anti-inflammatoires ce qui rend leurs interactions particulièrement complexes (28, 141, 143, 144). IL-6 est exprimée immédiatement lorsqu'il y a une infection ou quand des dommages sont apportés aux tissus et elle aide à maintenir une certaine homéostasie (28, 141). Elle permet d'augmenter la perméabilité vasculaire et est même capable de stimuler les cellules qui n'ont pas de récepteur spécifique à IL-6 par signalisation trans en interagissant avec la sous unité gp130 (28, 142). IL-6 peut aussi stimuler la prolifération des fibroblastes et la différenciation des cellules hématopoïétiques ainsi qu'activer plusieurs types de leucocytes (133, 142). IL-27 est sécrétée par les macrophages, les cellules endothéliales et les cellules dendritiques (28, 133). Elle a pour effet d'augmenter la production d'IFN- $\gamma$  impliqué dans la polarisation des macrophages M1, de STAT1 et de certaines interleukines pro-inflammatoires telles que IL-8 et IL-12 (176). BMP2 a pour effet de diminuer la capacité des macrophages à se différencier en M2 ce qui participe au maintien du signal pro-inflammatoire (177). La cytokine CCL12 serait impliquée dans le recrutement de fibrocytes, des cellules circulant dans le sang qui sécrètent des MMP en réponse à l'inflammation (178-181). PF4 aurait un pouvoir de recrutement marqué pour les fibroblastes et serait fortement exprimé dans le processus de guérison d'une blessure (178-181). La protéine BMP7 serait cardioprotectrice puisque la protéine aurait comme effet principal de diminuer l'intensité de la fibrose (182). En effet, cette dernière aurait un rôle qui s'oppose à TGF- $\beta$ 1 (182).

Tel que mentionné précédemment, certaines cytokines sont aussi impliquées dans le processus autant dans le processus pro-inflammatoire quand dans la résolution de ce type de réponse (28, 141, 143, 144). La signalisation classique d'IL-6 permet de préparer la transformation des M1 pro-inflammatoires en M2 anti-

inflammatoires et profibrotiques en stimulant l'expression des récepteurs d'IL-4 (28, 142-144). IL-27 joue un rôle anti-inflammatoire en augmentant la sécrétion d'IL-10 en plus d'avoir été identifiée comme ayant un effet d'antagoniste contre les effets pro-inflammatoires d'IL-6 (176).

L'interleukine IL-10 est sans contredit caractérisée comme étant une cytokine anti-inflammatoire puisqu'elle inhibe la sécrétion de molécules pro-inflammatoires telles que les cytokines TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, CSF2, CSF3, CCL2 et IL-8 dans les CPA en plus de diminuer l'expression de molécules présentatrices d'antigène (28, 132, 133). IL-10 a comme autres rôles de promouvoir la fibrose et de réguler l'expression de diverses MMP pour la reconstruction de la MEC (29, 30). Les cellules capables de sécréter IL-10 sont les cellules B et T, les macrophages M2, les monocytes et les DC (133). Tel que mentionné ailleurs dans le texte, IL-10 est sécrété lorsque les neutrophiles en apoptose commencent à être nettoyés par les macrophages M2 par le processus d'efferocyte (18, 24, 28, 30, 37). Les interférons de type I auraient aussi des effets anti-inflammatoires, car leur expression augmente la production d'IL-10 par les cellules B (183). Les autres molécules anti-inflammatoires présentes à ce moment sont l'annexine A1, TGF- $\beta$ 1, IL-1Rn, et IL-22 (24). La cytokine immunosuppressive TGF- $\beta$  une molécule exprimée de façon constitutive à travers tous les tissus et joue un rôle dans la réparation des tissus (28, 132). La combinaison de TGF- $\beta$  avec IL-6 a comme effet d'entraîner la différenciation des cellules T, alors que lorsque la cytokine est combinée à IL-10 elle a pour effet de changer le phénotype des macrophages M1 en macrophages M2 (28, 184). Les M2 activent les CF en CMF ce qui déclenche le processus de fibrose réparatrice où il y le collagène est sécrété pour réparer la MEC (184). TGF- $\beta$ 1 est l'isoforme de TGF- $\beta$  le mieux décrit et est principalement impliqué dans la suppression de la réponse immunitaire (185). Il augmente l'expression d' $\alpha$ -SMA et stimule la formation de nouvelle MEC (16). TGF- $\beta$ 2 et TGF- $\beta$ 3 sont moins bien caractérisés, mais il est établi que leur rôle est plus spécifique à la régulation du développement du système immunitaire et non dans la régulation de la réponse immunitaire (185).

### **7.3 Problèmes associés à une dérégulation de l'expression des cytokines**

Les cytokines peuvent avoir des effets dévastateurs si le moment ou l'intensité de leur expression est inapproprié. Il a été démontré que l'expression faible et de courte durée de TNF- $\alpha$  aurait des effets bénéfiques sur le processus de guérison, mais si elle devient trop forte cela entraîne l'apoptose des CM (156). Une sécrétion d'IL-6 trop importante peut entraîner une réponse inflammatoire généralisée (28, 142). L'expression trop importante de CSF2 peut avoir un effet néfaste, car une prolifération trop importante des leucocytes ou encore une altération du processus d'efferocytose pour contrôler le nombre de neutrophiles peut ultimement mener à une rupture cardiaque à cause d'une trop grande activité pro-inflammatoire (28, 36, 39, 161). Une activation trop forte de TNFSF11 peut entraîner des dommages liés à une activité importante des neutrophiles (166). Si CFT1 est exprimé trop fortement, cela peut être associé à l'hypertrophie des CM ainsi qu'à une augmentation de la sécrétion du collagène (15, 164).



## Hypothèse et objectifs

Étant donné que MK2 est identifiée comme étant un régulateur majeur dans la réponse inflammatoire, l'hypothèse était que les souris MK2<sup>-/-</sup> allaient avoir un taux de décès post-MI significativement plus élevé. Selon nous, cette mortalité importante serait causée par une réponse inflammatoire trop faible qui limiterait le processus de réparation post-IM chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. De ce fait, la fibrose réparatrice dans la zone de l'infarctus ne pourrait pas se développer adéquatement et les risques de rupture du ventricule seraient grandement accrus. Ce manque de fibrose aurait pour résultat final une augmentation marquée de rupture dans les 4 à 5 jours après l'IM, à cause d'une paroi ventriculaire trop faible pour supporter les tensions entraînées par les contractions cardiaques. Puisque l'inflammation s'étend sur 6 jours, les échantillons seront collectés à 3 et à 5 jours post-IM pour être dans le cœur ainsi que vers la fin de la réponse inflammatoire. Globalement, nous émettons l'hypothèse selon laquelle les souris MK2<sup>-/-</sup> devraient moins bien survivre à un IM, du fait d'une réponse inflammatoire post-MI altérée qui n'est pas assez importante pour déclencher le recrutement des CF nécessaires pour remplacer les tissus perdus.

Les objectifs suivant ont été établis afin de tester notre hypothèse :

1. Déterminer si MK2 est nécessaire au déclenchement de la fibrose réparatrice post-IM.
2. Évaluer si la kinase joue un rôle dans la dégradation des fonctions lors des premiers jours post-IM.
3. Confirmer si MK2 est un régulateur principal de la réponse inflammatoire dans le cœur.

# Matériel et méthodes

## Matériel

Les réactifs pour la migration SDS-PAGE, les membranes de nitrocellulose et les réactifs pour la méthode de Bradford provenaient des laboratoires de Bio-Rad. La leupeptine et le PMSF venaient de Roche Molecular Biochemicals. L'anti-MK2 de lapin (# 3042S) était produit par Cell Signaling Technology. Le fournisseur de l'anti-p38 $\alpha$  polyclonal de lapin (# C-20) était Santa Cruz Biotechnology. L'anti-GAPDH monoclonal de souris (# 4300) venait de Ambion. Les anticorps secondaires liés à la peroxydase de raifort provenaient de Jackson ImmunoResearch Laboratories. Les autres réactifs étaient de qualité analytique ou de la meilleure qualité offerte. Les amorces servant aux réactions en chaîne par qPCR (Tableau 2, p. 62) avaient été produites par Invitrogen et leur efficacité avait été démontrée précédemment (87).

## Souris

Les souris MK2<sup>-/-</sup> expriment une protéine MK2 tronquée au site actif ce qui la rend inactive (196). En effet, la cassette d'un gène de résistance à la néomycine (*neo*) contenant des codons de terminaison dans tous les cadres de lecture a été insérée dans l'exon qui exprime les sous-domaines V et VI de la protéine (196). Des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> mâles âgées de 12 semaines  $\pm$  1 semaine ont été utilisées pour les expériences. Les souris MK2<sup>-/-</sup> ne semblent pas souffrir d'effets indésirables physiologiques ou comportementaux, en plus d'être fertiles et viables (77). Toutes les expériences ont été approuvées par le comité éthique de l'Institut de Cardiologie et ont été accomplies en suivant les directives du Conseil canadien de protection des animaux. Les souris ont résidé dans des installations dépourvues de pathogènes, dans des salles tenues à température constante et dont le cycle d'éclairage changeait toutes les 12 heures.

## Méthodes

### Génotypage des souris

Afin de déterminer quel était le génotype des souris, l'équipe de l'animalerie faisait parvenir un échantillon de la queue ou des oreilles des souriceaux qui étaient collectés au 21<sup>e</sup> jour  $\pm$  2 jours suivant leur naissance. Tout d'abord, les échantillons de tissus étaient immergés dans 200  $\mu$ L de milieu de digestion (150 mM de NaCl, 50 mM de Tris, 25 mM d'EDTA, 0,25 % de SDS, 20 mg/mL de protéinase et pH à 8,0) pour ensuite être incubés à 55 °C pour 3 heures. Les tubes étaient agités délicatement chaque heure d'incubation. Ensuite, les tubes étaient centrifugés à 4000 rpm pour 5 minutes à température pièce. Un volume de 100  $\mu$ L du surnageant était transvidé dans un nouveau tube où 2 V d'éthanol 95 % étaient ajoutés suivis de 1/10 V de NaCl 5 M. L'ADN était précipité en plaçant les tubes à -20 °C pour 30 minutes. Une centrifugation était faite à 13 000 rpm pour 10 minutes à 4 °C. Le surnageant était retiré et 300  $\mu$ L d'éthanol 70 % étaient ajoutés afin de laver le culot. Une dernière centrifugation était faite à 14 000 rpm pour 5 minutes à température pièce puis le surnageant était jeté. Les tubes étaient séchés à l'aide du Speed Vac<sup>®</sup> SC110 de Savant pendant 15 minutes afin de retirer tout l'éthanol. De 50 à 100  $\mu$ L d'eau sans RNase étaient ajoutés afin de solubiliser le culot, puis l'ADN était quantifié à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop ND-1000.

L'ADN isolé était ensuite amplifié avec 5  $\mu$ L d'ADN mis dans 20  $\mu$ L de solution de réactifs (Tampon 1X, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 0,4 mM d'amorces sens et anti-sens et 1 : 10 de polymérase TAQ-2). Une solution de réactifs était faite avec les amorces MK2-1 et MK2-2 afin de détecter le gène sauvage et l'autre solution était composée des amorces MK2-1 et Neo-1 afin de détecter le gène mutant (Tableau 1, p. 54). Les paramètres de PCR (DNA Engine Peltier Thermal Cycler, Bio-Rad) étaient de 94 °C pour 10 minutes, puis 35 cycles de 94 °C pour 30 secondes, 59 °C pour 45 secondes et 72 °C pour 1 minute, puis la PCR terminait à 72 °C pour 10 minutes.

La température était finalement maintenue à 4 °C jusqu'à ce que les échantillons soient récupérés.

**Tableau 1. Séquences des amorces utilisées pour effectuer le génotypage des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>.**

Cibles	Séquences
<b>MK2-1</b>	5'-CGT GGG GGT GGG GTG ACA TGC TGG TTG AC-3'
<b>MK2-2</b>	5'-GGT GTC ACC TTG ACA TCC CGG TGA-3'
<b>Neo-1</b>	5'-TGC TCG CTC GAT GCG ATG TTT CGC-3'

Afin de visualiser les amplicons, le volume total d'ADN amplifié mélangé au colorant de chargement d'ADN (Orange 1X, Thermo Fisher Scientific) avait été migré sur un gel d'agarose 2 % pendant 30 minutes à 70 V pour ensuite révéler les bandes obtenues à l'aide du logiciel Quantity One version 4.6.9 et du numériseur Gel Doc<sup>TM</sup> XR+ de Bio-Rad. Les images obtenues étaient imprimées avec l'imprimante thermique Mitsubishi P93D. La migration correspondant aux deux paires d'amorces était faite en parallèle sur deux gels différents. Si la souris était de type MK2<sup>+/+</sup> une bande se retrouvant à 500 pb apparaissait sur le gel correspondant à la paire d'amorces MK2-1 et MK2-2 et aucune bande n'était visible sur le gel correspondant à la paire d'amorces MK2-1 et Neo-1. Si la souris était de type MK2<sup>-/-</sup> une bande se retrouvant à 1500 pb apparaissait sur le gel correspondant à la paire d'amorces MK2-1 et MK2-2 et une bande se retrouvant à 800 pb était présente sur le gel correspondant à la paire d'amorces MK2-1 et Neo-1.

### **Induction de l'infarctus du myocarde (IM)**

Les souris (MK2<sup>+/+</sup>, n = 39 ; MK2<sup>-/-</sup>, n = 41) étaient anesthésiées avec de l'isoflurane à 2 % (dans de l'oxygène pur, 1000 mL/min) après avoir reçu une injection intrapéritonéale de buprénorphine (0,1 mg/kg) avant la chirurgie. Deux injections supplémentaires étaient données aux 6 à 8 heures après la chirurgie ainsi que le lendemain matin afin de soulager la douleur. L'infarctus avait été induit par la ligature permanente de l'artère coronaire descendante du VG avec un fil de suture en

nylon 10-0. Le nœud était situé à environ 1 mm sous l'oreillette gauche. Les groupes témoins avaient subi l'opération sous les mêmes conditions, mais sans la ligature de l'artère. Le chirurgien ne connaissait pas le génotype de l'animal lors de la chirurgie. Les structures et les fonctions cardiaques avaient été évaluées par ECT la veille ou le matin même de la chirurgie. Une deuxième ECT avait été faite 3 jours ou 5 jours après la chirurgie juste avant le sacrifice.

## **Diagnostic de rupture cardiaque**

Une nécropsie était effectuée sur les souris n'ayant pas survécu à la chirurgie afin de déterminer la cause de son décès. Le décès dû à une rupture cardiaque était diagnostiqué par la présence de sang coagulé autour du cœur et accumulé dans la cage thoracique.

## **Échocardiographie transthoracique et calculs**

L'échocardiographie transthoracique avait été effectuée sur des souris anesthésiées avec de l'isoflurane à 2 % (de l'oxygène pur, 1000 mL/min) dans les 24 heures avant la chirurgie et lors de la journée du sacrifice à l'aide d'un système d'échocardiographie Vivid 7 Dimension (GE Santé, Horten, Norvège) et de la sonde i13L (10-14 MHz).

## **Échocardiographie du ventricule gauche**

L'IM a été visualisé en utilisant l'échocardiographie à deux dimensions. Le  $LVAW_d$  et le  $LVPW_d$  ainsi que le  $LVD_d$  et le  $LVD_s$  avaient été mesurés dans la fenêtre de la coupe parasternale grand axe au niveau des muscles papillaires en utilisant le mode TM. Ces paramètres avaient ensuite servi à calculer la masse du VG selon l'équation  $1,055 \cdot ((LVD_d + LVAW + LVPW)^3 - (LVD_d)^3)$  et à calculer la FS selon l'équation  $(LVD_d - LVD_s) / LVD_d \cdot 100 \%$  (197). L'EF avait été calculée avec une formule dans le système Vivid 7. La contractilité régionale du VG avait été déterminée grâce à la  $S_L$  et à la  $S_S$  captés à l'aide du TDI. L'échographie Doppler pulsé avait permis d'évaluer les paramètres diastoliques du VG tels que le flux trans-mitral, l'EDT, l'EDR, le MVco, le E et le A en imageant la vue apicale des quatre chambres

du cœur. Le LVET avait été pris par Doppler pulsé en mesurant le temps du début à la fin LVOT. Grâce à ces mesures, le  $MPI_{global}$  avait été calculé ainsi :  $(MV_{CO} - LVET) / LVET \cdot 100 \%$ . Les S et D ont aussi été prises par Doppler pulsé. L'anneau mitral avait été visualisé par TDI afin de déterminer le  $E_m$  septal et le  $E_m$  latéral, l' $A_m$  septal et l' $A_m$  latéral, ainsi que pour calculer le  $E/E_m$  latéral et le  $E/E_m$  septal. Les images prises par Doppler pulsé dans la fenêtre apicale cinq cavités avaient permis de capter les volumes entrant et sortant du VG afin de mesurer l'IVRT. L'IVRTc avait ensuite été obtenu selon l'équation suivante :  $IVRT / RR^{1/2}$  où l'intervalle RR était capté par ECG en simultané. Les MPI des parois septales et latérales à la base du VG avaient été calculées avec l'équation  $(b - a) / a \cdot 100 \%$ . La valeur « a » correspond à l'intervalle de temps capté par TDI entre le début et la fin de  $S_L$  pour le côté latéral ou de  $S_S$  pour le côté septal. La valeur « b » correspond à l'intervalle de temps mesuré à partir de la fin de l' $A_m$  latéral au début de l' $E_m$  latéral ou de la fin de l' $A_m$  septal au début de l' $E_m$  septal respectivement. Le mouvement de la paroi du VG a été placé sur une échelle de 1 à 5 : 1 = mouvement normal, 2 = hypokinésie, 3 = akinésie, 4 = dyskinésie et 5 = anévrysmal. Le WMSI a été calculé ainsi : somme de tous les scores / nombre de segments évalués.

### **Échocardiographie du ventricule droit**

Le  $RVD_d$ , le  $RVAW_d$  et le TAPSE avaient été mesurés avec le mode TM. Le Doppler pulsé a permis de mesurer l'AT et le RVET à partir du flux artériel pulmonaire. La même méthode a été utilisée pour évaluer le  $E_t$ , le  $A_t$ , l' $E_tDR$ , l' $E_tDT$  et le  $TV_{CO}$ . La vitesse de l'anneau tricuspide avait été mesurée par TDI afin de déterminer le  $S_R$ , le  $e'_t$ , l' $a'_t$ , le  $b_t$  ainsi que le  $S_R$ . Le même calcul a été utilisé pour déterminer le MPI du VD.

La technicienne d'échocardiographie ne connaissait pas le génotype de l'animal lors de la prise des mesures. Les mesures obtenues étaient composées de la moyenne de trois cycles cardiaques captés de façon consécutive. De plus, les images étaient obtenues dans des angles similaires afin de pouvoir comparer les valeurs prises pour chaque animal.

## **Collecte des tissus**

Les cœurs avaient été prélevés après avoir mis les souris sous anesthésie avec de l'isoflurane à 2 % (dans de l'oxygène pur, 1000 mL/min). Les cœurs servant aux analyses histologiques et immunohistologiques avaient été perfusés avec une solution saline (chlorure de sodium 0,9 % et héparine 2 unités USP/mL) afin de nettoyer le sang des artères. Une deuxième perfusion avait été accomplie avec de la formaline 10 % pour fixer les organes avant de les sectionner en deux entre la ligature et l'apex (coupe transversale) et de les plonger dans une solution de formaline 10 %. Ensuite, les échantillons destinés aux expériences d'histologie et d'immunohistologie avaient été remis au laboratoire d'histologie du Dr Martin Sirois à l'Institut de cardiologie de Montréal.

Les cœurs collectés pour les analyses de qPCR et d'immunobuvardage avaient, quant-à-eux, été sectionnés en différentes parties. Le VG entier avait été prélevé pour les groupes témoins, alors que le VG provenant des groupes ayant eu un infarctus avait été séparé en deux catégories : les tissus sains du VG et l'infarctus. Les différentes parties de tissus avaient été placées dans des tubes contenant du 2-méthylbutane, puis avaient été surgelées en plongeant les tubes dans de l'azote liquide pour finalement être conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## **Analyses histologiques immunohistologiques**

Après avoir été fixés dans de la formaline 10 % pour au moins 24 heures, les cœurs avaient été déshydratés avec différentes solutions dont les concentrations en alcool augmentaient graduellement (70 %, 95 % et 100 %), puis ils étaient traités avec du xylène. Ensuite, les cœurs étaient enrobés de paraffine avant d'être coupés en coupes transversales de 6  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Ces tranches étaient ensuite fixées sur des lames de microscope chargées. Des coupes provenant de chacun des échantillons avaient servi aux analyses histologies et immunohistologiques.

Les images des coupes cardiaques colorées au trichrome de Masson étaient prises à 4X et 20X avec un microscope Olympus BX46. L'analyse des zones de l'infarctus ainsi que la quantification du collagène dans l'infarctus avaient été accomplies avec le logiciel Image Pro Plus version 7.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD). Ces deux paramètres sont représentés dans les résultats en pourcentage de la zone de surface du tissu.

Avant de faire les traitements pour l'immunohistologie, les tissus avaient été traités au citrate pour récupérer les antigènes et au peroxyde d'hydrogène 3 % pour bloquer l'activité des peroxydases endogènes. Le blocage avait été fait en incubant les tranches pendant 20 minutes dans une solution de PBS (10 % de sérum provenant de la même espèce que l'anticorps secondaire). Ensuite, une incubation avec différents anticorps dilués dans du SVF avec 1 % de sérum normal était faite au cours de la nuit dans une chambre humide réglée à 4 °C. Les différents anticorps utilisés étaient des anticorps monoclonaux de souris contre l' $\alpha$ -SMA (A-2547, Sigma-Aldrich), des anticorps polyclonaux de lapin qui se lient au CD206 (ab64693, Abcam), et des anticorps polyclonaux de lapin qui se lient à MPO (ab65871, Abcam). Pour les groupes témoins, l'incubation avait été faite sans anticorps. Après avoir lavé les échantillons, ceux-ci avaient été incubés pendant 30 minutes avec des anticorps secondaires biotinylés. Après un autre lavage, les tranches avaient été incubées avec de la streptavidine liée à la peroxydase de raifort pour 30 minutes puis la révélation est faite avec une solution de substrat pour la peroxydase à base de DAB. Une coloration de contraste avait été faite avec de l'hématoxyline. Le montage avait été finalisé avec du Permount.

Les images des tranches traitées avec l'anticorps MPO avaient été prises à 20X et celles traitées avec l'anticorps CD206 avaient été prises à 40X avec un microscope Olympus BX46. Tous ces résultats sont représentés en pourcentage de la zone de surface. La technicienne qui avait effectué les traitements d'histologie et d'immunohistologie, ainsi que l'analyse des échantillons pour la coloration au CD206, ne connaissait pas le génotype associé à ceux-ci.



## **Culture et traitement des cardiofibroblastes**

Les CF avaient été isolés de souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> âgées de 12 semaines ± 1 semaine. Les souris avaient été sacrifiées par exsanguination sous anesthésie de pentobarbital, puis les cœurs avaient été collectés et plongés dans du PBS stérile (137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 4,2 mM de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, pH de 7,4) à 37 °C. Après avoir enlevé les oreillettes, les ventricules avaient été coupés en morceaux très fins à l'aide de ciseaux. Ces morceaux avaient ensuite subi une série de digestions dans un milieu de dissociation cellulaire (116,4 mM de NaCl, 23,4 mM de HEPES, 0,94 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 5,4 mM de KCl, 5,5 mM de dextrose, 0,4 mM de MgSO<sub>4</sub>, 1 mM de CaCl<sub>2</sub>, 1 mg/mL de BSA, 0,5 mg/mL de collagénase type IA, 1 mg/mL de trypsine et 0,020 mg/mL de pancréatine, pH 7,4). Les cellules avaient été agitées doucement à 37 °C pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur incubateur (New Brunswick scientific Excella E24 Incubator Shaker series) afin de faciliter le processus de digestion. Ensuite, après avoir récolté le surnageant contenant les cellules libérées, ces dernières avaient été centrifugées à 1500 rpm pour 5 minutes. Après 10 cycles de digestion et de récupération des cellules par centrifugation, les culots finaux avaient été resuspendus dans 4 mL de milieu de culture cellulaire Medium 199 (Sigma-Aldrich) enrichi avec 10 % de SVF, 2 % d'antibiotiques (streptomycine et pénicilline, Hyclone) et 2 % d'antifongique (amphotéricine B, Gibco), puis ils ont été répartis chacun dans 2 pétris de 35 mm. Les cellules avaient été incubées à 37 °C dans un incubateur humide (Forma™ Series II Water-Jacketed CO<sub>2</sub> Incubator, Thermo Scientific™) réglé à une atmosphère de CO<sub>2</sub> de 5 %. Le milieu a été changé après 150 minutes afin d'enlever les débris cellulaires ainsi que le lendemain matin. Le passage 0 avait été utilisé pour les expériences.

## **Essai de migration**

Les essais de migration avaient été faits aux passages 0. Les CF ont étéensemencés directement dans les plaques de culture cellulaire à 12 puits. Le milieu cellulaire enrichi avait été changé toutes les 24 heures jusqu'à ce que les cellules soient confluentes à 80 %. Les cellules étaient ensuite immergées dans un milieu

cellulaire sans sérum pour 18 heures, puis une égratignure était faite le long du centre du puits avec l'embout d'une pipette P1000. Différents traitements avaient été appliqués : milieu cellulaire sans sérum (SVF-), milieu cellulaire avec sérum (SVF+) et milieu cellulaire avec angiotensine II 1  $\mu$ M (SVF+ ANG II+). Les photos étaient prises directement après avoir fait l'égratignure ce qui correspond au temps 0 et un second groupe de photo était pris après 24 heures avec la caméra Nikon ELWD 0.3/OC 75 à 4X. Le logiciel ImageJ version 1.48 avait été utilisé afin d'évaluer le pourcentage comparant l'ouverture de l'égratignure entre 0 et 24 heures.

## **Extraction d'ARN**

Les sections de cœurs congelés avaient été broyées dans de l'azote liquide avec un mortier et un pilon afin d'obtenir une poudre fine. La poudre avait ensuite été homogénéisée pendant 10 secondes dans 500  $\mu$ L de TRIzol à l'aide d'un homogénéisateur Polytron PT 2100 (Evisa). Après avoir été incubés à température pièce pendant 5 minutes, 200  $\mu$ L de chloroforme avaient été ajoutés aux échantillons. Les échantillons étaient vortexés pendant 15 secondes, puis ils étaient incubés à température pièce pendant 3 minutes. Une première centrifugation de 15 minutes était faite à 4 °C et 14 000 rpm. La phase incolore avait été transférée dans un nouveau tube auquel un volume équivalent d'éthanol 70 % avait été ajouté. L'ARN total avait ensuite été purifié sur une colonne Qiagen en suivant les instructions du fabricant. L'ARN total avait ensuite été élué avec 25  $\mu$ L d'eau sans RNase puis les échantillons avaient été conservés à -80 °C. L'ARN total avait été quantifié avec un spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 et seuls les échantillons dont le ratio d'absorbance de 260/280 nm se retrouvait au-dessus de 1,8 avaient été utilisés.

## **qPCR : expression des isoformes p38MAPK**

La synthèse d'ADNc avait été faite avec 1  $\mu$ g d'ARN total dans un volume de réactifs de 20  $\mu$ L (0,005  $\mu$ g d'amorces aléatoires, 0,5 mM dNTP, 1X de tampon pour la synthèse du simple brin d'ADN (First strand buffer, Invitrogen), 0,01 M de DDT, 2 U/ $\mu$ L de RNaseOUT (Invitrogen) et 10 U/ $\mu$ L de transcriptase inverse M-MLV).

Après avoir ajouté les amorces et les acides nucléiques à l'ARN, les tubes avaient été chauffés à 65 °C pour 5 minutes puis avaient été mis sur glace pour 2 minutes. Après avoir ajouté le tampon, le dithiothréitol (DTT) et le RNaseOUT, les tubes avaient été chauffés à 37 °C pour 2 minutes. Finalement, après avoir ajouté la transcriptase inverse M-MLV (Invitrogen), les tubes avaient été soumis au programme suivant : 25 °C pour 10 minutes, 37 °C pour 50 minutes, 70 °C pour 15 minutes, puis 4 °C pour une durée indéfinie. Les échantillons d'ADN avaient été conservés à -20 °C.

Après avoir préparé l'ADNc, les dilutions d'ADNc 1 : 10 avaient été mélangées doucement avec les réactifs (1 : 2 de SYBR Green (Invitrogen), 0,05 µM d'amorces sens, 0,05 µM d'amorces anti-sens) centrifugés avant de les répartir dans des plaques à 96 puits pour lancer l'analyse. Les paramètres de qPCR étaient de 95 °C pour 10 minutes, puis 40 cycles de 95 °C pour 30 secondes, 55 °C pour 30 secondes et 72 °C pour 1 minute et les paramètres pour la courbe de fusion étaient de 95 °C pour 15 secondes, de 60 °C pour 1 minute pour augmenter jusqu'à 95 °C pour 30 secondes où les données étaient acquises à tous les +0,3 °C. Les amorces utilisées sont présentées au Tableau 2 (p. 62). Tous les échantillons étaient normalisés au GAPDH qui avait été amplifié en parallèle aux autres gènes puis chacun des isoformes a été comparé à l'isoforme respectif d'un échantillon externe utilisé pour chacune des expériences.

**Tableau 2. Séquences des amorces utilisées pour quantifier les niveaux d'expression des transcrits des quatre isoformes de p38MAPK.**

<b>Cibles</b>	<b>Séquences</b>
<b>p38<math>\alpha</math> sens</b>	5'-AAT CTC CTC AGA GTC TGC AAG-3'
<b>p38<math>\alpha</math> antisens</b>	5'-GCT CTT CCA CTC ATC TAT GAG AAG G-3'
<b>p38<math>\beta</math> sens</b>	5'-GAC CTC AGC AGT GTC TTC CAT-3'
<b>p38<math>\beta</math> antisens</b>	5'-GAG CTG TGA GGG TTC CAG G-3'
<b>p38<math>\gamma</math> sens</b>	5'-TTT GCC TCT GTC CTG ACC AAC-3'
<b>p38<math>\gamma</math> antisens</b>	5'-GGA ACT CTG GCT CCT AGC TGC-3'
<b>p38<math>\delta</math> sens</b>	5'-GAT TTC ACA CAG CTC TTT CCA CGC-3'
<b>p38<math>\delta</math> antisens</b>	5'-CCA CAC TGA GTT TCT CAT GTT CT-3'
<b>GAPDH sens</b>	5'-CTG CAC CAC CAA CTG CTT AGC-3'
<b>GAPDH antisens</b>	5'-ACT GTG GTC ATG AGC CCT TCC A-3'

### **qPCR : plaques RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array**

La synthèse de l'ADNc était faite en suivant les instructions du RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Handbook fourni par QIAGEN. Tel que recommandé, 0,5  $\mu$ g d'ARN avait été utilisé afin de synthétiser l'ADNc avec les solutions fournies dans le RT<sup>2</sup> First Strand Kit produit par QIAGEN. L'ADNc obtenu avait été conservé à  $-20$  °C. La préparation des plaques PAMM-150Z avait aussi été faite en suivant les instructions du même livret où l'usage du RT<sup>2</sup> SYBR Green ROX<sup>TM</sup> qPCR Mastermix produit par QIAGEN est recommandé. Les paramètres de qPCR utilisés avaient été ceux recommandés pour les appareils Applied Biosystem : 95 °C pour 10 minutes, puis 40 cycles de 95 °C pour 15 secondes suivi par 60 °C pour 1 minute. La courbe de fusion avait été obtenue grâce aux paramètres suivants : de 95 °C pour 15 secondes, de 60 °C pour 1 minute pour augmenter jusqu'à 95 °C pour 30 secondes où les données sont acquises à tous les +0,3 °C. Le C<sub>T</sub> avait été ajusté manuellement à 0,04 pour tous les résultats obtenus. Finalement, l'analyse des données avait été faite en suivant les instructions retrouvées dans le RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Data Analysis v3.5 Handbook et grâce à l'outil d'analyse de données disponible sur le site de QIAGEN : (<https://dataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>).

## **Extraction des protéines**

Les sections de cœurs avaient été broyées dans de l'azote liquide avec un mortier et un pilon afin d'obtenir une poudre fine qui avait ensuite été homogénéisée dans un broyeur de tissus Potter-Elvehjem (environ 25 coups de piston) de 2 mL dans 1,2 mL de tampon de lyse à 4 °C (50 mM de Tris, 20 mM de  $\beta$ -glycérophosphate, 20 mM de NaF, 5 mM de EDTA, 10 mM de EGTA, 1,0 % de Triton X-100, 1 mM de  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1  $\mu\text{M}$  de microcystine-LR, 5 mM de DTT, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de leupeptine, 0,5 mM de PMSF et 10 mM de benzamidine, pH 7,5). Les tubes avaient été centrifugés à 48 000 rpm à 4 °C pour 30 minutes dans un rotor Beckman TLA-100.3 afin de retirer les débris cellulaires. Les surnageants avaient été collectés et conservés à  $-80$  °C. La concentration des lysats avait été déterminée grâce à la méthode de Bradford.

## **Méthode de Bradford**

Afin de quantifier les protéines isolées de cœurs, la méthode de Bradford avait été utilisée. Tout d'abord, une courbe d'étalonnage était obtenue en préparant différentes concentrations (0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) à partir d'une solution mère d' $\alpha$ -globuline (Bio-Rad). La dilution utilisée pour préparer la solution mère qui permettra de quantifier la concentration des protéines provenant des échantillons de cœurs était de 1 : 20 dans de l'eau. Les solutions composées d'échantillons à quantifier étaient ensuite diluées à nouveau (0,5 % V/V, 1,0 % V/V, 1,5 % V/V, 2,0 % V/V et 2,5 % V/V). Le réactif de Bradford (Bio-Rad) était ajouté à tous les tubes (20 % V/V), autant ceux pour la courbe d'étalonnage que pour les inconnus, puis l'absorbance des solutions était mesurée à 595 nm avec le spectrophotomètre Ultrospec 2100 pro. La version 8 de Prism a servi à calculer la concentration des échantillons inconnus en faisant un ajustement par un polynôme du premier ordre à partir des valeurs d'absorbance obtenues.

## Immunobuvardage

Un total de 25 µg de protéines des lysats provenant des ventricules avaient été séparés par SDS-PAGE où les gels étaient composés de 10 % de polyacrylamide et baignaient dans un tampon de migration (25 mM de Tris, 0,1 % SDS, 0,192 M de glycine). Le courant appliqué pour la migration variait entre 120 V pour 1 gel et 200 V pour 2 gels et était généré par un bloc d'alimentation EPS-1001 (General Electric Healthcare). La migration avait été arrêtée lorsque la bande de colorant (bleu de bromophénol) atteignait le bas du gel. Les protéines étaient transférées sur des membranes de nitrocellulose (0,22 µm) immergées dans un tampon de transfert (25 mM de Tris, 0,193 M de glycine, 20 % méthanol) avec un voltage de 100 V appliqué pendant 90 minutes et généré à l'aide d'un bloc d'alimentation PowerPac 200 (Bio-Rad). Les membranes avaient ensuite été immergées dans un tampon de blocage (5 % de lait écrémé en poudre (Carnation) dans du TBST (27 mM de Tris, 150 mM de NaCl, 0,1 % de TWEEN-20, pH 7,5) et étaient agitées pendant 30 minutes à température pièce sur un agitateur MAX-Q 2508 (Barnstead Lab-Line). Ensuite, les membranes avaient été incubées toute la nuit à 4 °C avec les anticorps primaires (1 : 1000 dans le tampon d'anticorps (1 % de BSA, 0,04 % de NaN<sub>3</sub> dans du TBST) dans un rotateur-mélangeur Hematology Chemistry Mixer 346 (Fisher Scientific). Pour les lavages, les membranes avaient ensuite été agitées pendant 10 minutes à température pièce avec du TBST à trois reprises puis elles étaient agitées dans le tampon de blocage pendant 10 minutes. L'anticorps secondaire avait ensuite été ajouté au tampon de blocage (1 : 10 000 dans le tampon de blocage). Les bandes immunoréactives étaient ensuite révélées en incubant la membrane au réactif Western Lightning plus ECL (PerkinElmer BioSignal, Montreal, QC, Canada) pour 1 minute, puis en exposant la membrane aux films Carestream Kodak BioMax MR. Les films avaient été développés à l'aide de l'appareil ECOMAX X-Ray Film Processor (PROTEC).

## **Analyses statistiques**

Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  erreur-type. Le test Mandel-Cox a été utilisé pour la comparaison statistique des courbes de survie. Les comparaisons statistiques des données d'échocardiographie ont été faites par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Bonferroni. Pour ce qui est des comparaisons statistiques des données concernant l'immunobuvardage, la migration cellulaire, les qPCR des isoformes de p38, l'histologie et l'immunohistologie, elles ont été faites par analyse de variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison de Tukey. Le logiciel utilisé était la version 8 de Prism par GraphPad (GraphPad Software, La Jolla, CA). Lorsque les valeurs  $P$  étaient inférieures à 0,05, la différence était considérée statistiquement significative.

## Résultats

Cibler cliniquement la voie p38MAPK avec des inhibiteurs comme nouvelle thérapie anti-inflammatoire a été un échec, car les effets secondaires entraînés étaient trop néfastes (93, 97). L'inhibition à long terme de p38MAPK cause une perte d'équilibre entre les signaux pro-inflammatoires et anti-inflammatoires ce qui a des effets toxiques pour le cœur, le foie et le système nerveux central (82, 93, 97). Cela a eu comme effet de déplacer l'attention vers l'inhibition des cibles de p38 $\alpha$ , telles que MK2, comme thérapie alternative (82).

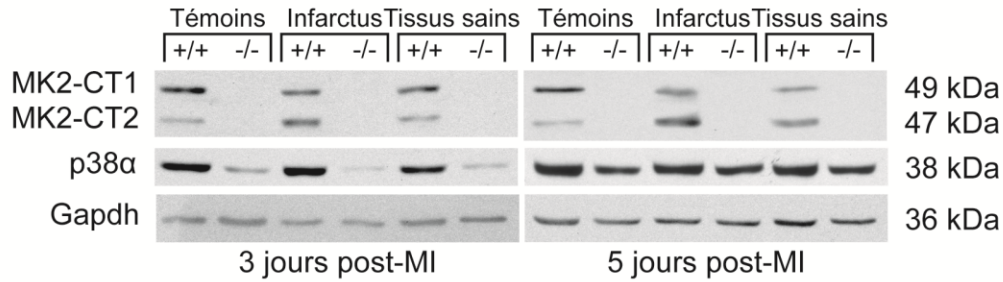
Puisque la kinase MK2 a été identifiée comme étant un joueur crucial dans la régulation de la stabilité de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires, nous croyons qu'il était important de déterminer quels allaient être les effets entraînés par l'absence de MK2 lors de la phase inflammatoire post-IM chez la souris (82). En effet, cette phase est critique au bon déroulement du processus de guérison suivant un IM, car elle est nécessaire au déclenchement de la fibrose réparatrice (11, 59).

### **L'expression de la protéine MK2 est complètement éliminée des souris MK2<sup>-/-</sup> et entraîne une diminution de l'expression de la protéine p38 $\alpha$**

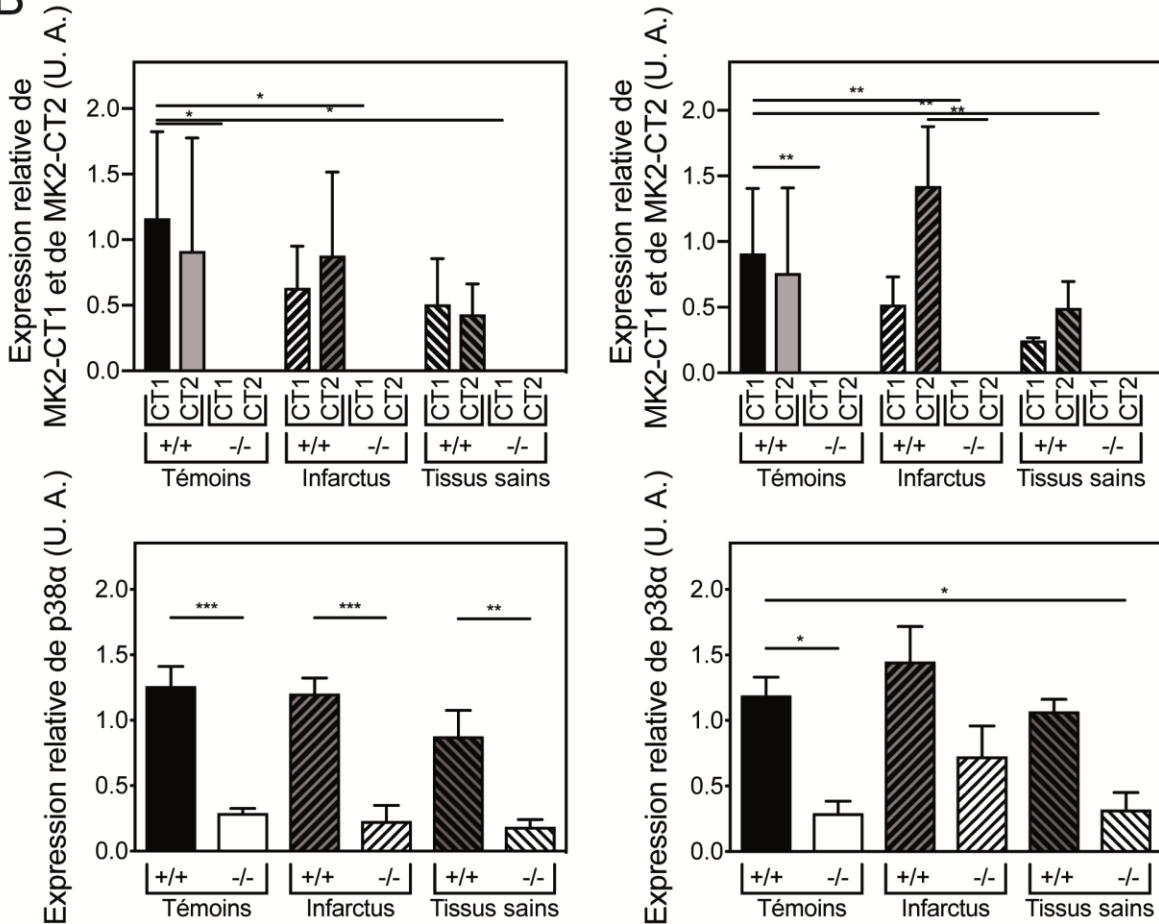
L'objectif de l'expérience était de déterminer comment l'absence de MK2 affecte le processus de la réponse inflammatoire après un IM à l'aide d'un modèle de souris où MK2 a été éliminée. Les souris MK2<sup>-/-</sup> utilisées expriment une protéine MK2 tronquée au site actif grâce à l'insertion d'une cassette *neo* (196). Cette coupure cause une dégradation rapide du segment de la protéine traduit (196). La Figure 4A (p. 67) confirme que les deux variants d'épissage de MK2, MK2-CT1 et MK2-CT2, seraient totalement absents du VG des souris MK2<sup>-/-</sup> contrairement aux souris MK2<sup>+/+</sup> pour toutes les conditions. En effet, aucune bande correspondant à MK2 n'est visible dans les colonnes correspondant aux tissus provenant de souris MK2<sup>-/-</sup> à 47 kDa pour MK2-CT2 et à 49 kDa pour MK2-CT1 (Figure 4A, p. 67).



A



B



**Figure 4. La protéine MK2 est absente chez les souris MK2<sup>-/-</sup> et cela entraîne une diminution significative de l'expression de la protéine p38α.** (A) L'immunoréactivité de la protéine MK2 est absente du lysat des cœurs MK2<sup>-/-</sup> (25 µg/colonne), alors que les bandes correspondant aux deux variants d'épissage à 47 kDa et 49 kDa sont présentes dans le lysat des cœurs MK2<sup>+/+</sup>. La bande correspondant à protéine p38α est située à 38 kDa et diminue en intensité chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Les valeurs des masses moléculaires (kDa) sont indiquées à la droite de l'image et les noms des protéines sont indiqués à la gauche. (B) L'intensité relative de MK2-CT1, MK2-CT2 et p38α ont d'abord été normalisées aux bandes de GAPDH respectives, puis chacun des groupes a été normalisé au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> à 3 jours post-IM et à 5 jours post-IM. Les données sont présentées en tant que moyenne ± erreur-type. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (\* : P < 0,05; \*\* : P < 0,01; \*\*\* : P < 0,001; n = 3).

La Figure 4B (p. 67) appuie le fait que l'expression relative de MK2-CT1 est totalement absente chez les souris MK2<sup>-/-</sup> puisqu'elle est significativement plus basse comparativement au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> à 3 jours post-MI (groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> : 1,16 ± 0,38 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 0,63 ± 0,18 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 0,51 ± 0,20 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; n = 3, P < 0,05) ainsi qu'à 5 jours post-MI (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 0,91 ± 0,29 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 0,52 ± 0,12 U. A. MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 0,25 ± 0,01 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; n = 3, P < 0,01). L'expression de MK2-CT1 était plus variable dans les souris MK2<sup>+/+</sup> ayant subi l'infarctus et semble être plus faible à 5 jours après l'IM ce qui expliquerait pourquoi il n'y a pas de différence significative entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> dans les groupes de l'infarctus et des tissus sains.

L'expression du variant d'épissage MK2-CT2 était plus instable que celle de MK2-CT1 dans tous les groupes, donc la différence d'intensité des bandes n'était pas significative à 3 jours post-IM (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 0,91 ± 0,50 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; infarctus : 0,88 ± 0,37 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 0,43 ± 0,13 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; n = 3, P > 0,05) (Figure 4B, p. 67). À 5 jours post-IM, MK2-CT2 est exprimé de façon significativement plus élevée dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport aux souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 0,76 ± 0,37 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A., P > 0,01; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,42 ± 0,26 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A.; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 0,49 ± 0,12 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,00 ± 0,00 U. A., P > 0,05; n = 3). La bande de MK2-CT2 est d'une intensité importante, mais l'expression est très variable dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> 5 jours après l'IM par rapport aux autres groupes.

Ces résultats démontrent l'efficacité de l'insertion de la cassette du gène *neo* dans l'exon qui exprime les sous domaines V et VI de la protéine MK2 afin de supprimer l'expression de MK2. En effet, les bandes correspondant aux deux variants d'épissage de MK2 sont totalement absentes dans tous les échantillons correspondant

aux souris MK2<sup>-/-</sup>. Cette absence de bandes indique que la petite portion du gène traduite en protéine serait probablement dégradée très rapidement tel que décrit dans la documentation et que les souris MK2<sup>-/-</sup> de ce projet n'ont aucune activité associée à MK2 (196).

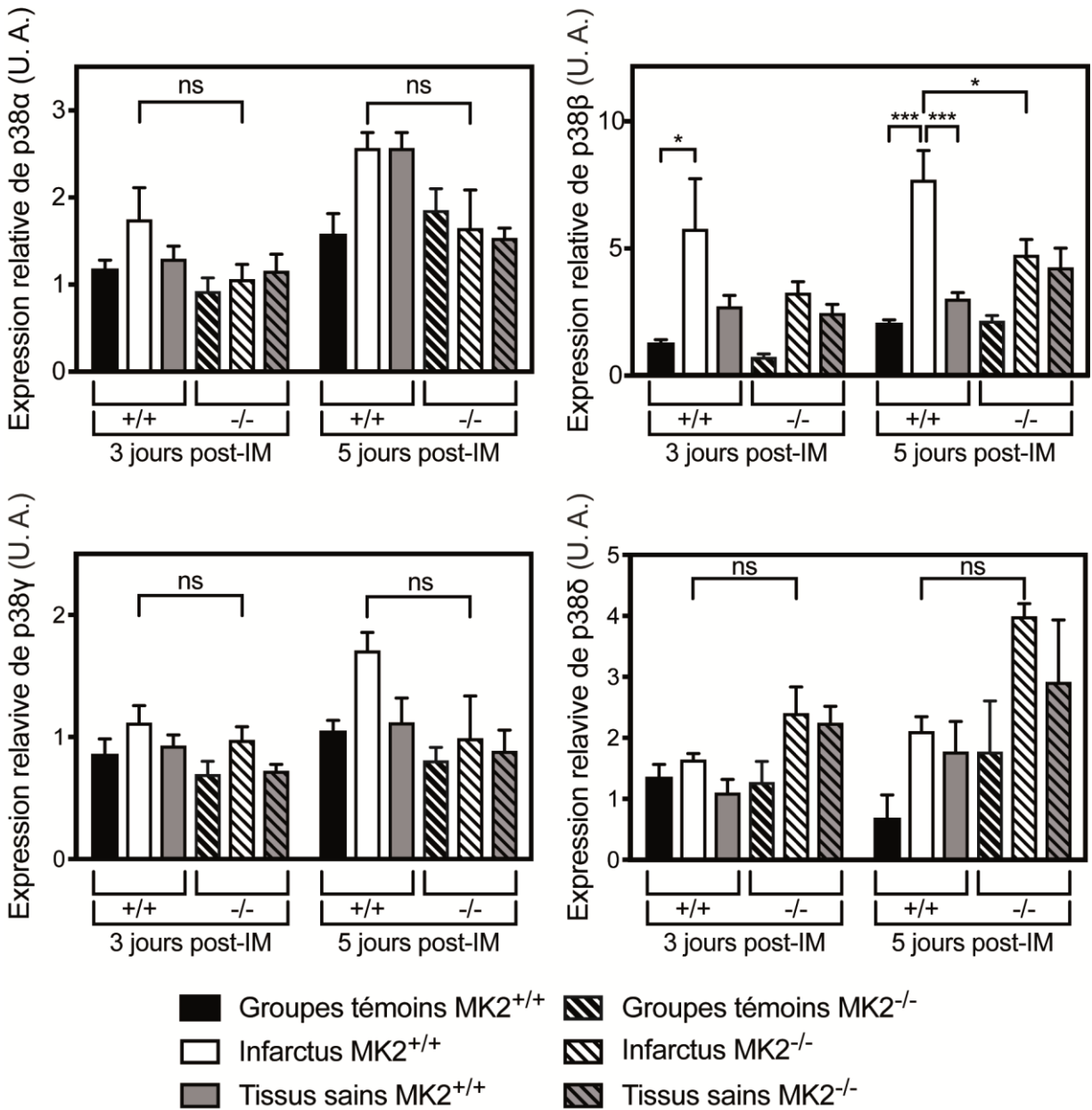
De plus, il est aussi possible d'observer sur la Figure 4A (p. 67) que l'intensité de la bande correspondant à p38 $\alpha$  située à 38 kDa diminue dans tous les échantillons provenant des souris MK2<sup>-/-</sup>. Cette diminution de la protéine est observable autant à 3 jours après l'IM qu'à 5 jours après l'IM. Sur la Figure 4B (p. 67), l'expression relative de p38 $\alpha$  en l'absence de MK2 est diminuée significativement à 3 jours post-MI (groupes témoins : MK2<sup>+/+</sup> : 1,26  $\pm$  0,15 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,29  $\pm$  0,04 U. A.;  $P < 0,001$ ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,20  $\pm$  0,12 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,23  $\pm$  0,12 U. A.,  $P < 0,001$ ; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 0,88  $\pm$  0,11 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,23  $\pm$  0,12 U. A.,  $P < 0,01$ ;  $n = 3$ ). À 5 jours après l'IM, l'expression relative de p38 $\alpha$  est significativement diminuée dans le groupe témoin et les tissus sains MK2<sup>-/-</sup> lorsqu'elle est comparée au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> ( $P < 0,05$ ). Par contre, la bande correspondant à p38 $\alpha$  dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> n'est pas diminuée de façon significative par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup> (groupes témoins : MK2<sup>+/+</sup> : 1,19  $\pm$  0,14 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,29  $\pm$  0,09 U. A.,  $P < 0,05$ ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,45  $\pm$  0,27 U. A., MK2<sup>-/-</sup> : 0,73  $\pm$  0,23 U. A.,  $P > 0,05$ ; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 1,07  $\pm$  0,05, MK2<sup>-/-</sup> : 0,32  $\pm$  0,08,  $P < 0,05$ ;  $n = 3$ ). Cela pourrait indiquer que l'expression de p38 $\alpha$  augmenterait légèrement dans les tissus de l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> malgré l'absence de MK2 pour stabiliser p38 $\alpha$  à 5 jours après l'IM. Il serait possible qu'à ce moment dans le processus de guérison, qu'un nouveau joueur vienne interagir avec p38 $\alpha$  puisque plus de 60 cibles sont associées à cette kinase.

La diminution de p38 $\alpha$  en l'absence de MK2 correspond à ce qui a été rapporté précédemment dans la documentation scientifique (100). En effet, en l'absence de MK2, p38 $\alpha$  est moins stable et la protéine est dégradée plus rapidement par le protéasome (100). Les variants d'épissage MK2-CT1 et MK2-CT2 sont donc complètement absents chez les souris MK2<sup>-/-</sup>; l'isoforme p38 $\alpha$  est moins abondant dans

ce modèle de souris, mais semble augmenter légèrement 5 jours après l'induction de IM, puisque la différence significative avec l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> est perdue à ce stade.

## **Expression de l'ARN des isoformes de p38MAPK dans le VG des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>**

MK2 est une kinase qui est activée par p38 $\alpha$  lorsqu'il y a un signal extracellulaire et peut aussi être activée par l'isoforme p38 $\beta$  (76, 78, 82, 100). Les deux autres isoformes de p38MAPK sont p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  (72, 85, 87, 90, 92). Contrairement au premier groupe, ces protéines kinases sont exprimées spécifiquement dans certains tissus (87, 90, 92). Il est déjà établi que l'absence de MK2 diminue l'expression de l'isoforme p38 $\alpha$  au niveau protéique et non au niveau de l'ARNm (100). Étant donné que les 4 isoformes jouent des rôles similaires, il était important de voir si l'absence de MK2 pouvait avoir une incidence sur leur expression dans le contexte d'un IM.



**Figure 5. Seule l'expression de l'ARNm de p38β augmente significativement dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> 5 jours post-IM, mais pas dans celui des souris MK2<sup>-/-</sup>.** Les transcrits des isoformes p38α, p38β, p38γ et p38δ isolés du LV de souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ont été quantifiés par qPCR. Les valeurs de chacun des transcrits ont été normalisées avec un échantillon externe utilisé pour chacune des expériences. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (\* : P < 0,05; \*\*\* : P < 0,001; n = 3 à 6).

## **L'expression de l'ARNm de p38 $\alpha$ ne change pas significativement selon le génotype ni selon l'induction d'un IM**

L'augmentation de p38 $\alpha$  n'est pas significative dans aucun des groupes à 3 jours après l'IM (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 1,18  $\pm$  0,10 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 0,93  $\pm$  0,15 U. A., n = 3,  $P > 0,05$ ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,75  $\pm$  0,36 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 1,06  $\pm$  0,17 U. A., n = 4,  $P > 0,05$ ; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 1,30  $\pm$  0,14 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 1,16  $\pm$  0,19 U. A., n = 4,  $P > 0,05$ ) ni à 5 jours après l'IM (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 1,58  $\pm$  0,23 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 1,86  $\pm$  0,24 U. A., n = 3;  $P > 0,05$ ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 2,57  $\pm$  0,18 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 1,65  $\pm$  0,44 U. A., n = 4,  $P > 0,05$ ; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 2,57  $\pm$  0,18 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 1,54  $\pm$  0,11 U. A., n = 3,  $P > 0,05$ ). Cette absence de différence d'expression au niveau de l'ARNm de p38 $\alpha$  entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> confirme que l'abondance de p38 $\alpha$  est régulée au niveau protéique par la présence de MK2, tel que décrit dans la documentation scientifique et est illustré sur la Figure 5 (p. 71) (76, 78, 82, 100).

## **L'expression de l'ARNm de p38 $\beta$ augmente significativement dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> à 5 jours post-IM seulement**

L'expression de l'ARNm de l'isoforme p38 $\beta$  augmente de façon significative dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport à leur groupe témoin 3 jours post-IM (groupe témoin : 1,31  $\pm$  0,11, n = 4; infarctus : 5,77  $\pm$  1,97 U. A., n = 3,  $P < 0,05$ ; tissus sains : 2,72  $\pm$  0,43 U. A., n = 3,  $P < 0,05$ ), mais pas chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 0,74  $\pm$  0,11 U. A., n = 3; infarctus : 3,27  $\pm$  0,43 U. A., n = 4; tissus sains : 2,46  $\pm$  0,34 U. A., n = 4). C'est 5 jours après l'IM qu'une augmentation significative de l'expression l'ARNm de p38 $\beta$  peut être observée dans les tissus de l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 2,08  $\pm$  0,12 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 2,17  $\pm$  0,20 U. A., n = 3,  $P > 0,05$ ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 7,70  $\pm$  1,15 U. A., n = 6; MK2<sup>-/-</sup> : 4,75  $\pm$  0,61 U. A., n = 4;  $P < 0,05$ ; tissus sains : MK2<sup>+/+</sup> : 3,03  $\pm$  0,24 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 4,25  $\pm$  0,77 U. A., n = 4,  $P > 0,05$ ). Plus l'IM évolue dans le temps vers la fin de la phase inflammatoire, plus l'expression de l'ARNm p38 $\beta$  augmente dans les tissus de l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>, mais cette

augmentation de l'abondance de l'ARNm p38 $\beta$  n'a pas lieu en l'absence de MK2 (Figure 5, p. 71).

### **L'expression de l'ARNm de p38 $\gamma$ et de p38 $\delta$ ne change pas significativement selon le génotype ni selon l'induction d'un IM**

L'augmentation de l'ARNm de l'isoformes p38 $\gamma$  dans les tissus provenant de l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> à 5 jours post-IM n'est pas significative (3 jours : groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 0,86  $\pm$  0,12 U. A., n = 4 ; MK2<sup>-/-</sup> : 0,70  $\pm$  0,11 U. A., n = 4 ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,12  $\pm$  0,14 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 0,98  $\pm$  0,11 U. A., n = 4,  $P > 0,05$  ; 5 jours : groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 1,05  $\pm$  0,08 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 0,81  $\pm$  0,11 U. A., n = 5 ; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,71  $\pm$  0,15 U. A., n = 5; MK2<sup>-/-</sup> : 0,99  $\pm$  0,35 U. A., n = 3,  $P > 0,05$ ) (Figure 5, p. 71).

Pour les niveaux d'expression de l'ARNm du quatrième isoforme p38 $\delta$ , l'augmentation dans les tissus de l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> à 5 jours post-IM n'est pas significative (3 jours : groupe témoin : groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 1,36  $\pm$  0,20 U. A., n = 4; MK2<sup>-/-</sup> : 1,28  $\pm$  0,34 U. A., n = 4; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 1,64  $\pm$  0,10 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 2,40  $\pm$  0,43 U. A., n = 5,  $P > 0,05$  ; 5 jours : groupe témoin : MK2<sup>+/+</sup> : 0,69  $\pm$  0,37 U. A., n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : 1,78  $\pm$  0,83 U. A., n = 3; infarctus : MK2<sup>+/+</sup> : 2,11  $\pm$  0,24 U. A., n = 5; MK2<sup>-/-</sup> : 3,99  $\pm$  0,21 U. A., n = 3,  $P > 0,05$ ). L'augmentation de l'expression de p38 $\delta$  au niveau de l'ARNm n'est significative dans l'infarctus des souris où MK2 est absent 3 jours et 5 jours après l'IM, malgré les niveaux plus élevés que chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (Figure 5, p. 71).

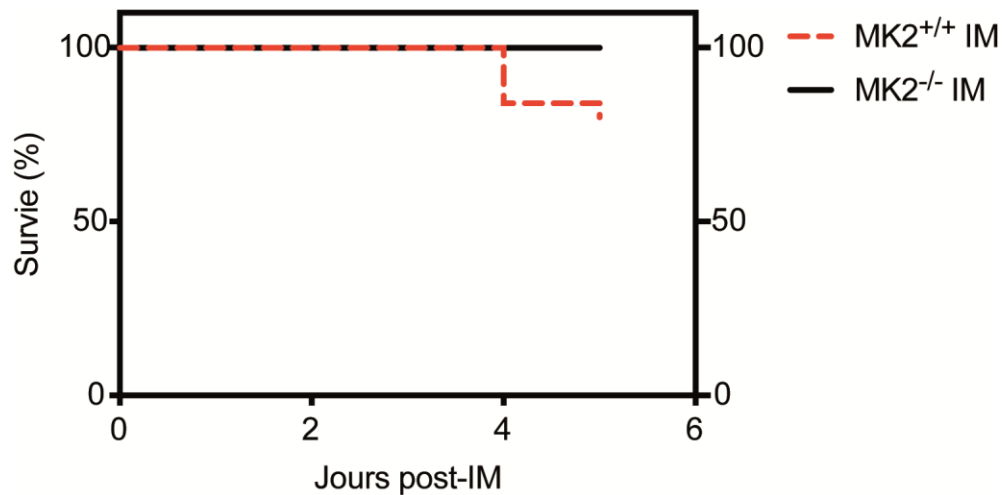
Ces résultats démontrent que seul l'ARNm de l'isoforme p38 $\beta$  augmente de façon significative autant 3 jours que 5 jours post-IM dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport au groupe témoin. De plus, l'augmentation de l'ARNm est significativement plus élevée par rapport aux souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM. Les légères augmentations de l'expression de l'ARNm à 5 jours après l'IM dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> pour les isoformes p38 $\alpha$  et p38 $\gamma$  ainsi que dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> pour l'isoforme p38 $\delta$ ne sont pas significatives dans aucun des cas.

## **Le taux de survie lors de la phase inflammatoire post-IM est amélioré chez les souris MK2<sup>-/-</sup>**

Le processus de guérison de l'IM est composé de trois phases : l'inflammation, la prolifération et la maturation (9, 11). La réponse inflammatoire est l'élément déclencheur de la fibrose réparatrice afin de compenser pour la perte des CM (9, 13, 112). Puisque MK2 est identifiée comme jouant un rôle dans la réponse inflammatoire, il était important d'établir si son absence sera nuisible au bon déroulement de la phase inflammatoire post-IM.

Sur la Figure 6 (p. 75), il est possible d'observer que toutes les souris ont survécu jusqu'au 3<sup>e</sup> jour après l'IM (MK2<sup>+/+</sup> : n = 47/47; MK2<sup>-/-</sup> : n = 41/41). C'est dans le groupe des souris devant être sacrifiées au 5<sup>e</sup> jour après l'IM qu'une différence entre les deux génotypes apparaît. Contrairement à notre hypothèse, aucune mortalité n'a eu lieu chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (les 20 souris ont survécu) dans les 5 jours suivant l'induction de l'IM, alors que le taux de survie se situe à 80,0 % (25/30 souris ont survécu) chez les souris MK2<sup>+/+</sup> 5 jours après l'IM (test de Mantel-Cox,  $P = 0,035$ ). Une seule souris MK2<sup>+/+</sup> a dû être sacrifiée au 4<sup>e</sup> jour suivant l'opération, car son niveau de détresse était trop important : respiration difficile, température corporelle basse et état faible. De plus, aucun décès n'a été comptabilisé dans les groupes témoins. De plus, un nombre similaire de souris n'a pas survécu à la première heure après la chirurgie (MK2<sup>+/+</sup> : n = 3; MK2<sup>-/-</sup> : n = 2). Ces dernières ont été exclues de l'analyse statistique. Un examen post-mortem a permis de déterminer que le décès des souris MK2<sup>+/+</sup> était dû à une rupture du myocarde dans tous les cas. Le diagnostic a pu être posé, car il y avait la présence caractéristique de sang coagulé dans la cage thoracique (71).





**Figure 6. L'absence de MK2 améliore le taux de survie lors de la phase inflammatoire post-IM.** 100 % des souris MK2<sup>-/-</sup> et 80 % des souris MK2<sup>+/+</sup> ont survécu jusqu'au 5<sup>e</sup> jour après l'IM (P < 0,05). Courbe de survie Kaplan-Meier pour les souris MK2<sup>+/+</sup> (ligne pointillée rouge; 3 jours post-IM : n = 17, 5 jours post-IM : n = 30) et MK2<sup>-/-</sup> (ligne solide noire; 3 jours post-IM : n = 21, 5 jours post-IM : n = 20). L'analyse statistique a été faite avec le test Mandel-Cox.

Ces résultats démontrent que l'inactivation de MK2 protégerait contre la rupture cardiaque au cours des premiers jours après l'IM. En effet, toutes les souris MK2<sup>-/-</sup> ont survécu aux 5 jours suivants la chirurgie. Il a été démontré par l'équipe de Molkenin que l'inactivation spécifique de p38 $\alpha$  dans les CF de souris entraîne invariablement le décès de celles-ci après un IM (17). Dans notre étude, un effet protecteur contre la rupture cardiaque est observé lorsque c'est MK2 qui est inactivé dans l'organisme entier des souris. Cette différence diamétralement opposée entre les deux études met en évidence le rôle crucial que joue l'isoforme p38 $\alpha$  dans la phase inflammatoire post-IM. De plus, il est déjà établi que la rupture du cœur est la cause principale de décès au cours de la première semaine après un infarctus ce qui correspond à la durée de la période de la phase inflammatoire (54). Une étude sur une période plus prolongée permettrait de déterminer si cet effet protecteur s'étend aux autres phases de guérison.

### **Évaluation des structures et des fonctions cardiaques du LV et du RV par échocardiographie des souris MK2<sup>+/+</sup> et des souris MK2<sup>-/-</sup> 3 et 5 jours post-IM.**

Afin d'établir comment la structure et les fonctions du cœur des souris MK2<sup>-/-</sup> allaient être affectés par l'induction d'un IM, une échocardiographie a été faite juste

avant le sacrifice. Ceci a permis de valider l'efficacité de la chirurgie en plus de pouvoir visualiser s'il y avait une différence de progression de la cardiomyopathie entre les groupes à 3 et 5 jours post-IM.

## **L'absence de MK2 améliore la conservation de la structure du VG à 5 jours post-IM**

L'évaluation des structures et des fonctions cardiaques par échocardiographie 3 jours après la chirurgie n'a pas révélé de différences significatives entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> (Tableau 3, p. i). Par contre, 5 jours post-IM, il est possible d'observer que la structure du VG des souris MK2<sup>-/-</sup> est mieux conservée par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup>, mais aucune différence significative a pu être détectée entre les deux génotypes pour ce qui est des fonctions cardiaques (Tableau 3, p. i).

Le VG commence à se dilater dès 3 jours après l'IM chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, mais, 5 jours post-IM, cette dilatation est plus flagrante chez les souris MK2<sup>+/+</sup>. En effet, le LVD<sub>s</sub> (MK2<sup>+/+</sup> : 4,14 ± 0,17 mm, n = 23; MK2<sup>-/-</sup> : 3,51 ± 0,12 mm, n = 19;  $P < 0,01$ ) et le LVD<sub>d</sub> (MK2<sup>+/+</sup> : 5,00 ± 0,12 mm, n = 23; MK2<sup>-/-</sup> : 4,50 ± 0,08 mm, n = 19;  $P < 0,001$ ) sont significativement plus petits chez les souris MK2<sup>-/-</sup> par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup>. Il en est de même pour le LVV<sub>s</sub> (MK2<sup>+/+</sup> : 0,194 ± 0,024 µL, n = 23; MK2<sup>-/-</sup> : 0,116 ± 0,010 µL, n = 19;  $P < 0,01$ ) et le LVV<sub>d</sub> (MK2<sup>+/+</sup> : 0,311 ± 0,021 µL, n = 23; MK2<sup>-/-</sup> : 0,227 ± 0,011 µL, n = 19;  $P < 0,001$ ) qui sont significativement plus petits 5 jours post-IM chez les MK2<sup>-/-</sup>. C'est environ après 5 jours post-IM que l'hypertrophie commence à s'établir, puisque c'est à ce stade que le ratio masse du VG/masse corporelle devient significativement plus élevé (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 3,83 ± 0,09 mg/g, n = 20; groupe LADL : 5,50 ± 0,28 mg/g, n = 23;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 3,63 ± 0,12 mg/g, n = 17; groupe LADL : 5,18 ± 0,23 mg/g, n = 19;  $P < 0,0001$ ). La paroi antérieure ne semble pas être la zone affectée puisque les valeurs du LVAW<sub>d</sub> ne sont pas altérées significativement. De plus, seules les souris MK2<sup>-/-</sup> ont un LVPW<sub>d</sub> significativement plus élevé comparativement à leur groupe témoin (groupe témoin : 6,88 ± 0,015 mm, n = 17; groupe LADL : 0,799 ± 0,028 mm, n = 19;  $P < 0,01$ ) (Tableau 3, p. i).

Pour ce qui est des fonctions systoliques, la LVFS est diminuée de façon significative dès 3 jours post-IM autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 33,8 ± 1,5 %, n = 17; groupe LADL : 19,8 ± 2,1 %, n = 16;  $P < 0,0001$ ) que chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 35,6 ± 1,8 %, n = 19; groupe LADL : 19,8 ± 1,5 %, n = 20;  $P < 0,0001$ ). Puis, 5 jours post-IM, la diminution du LVFS chez les MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 34,0 ± 1,3 %, n = 20; groupe LADL : 17,7 ± 1,7 %, n = 23;  $P < 0,0001$ ) n'est pas significative par rapport aux MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 34,4 ± 2,1, n = 17; groupe LADL : 22,2 ± 1,9, n = 19;  $P < 0,001$ ). De façon similaire, la LVEF diminue significativement 3 jours post-IM pour les deux génotypes (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 68,9 ± 1,9 %, n = 17; groupe LADL : 45,4 ± 3,9 %, n = 16;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 70,8 ± 2,4 %, n = 19; groupe LADL : 46,0 ± 2,9 %, n = 20;  $P < 0,0001$ ) et la diminution à 5 jours post-MI chez les MK2<sup>+/+</sup> n'est pas significative comparativement aux souris MK2<sup>-/-</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 69,3 ± 1,6 %, n = 19; groupe LADL : 41,1 ± 3,5 %, n = 20;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 69,1 ± 2,8 %, n = 23; groupe LADL : 49,7 ± 3,2 %, n = 19;  $P < 0,01$ ). Le SV, le CO ainsi que le S<sub>m</sub> latéral et septal sont tous significativement diminués dans les deux groupes 5 jours post-IM. Un score de WMSI de 1 représente une contractilité et un mouvement du VG qui est intact (58); plus le score se rapproche de 2, plus les fonctions cardiaques sont affectées, la paroi entre en hypokinésie (58). Le WMSI mesuré dans les différents groupes est significativement augmenté près du score 2 autant 3 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 1,01 ± 0,01, n = 17; groupe LADL : 1,96 ± 0,11, n = 16;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 1,02 ± 0,02, n = 19; groupe LADL : 1,75 ± 0,08, n = 20;  $P < 0,0001$ ) que 5 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 1,02 ± 0,02, n = 20; groupe LADL : 1,88 ± 0,10, n = 23;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 1,02 ± 0,02, n = 23; groupe LADL : 1,80 ± 0,08, n = 19;  $P < 0,0001$ ). Les fonctions systoliques sont donc significativement diminuées dans les deux groupes et la paroi du VG est en hypokinésie.

Les différents paramètres des fonctions diastoliques du VG commencent à être altérés surtout vers les 5 jours post-IM. En effet, au niveau du flux trans-mitral, les effets

nuisibles commencent à apparaître au 3<sup>e</sup> jour après l'IM pour les valeurs du A, et du A<sub>m</sub> latéral et septal. Par contre, la vélocité E ainsi que l'E<sub>m</sub> latéral et septal, sont tous diminués de façon significative dans les deux groupes au 5<sup>e</sup> jour après l'IM. Seules les souris MK2<sup>-/-</sup> ont un E/A significativement plus élevé autant au 3<sup>e</sup> qu'au 5<sup>e</sup> jour post-IM. Par contre, l'EDT, le taux ED et les autres ratios n'ont pas été affectés de façon significative dans aucun des cas. La vitesse du flux au niveau trans-mitral tend à être plus affectée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> ( $p > 0,05$ ), ce qui pourrait altérer le remplissage adéquat du VG lors de la diastole. La même tendance peut être observée pour le flux veineux pulmonaire, malgré le fait que les souris MK2<sup>+/+</sup> sont affectées plus tôt après l'IM : 5 jours après l'IM, le D supérieur est diminué significativement chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. Par contre, les valeurs du D et du S/D inférieur sont significativement altérés seulement chez les souris MK2<sup>+/+</sup>. Chez les souris MK2<sup>-/-</sup> c'est le S supérieur qui diminue significativement, alors que le D supérieur et le S inférieur sont significativement plus bas comparativement aux souris MK2<sup>+/+</sup>. Plus de paramètres sont significativement affectés chez les souris MK2<sup>-/-</sup> sont affectées au niveau du flux veineux pulmonaire et au flux trans-mitral comparativement aux souris MK2<sup>+/+</sup>. L'IVRT et l'IVRTc ne sont pas affectés de façon significative pour aucun des génotypes. Il y a donc clairement une tendance vers une dégradation des fonctions diastoliques autant pour les souris MK2<sup>+/+</sup> que les souris MK2<sup>-/-</sup>, mais l'état n'est pas encore assez avancé pour être significatif. Il est difficile de prédire avec certitude comment cette dégradation évoluera au cours des prochaines phases.

La structure de l'oreillette gauche est affectée significativement par l'induction de l'IM. En effet, une augmentation du diamètre est déjà visible 3 jours post-IM, mais est encore plus évidente 5 jours après l'IM. Le LAD<sub>s</sub> au 5<sup>e</sup> jour après l'IM tend à être légèrement plus élargi chez les souris MK2<sup>+/+</sup> comparativement aux souris MK2<sup>-/-</sup>, mais ce n'est pas significatif (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin :  $2,17 \pm 0,06$  mm,  $n = 20$ ; groupe LADL :  $2,64 \pm 0,08$  mm,  $n = 23$ ;  $P < 0,001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin :  $2,07 \pm 0,06$  mm,  $n = 23$ ; groupe LADL :  $2,21 \pm 0,06$  mm,  $n = 19$ ;  $P < 0,0001$ ). Cette tendance n'a pas lieu pour ce qui est du LAD<sub>d</sub> (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin :  $1,73 \pm 0,05$  mm,  $n = 20$ ; groupe LADL :  $2,32 \pm 0,09$  mm,  $n = 23$ ;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin :  $1,69 \pm 0,06$  mm,

n = 23; groupe LADL :  $2,33 \pm 0,10$  mm, n = 19;  $P < 0,0001$ ) et du LAFS (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin :  $20,2 \pm 1,3$  %, n = 20; groupe LADL :  $12,4 \pm 1,2$  mm, n = 23;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin :  $18,2 \pm 1,3$  mm, n = 23; groupe LADL :  $12,6 \pm 1,0$  mm, n = 19;  $P < 0,05$ ). Cela confirme qu'il y a un élargissement de l'oreillette gauche autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que MK2<sup>-/-</sup>. Cet élargissement est probablement dû à la diminution des fonctions du ventricule gauche qui entraîne une surcompensation par l'oreillette.

Finalement, le MPI, un index servant à incorporer les fonctions systoliques et diastoliques du ventricule en un score, commence déjà à augmenter de façon significative dès 3 jours post-IM. L'augmentation du score est très similaire entre les deux groupes de génotypes ce qui reflète une dégradation des fonctions autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que MK2<sup>-/-</sup>. En effet, les scores du MPI global augmentent significativement pour les deux génotypes 3 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin :  $45,2 \pm 2,6$ , n = 17; groupe LADL :  $73,4 \pm 6,5$ , n = 15,  $P < 0,001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin :  $46,2 \pm 2,4$ , n = 19; groupe LADL :  $67,7 \pm 5,6$ , n = 20,  $P < 0,01$ ) et 5 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin :  $43,0 \pm 2,8$ , n = 19; groupe LADL :  $67,0 \pm 4,4$ , n = 23,  $P < 0,001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin :  $43,9 \pm 3,0$ , n = 17; groupe LADL :  $77,1 \pm 5,4$ , n = 19,  $P < 0,0001$ ).

Selon ces résultats, il semblerait que MK2 aide à conserver la structure du VG, mais n'a pas d'effets positifs ou négatifs sur la dégradation des fonctions à ce stade. Il reste à voir si cet effet protecteur est maintenu sur une plus grande période de temps et si cela pourrait éventuellement avoir un effet bénéfique sur les fonctions du VG.

## **L'absence de MK2 n'altère pas les effets de l'IM sur le VD**

La structure et les fonctions du VD ont aussi été évaluées à 3 jours après l'IM et à 5 jours après l'IM et, malgré le fait que l'IM ait eu moins d'effets sur ces paramètres, quelques éléments ont été affectés de façon significative (Tableau 4, v).

Tout d'abord, la structure du VG au niveau du RVAW<sub>d</sub> et du RVD<sub>d</sub> n'a pas été affectée de façon significative autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que MK2<sup>-/-</sup> au 3<sup>e</sup> et au 5<sup>e</sup>

jour après l'IM. Par contre, le TAPSE, un paramètre qui corrèle fortement avec le RVEF, est significativement diminué dans les deux groupes 3 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 1,21 ± 0,04 mm, n = 17; groupe LADL : 1,04 ± 0,04 mm, n = 15;  $P < 0,05$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 1,25 ± 0,03 mm, n = 19; groupe LADL : 1,06 ± 0,03 mm, n = 19;  $P < 0,01$ ) et 5 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : groupe témoin : 1,33 ± 0,05 mm, n = 20; groupe LADL : 1,04 ± 0,05 mm, n = 20;  $P < 0,0001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : groupe témoin : 1,25 ± 0,04 mm, n = 17; groupe LADL : 1,01 ± 0,03 mm, n = 19;  $P < 0,01$ ) (198). Une diminution de TAPSE corrèle avec la dégradation des fonctions du VD (198).

Ceci est confirmé en étudiant les fonctions systoliques du VD. En effet, il est possible d'observer une diminution significative de la S<sub>R</sub> 5 jours post-IM chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 3,53 ± 0,21 cm/s, n = 20; groupe LADL : 2,48 ± 0,13 cm/s, n = 23;  $P < 0,0001$ ) et MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 3,11 ± 0,17 cm/s, n = 17; groupe LADL : 2,29 ± 0,10 cm/s, n = 19;  $P < 0,01$ ). La contractilité de la paroi latérale du VD est donc affectée par l'induction d'un IM de façon similaire pour les deux génotypes.

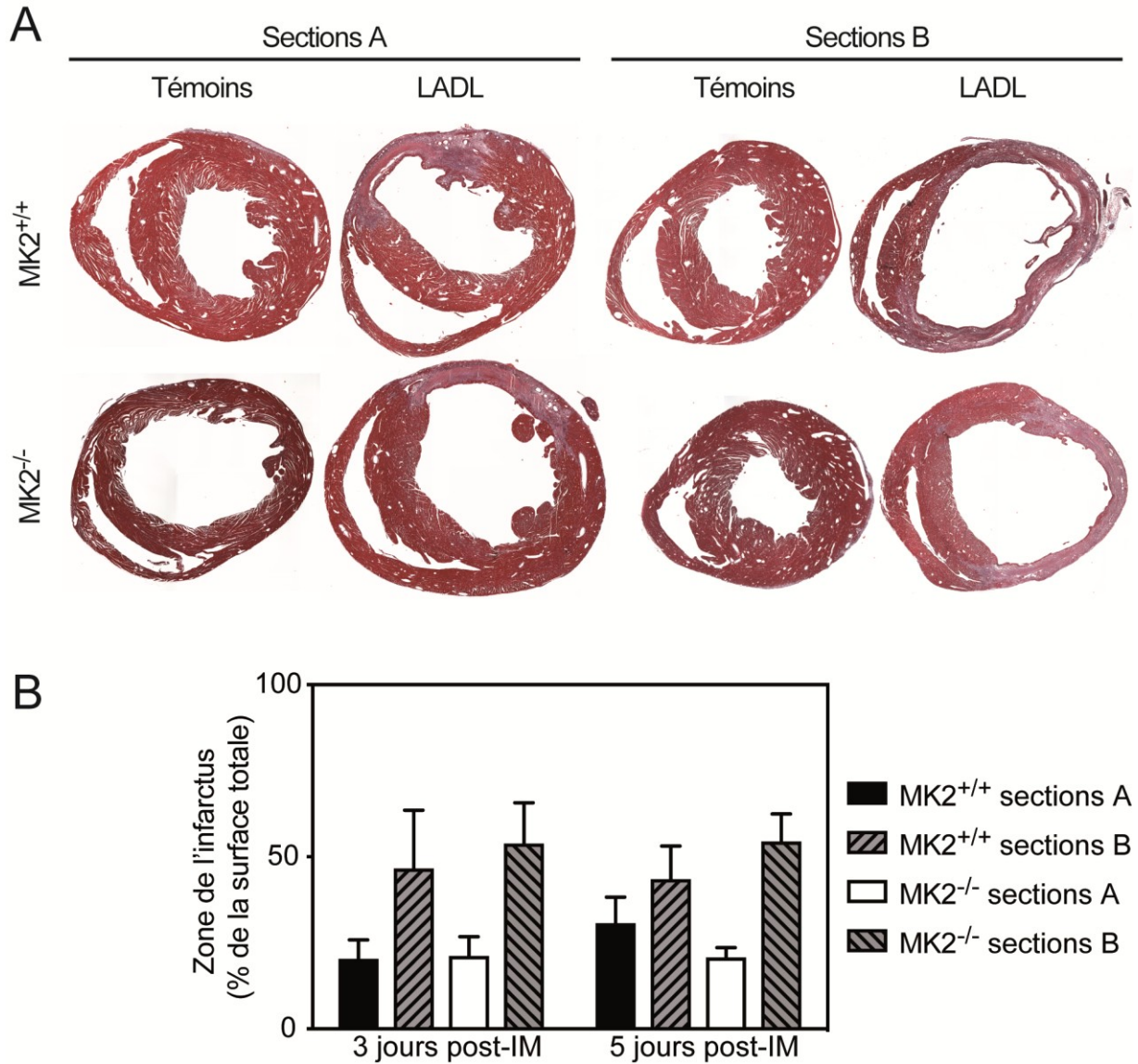
Quelques paramètres des fonctions diastoliques ont été altérés 5 jours après l'IM. Pour le flux trans-tricuspidé, l'E<sub>m</sub> latéral est significativement diminué seulement chez les souris MK2<sup>+/+</sup>, l'A<sub>m</sub> latéral ainsi que l'E/E<sub>m</sub> latéral sont significativement altérés chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. Le flux artériel pulmonaire est aussi affecté pour les deux génotypes puisque les valeurs de l'AT ainsi que de l'AT/RVET diminuent de façon significative 5 jours post-IM. Cela indique qu'il y a un début de perte des fonctions diastoliques chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>.

Le MPI global vient valider que le VD est affecté par l'IM, puisque le score augmente de façon significative 5 jours après l'IM chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 29,7 ± 3,0, n = 17; groupe LADL : 43,3 ± 3,2, n = 22;  $P < 0,05$ ) et MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 27,1 ± 2,1, n = 17; groupe LADL : 45,7 ± 3,5, n = 19;  $P < 0,001$ ). Il en est de même pour le MPI latéral MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 40,7 ± 1,8, n = 20; groupe LADL : 56,9 ± 1,8, n = 23;  $P < 0,0001$ ) et MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 41,0 ± 1,9, n = 17;

groupe LADL :  $58,8 \pm 2,8$ ,  $n = 19$ ;  $P < 0,0001$ ). Par contre, ni le  $TV_{co}$ , ni le RVET n'ont été affectés de façon significative.

En résumé, ces résultats valident que la chirurgie entraîne efficacement un infarctus puisqu'il est clair que la structure et les fonctions du cœur sont altérées significativement et de façon similaire à un infarctus classique. De plus, ces résultats indiquent que l'absence de MK2 aurait un effet protecteur sur la structure du ventricule gauche 5 jours post-MI, mais il est encore trop tôt pour déterminer si cet effet perdure au cours des autres phases de guérison post-IM. L'absence de MK2 semble également ne pas avoir d'effets positifs ou négatifs sur les fonctions du myocarde puisqu'aucune différence significative n'a été mesurée entre les souris  $MK2^{+/+}$  et  $MK2^{-/-}$ . Une étude effectuée sur une période de temps plus étendue permettrait de valider si une divergence entre les génotypes pouvait émerger dans les étapes subséquentes de la guérison post-MI.

## L'absence de MK2 n'altère pas la taille de l'infarctus



**Figure 7. L'absence de MK2 n'affecte pas taille de la zone de l'infarctus de façon significative à 3 et 5 jours post-IM.** (A) Coloration trichrome de Masson de sections transversales du cœur où le collagène est bleu et les tissus sains sont rouges. Les sections A proviennent de la partie du haut du cœur en allant vers les oreillettes, alors que les sections B proviennent de la partie s'approchant de l'apex. (B) Pourcentage de la zone de l'infarctus comparée à la surface totale du cœur ( $P > 0,05$ ). L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey ( $n = 6$  à  $8$ ).

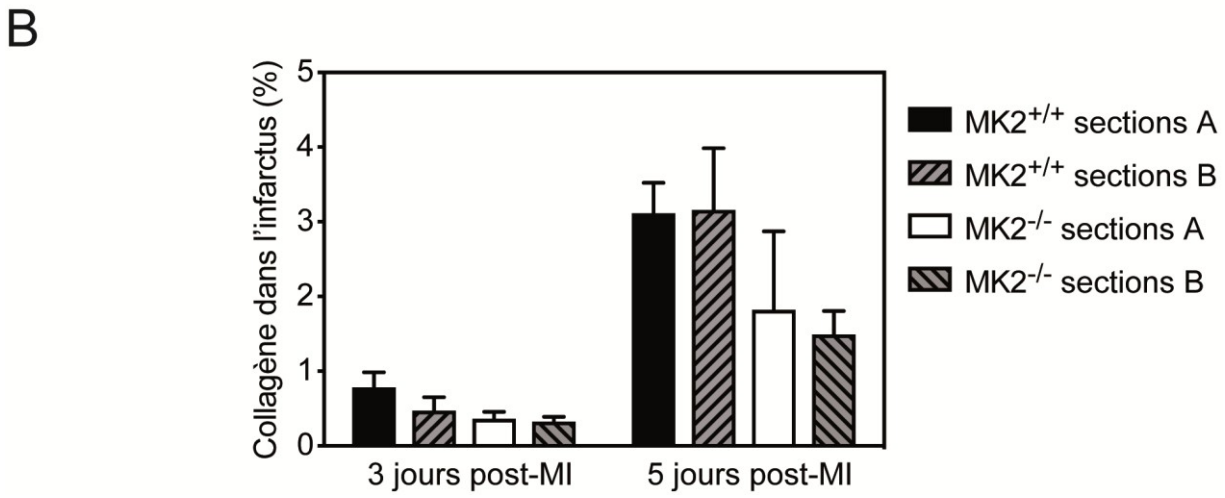
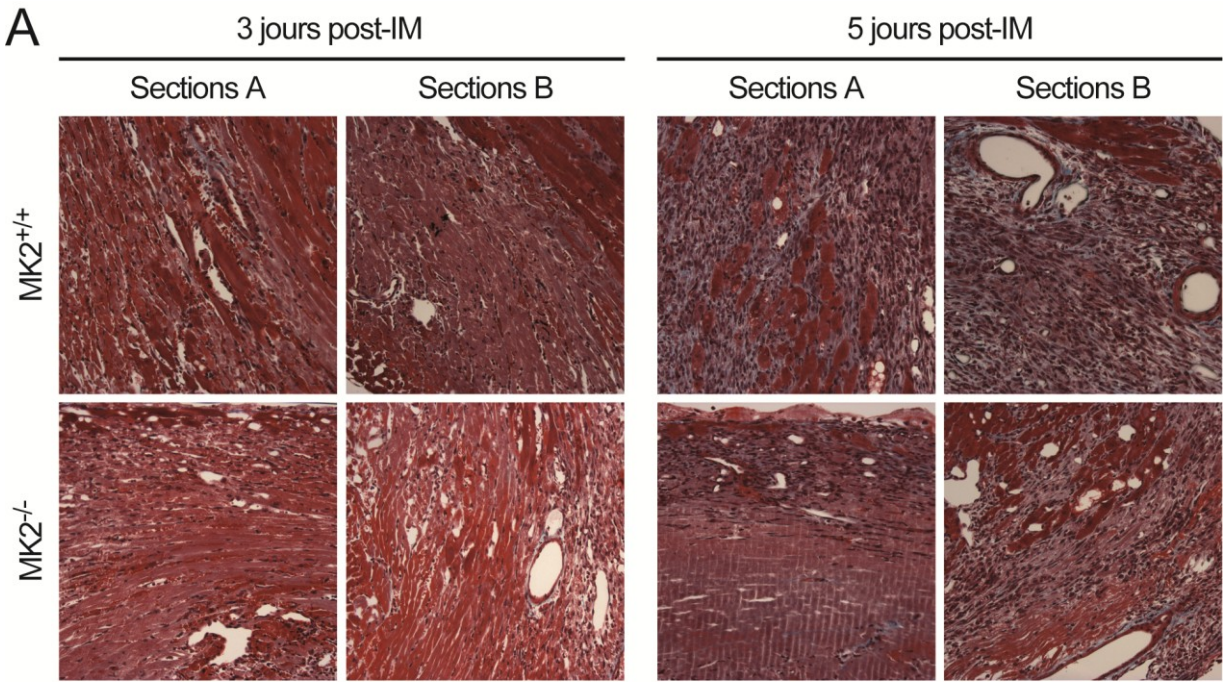


Des sections colorées au trichrome de Masson ont été analysées afin de comparer le pourcentage de surface affectée par l'infarctus entre les groupes de souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> (Figure 7A, p. 82). La différence du pourcentage de la zone affectée n'est pas significative autant 3 jours après l'IM (MK2<sup>+/+</sup> : 20,3 ± 5,6 %, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 21,2 ± 5,6 %, n = 7; *P* > 0,05) que 5 jours après l'IM (MK2<sup>+/+</sup> : 30,7 ± 7,6 %, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 20,8 ± 2,8, n = 8; *P* > 0,05) pour les sections A (Figure 7B, p. 82). Il semblerait que l'infarctus gagne en importance lorsqu'on s'approche de l'apex puisque les sections B ont un pourcentage de zone affectée plus élevé que les sections A 3 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : 46,6 ± 17,0 %, n = 6; MK2<sup>-/-</sup> : 53,9 ± 11,8 %, n = 7; *P* > 0,05) et 5 jours post-IM (MK2<sup>+/+</sup> : 43,6 ± 9,6 %, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 54,5 ± 8,0 %, n = 6; *P* > 0,05).

En résumé, l'absence de MK2 n'a donc pas d'incidence sur la taille de la zone affectée par l'infarctus lors de la phase inflammatoire puisqu'il n'y a pas de différence significative entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> 3 et 5 jours après l'IM.

## **L'absence de MK2 n'a pas d'incidence sur la composition de la zone de l'infarctus en collagène**

La guérison d'un infarctus implique la formation d'une cicatrice composée de collagène sécrété par les CF activés appelés MCF (9, 16). Par contre, si la fibrose est trop importante la flexibilité du ventricule est perdue ce qui entraîne plusieurs problèmes cardiaques tels que la dysfonction diastolique ou systolique, l'hypertrophie ventriculaire (2, 11, 30). À l'inverse, le manque de collagène peut entraîner la dilatation ou la rupture du ventricule (2, 11, 30). Nous voulions donc voir si l'absence de MK2 a un effet sur la production du collagène puisque l'équilibre entre sa production et sa dégradation pour maintenir la MEC est particulièrement important afin de conserver les fonctions et la structure du cœur.



**Figure 8. La composition en collagène dans l'infarctus évolue de façon similaire chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>.** (A) Coloration trichrome de Masson de sections transversales du cœur où le collagène est bleu et les tissus sains sont rouges. Les sections A proviennent de la partie du haut du cœur en allant vers les oreillettes, alors que les sections B proviennent de la partie s'approchant de l'apex. (B) Pourcentage du collagène comparé à la surface totale de la cicatrice. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (n = 7 à 8).

À 3 jours post-IM, le pourcentage de collagène détecté dans l'infarctus est très bas dans les sections A (MK2<sup>+/+</sup> : 0,79 ± 0,20 %, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 0,37 ± 0,09 %, n = 8) ainsi que dans les sections B (MK2<sup>+/+</sup> : 0,47 ± 0,18 %; MK2<sup>-/-</sup> : 0,33 ± 0,06 %, n = 8) (Figure 8, p. 84). Le pourcentage augmente 5 jours post-IM pour tous les groupes, mais la surface détectée entre les deux génotypes ne varie ni dans les sections A (MK2<sup>+/+</sup> : 3,11 ± 0,41, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 1,82 ± 1,05, n = 7) ni dans les sections B (MK2<sup>+/+</sup> : 3,16 ± 0,83, n = 8; MK2<sup>-/-</sup> : 1,49 ± 0,31, n = 7).

Il est possible de voir une augmentation de la présence de collagène entre le 3e jour post-IM et le 5e jour post-IM ce qui représente les débuts de la formation de la cicatrice. Il est encore trop tôt pour évaluer si cette absence de différence sera aussi présente dans la composition finale de la cicatrice en collagène, car sa formation n'est pas encore assez avancée pour être évaluée adéquatement.

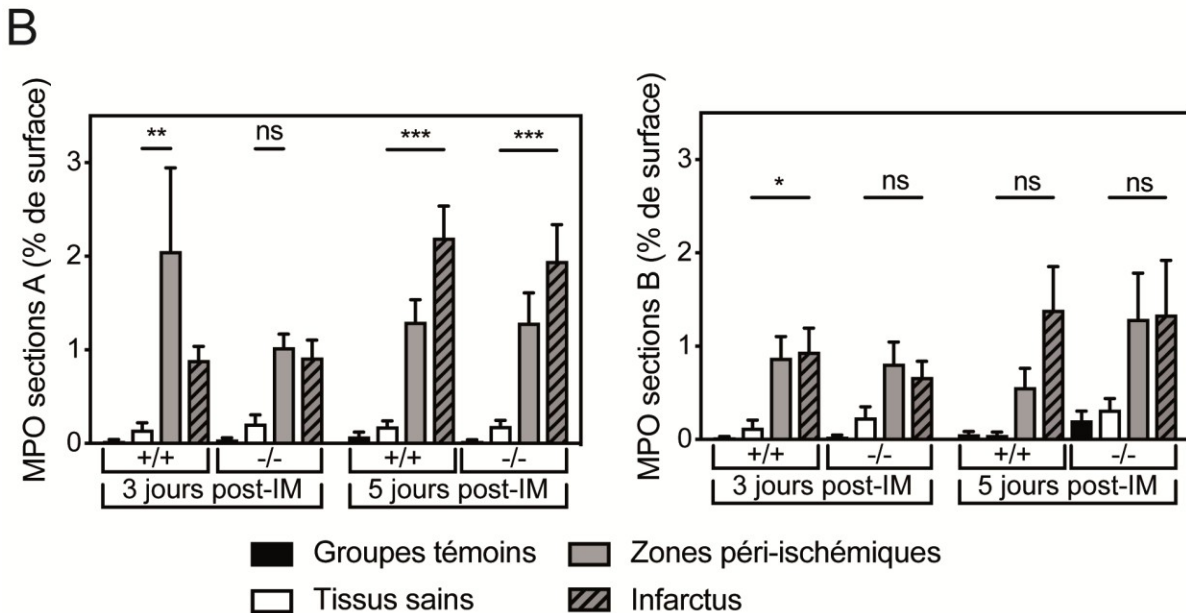
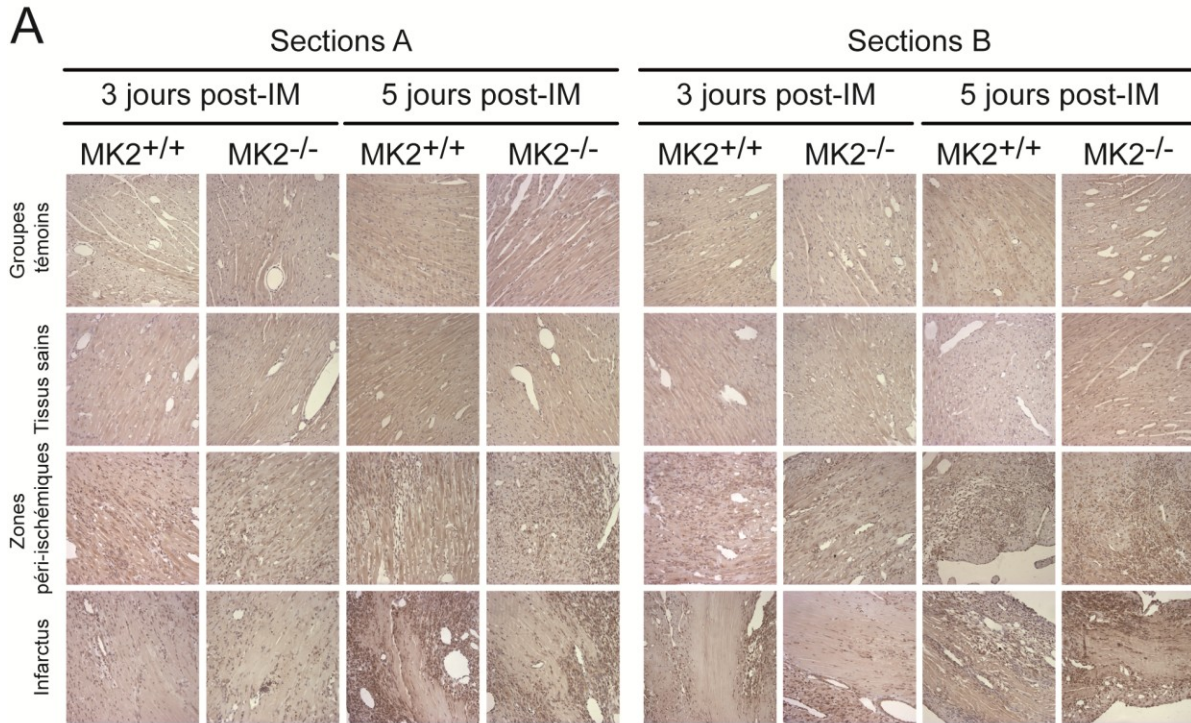
## **Infiltration des cellules inflammatoires**

Plusieurs cellules inflammatoires migrent dans la lésion après un IM afin de participer au nettoyage des débris cellulaires et matriciels tels que les neutrophiles et les macrophages (26). Différents anticorps ont été utilisés afin de déterminer si le recrutement des cellules inflammatoires post-IM est affecté par l'absence de MK2. MPO est une enzyme qui est exprimée principalement par les neutrophiles et plus faiblement par les monocytes (199). De plus, CD206 est un récepteur exprimé majoritairement par les macrophages, mais peut être présent à des niveaux plus bas chez les cellules dendritiques et par des certaines cellules lymphatiques ou endothéliales spécifiques (200). Donc, des anticorps ciblant l'enzyme MPO et le récepteur CD206 ont été utilisés afin de marquer principalement les neutrophiles et les macrophages respectivement. Ainsi, il est possible de comparer l'intensité du marquage immunohistologique selon les différents génotypes et les différentes conditions expérimentales pour détecter dans quelles régions du myocarde ces cellules inflammatoires sont présentes.

## **La présence des neutrophiles n'est pas affectée par l'absence de MK2**

L'évaluation par marquage avec l'anti-MPO a révélé que la présence des neutrophiles en périphérie de l'infarctus n'est pas affecté par l'absence de MK2

(Figure 9A et B, p. 87). Le pourcentage de surface marqué dans la zone péri-ischémique et dans l'infarctus est très similaire entre les deux génotypes. L'évaluation des sections A 3 jours après l'IM démontre que le pourcentage est significativement plus élevé dans la région péri-ischémique des sections A par rapport aux groupes témoins et aux tissus sains chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin :  $0,029 \pm 0,013$  %,  $n = 6$ ; tissus sains :  $0,146 \pm 0,073$  %,  $n = 6$ ; zone péri-ischémique :  $2,06 \pm 0,89$  %,  $n = 7$ ,  $P < 0,01$ ; infarctus :  $0,890 \pm 0,147$  %,  $n = 5$ ,  $P > 0,05$ ), mais pas chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin :  $0,042 \pm 0,019$  %,  $n = 8$ ; tissus sains :  $0,212 \pm 0,093$  %,  $n = 8$ ; zone péri-ischémique :  $1,03 \pm 0,14$  %,  $n = 8$ ,  $P > 0,05$ ; infarctus :  $0,916 \pm 0,188$  %,  $n = 8$ ). Dans les sections B récoltées 3 jours après l'IM, une légère augmentation du % de surface a lieu dans les zone péri-ischémiques et dans l'infarctus, mais n'est pas significative autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin :  $0,025 \pm 0,009$  %,  $n = 7$ ; tissus sains :  $0,126 \pm 0,084$  %,  $n = 6$ ; zone péri-ischémique :  $0,877 \pm 0,277$  %,  $n = 5$ ,  $P < 0,05$ ; infarctus :  $0,941 \pm 0,253$  %,  $n = 7$ ,  $P > 0,05$ ) que les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin :  $0,032 \pm 0,017$  %,  $n = 8$ ; tissus sains :  $0,237 \pm 0,115$  %,  $n = 8$ ; zone péri-ischémique :  $0,812 \pm 0,233$  %,  $n = 7$ ,  $P > 0,05$ ; infarctus :  $0,670 \pm 0,169$  %,  $n = 7$ ,  $P > 0,05$ ).



**Figure 9. L'absence de MK2 n'altère pas la présence des neutrophiles dans les zones péri-ischémiques et dans l'infarctus à 3 et 5 jours après l'IM.** (A) Marquage des neutrophiles sur des sections transversales du cœur où le MPO est brun foncé et le reste des tissus est beige. Les sections A proviennent de la partie du haut du cœur en allant vers les oreillettes, alors que les sections B proviennent de la partie s'approchant de l'apex. (B) Pourcentage du marquage de MPO par rapport à la surface totale du cœur. Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  erreur-type. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (\* :  $P < 0,05$ ; \*\* :  $P < 0,01$ ; \*\*\* :  $P < 0,001$ .  $n = 3$  à  $8$ ).

La présence des neutrophiles dans l'infarctus des sections A est significativement plus importante 5 jours après l'IM pour les deux groupes, mais ne diffère pas entre les deux groupes. Le pourcentage de surface marquée par le MPO est significativement plus important dans la zone ischémique par rapport aux groupes témoins et aux tissus sains chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 0,076 ± 0,045 %, n = 6; tissus sains : 0,183 ± 0,059 %, n = 6; zone péri-ischémique : 1,30 ± 0,24 %, n = 6, *P* < 0,01; infarctus : 2,20 ± 0,34 %, n = 6, *P* < 0,001) et les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 0,028 ± 0,012 %, n = 4; tissus sains : 0,184 ± 0,061 %, n = 8; zone péri-ischémique : 1,29 ± 0,32 %, n = 8, *P* < 0,01; infarctus : 1,95 ± 0,39 %, n = 7, *P* < 0,001). Pour les sections B, le pourcentage de la surface marquée est significativement plus élevé dans la zone péri-ischémique et dans l'infarctus par rapport au groupe témoin chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 0,058 ± 0,029 %, n = 6; tissus sains : 0,048 ± 0,031 %, n = 5; zone péri-ischémique : 0,563 ± 0,199 %, n = 5, *P* < 0,05; infarctus : 1,39 ± 0,47 %, n = 5, *P* < 0,01), mais seule la zone péri-ischémique a un marquage significativement plus élevé par rapport au groupe témoin (groupe témoin : 0,205 ± 0,100 %, n = 6; tissus sains : 0,320 ± 0,119, n = 6; zone péri-ischémique : 1,30 ± 0,49, n = 6, *P* < 0,05; infarctus : 1,34 ± 0,58 %, n = 3, *P* > 0,05).

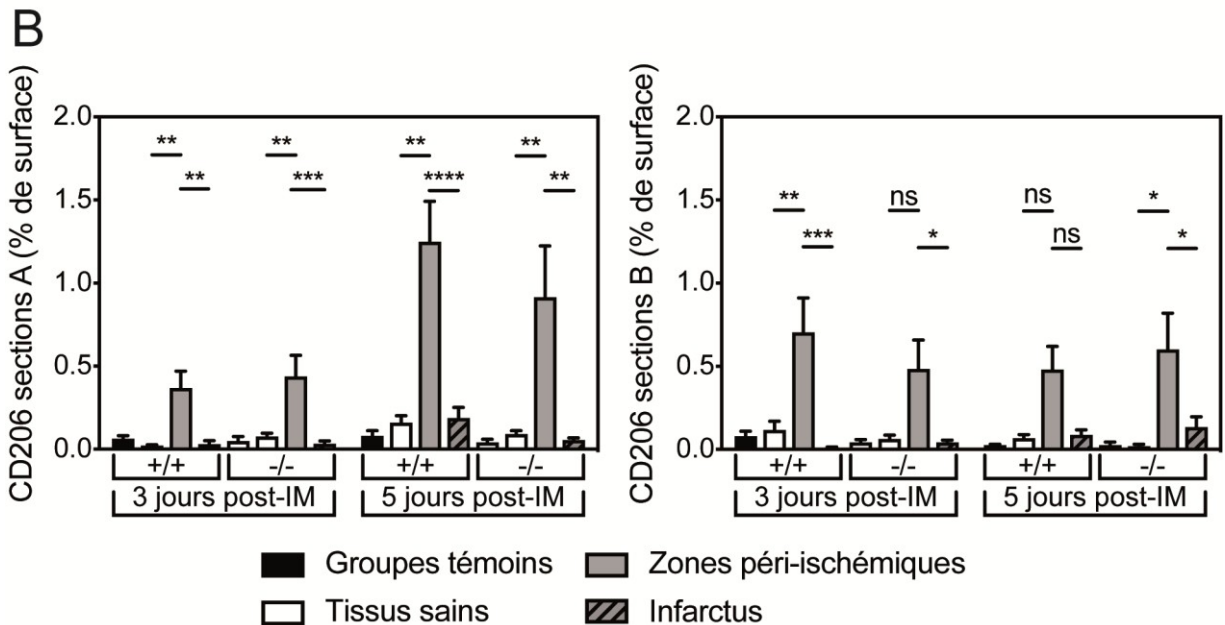
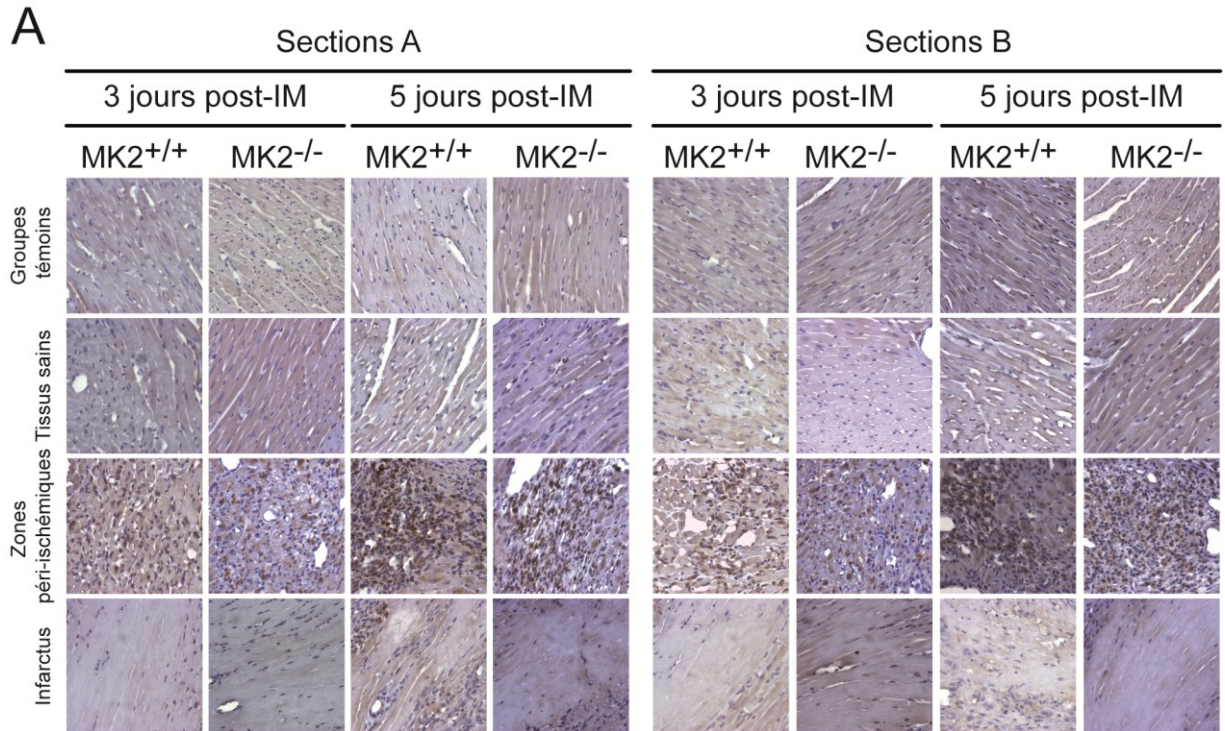
L'infiltration des neutrophiles commence donc à être apparente 3 jours après l'IM autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que les souris MK2<sup>-/-</sup>, mais l'intensité du marquage devient réellement significative au 5<sup>e</sup> jour après l'IM particulièrement dans les sections A, mais autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que les souris MK2<sup>-/-</sup>.

## **La présence des macrophages n'est pas affectée par l'absence de MK2**

L'analyse du marquage de CD206 a révélé que l'absence de MK2 n'altère pas significativement la présence des macrophages dans la zone en périphérie de l'infarctus autant après 3 jours qu'après 5 jours d'IM (Figure 7 A et B, p. 82). En effet, le marquage de CD206 3 jours post-IM des sections A est significativement plus élevé dans la zone péri-ischémique par rapport aux groupes témoins, aux tissus sains et aux tissus de l'infarctus autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 0,064 ± 0,019 %,



n = 8; tissus sains :  $0,022 \pm 0,006$  %, n = 7; zone péri-ischémique :  $0,370 \pm 0,100$  %, n = 6; infarctus :  $0,033 \pm 0,019$  %, n = 8;  $P < 0,05$ ) que chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe contrôle :  $0,050 \pm 0,027$  %, n = 6; tissus sains :  $0,078 \pm 0,020$  %, n = 8; zone péri-ischémique :  $0,439 \pm 0,127$  %, n = 8; infarctus :  $0,034 \pm 0,017$  %, n = 8;  $P < 0,05$ ). La même chose est observée pour les sections B. Le pourcentage de la zone marquée pour identifier CD206 est significativement plus élevé dans la zone péri-ischémique des souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport aux autres régions du cœur (groupe témoin :  $0,079 \pm 0,030$  %, n = 8; tissus sains :  $0,118 \pm 0,052$  %, n = 6; zone péri-ischémique :  $0,704 \pm 0,206$  %, n = 6; infarctus :  $0,012 \pm 0,003$  %, n = 5;  $P > 0,01$ ). Le pourcentage de surface est significativement plus élevé dans la zone péri-ischémique par rapport au groupe témoin et à l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin :  $0,042 \pm 0,017$  %, n = 8; tissus sains :  $0,065 \pm 0,023$  %, n = 7; zone péri-ischémique :  $0,484 \pm 0,175$  %, n = 8; infarctus :  $0,042 \pm 0,013$  %, n = 8;  $P < 0,05$ ).



**Figure 10. L'absence de MK2 n'altère pas la présence des macrophages dans les zones péri-ischémiques à 3 et 5 jours post-IM.** (A) Marquage des macrophages sur des sections transversales du cœur où le CD206 est brun foncé et le reste des tissus est bleu. Les sections A proviennent de la partie du haut du cœur en allant vers les oreillettes, alors que les sections B proviennent de la partie s'approchant de l'apex. (B) Pourcentage du marquage de CD206 par rapport à la surface totale du cœur. Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  erreur-type. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (\* :  $P < 0,05$ ; \*\* :  $P < 0,01$ ; \*\*\* :  $P < 0,001$ ; \*\*\*\* :  $P < 0,0001$ ;  $n = 5$  à 8).



De façon similaire, le marquage de CD206 sur les sections A 5 jours post-IM est significativement plus élevé dans la zone péri-ischémique par rapport aux autres zones du cœur et au groupe témoin autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (groupe témoin : 0,081 ± 0,031 %, n = 7; tissus sains : 0,161 ± 0,041 %, n = 7; zone péri-ischémique : 1,250 ± 0,243 %, n = 7; infarctus : 0,190 ± 0,062 %, n = 6;  $P < 0,0001$ ) que chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (groupe témoin : 0,043 ± 0,019 %, n = 8; tissus sains : 0,093 ± 0,021 %, n = 7; zone péri-ischémique : 0,915 ± 0,308, n = 5; infarctus : 0,056 ± 0,014 %, n = 6;  $P < 0,01$ ). Pour les sections B des souris MK2<sup>+/+</sup>, le pourcentage de surface de la zone péri-ischémique est significativement plus élevé que le groupe témoin seulement (groupe témoin : 0,025 ± 0,006, n = 7; tissus sains : 0,067 ± 0,022 %, n = 7; zone péri-ischémique : 0,480 ± 0,140 %, n = 7,  $P < 0,05$ ; infarctus : 0,088 ± 0,030 %, n = 7). Pour les souris MK2<sup>-/-</sup>, la zone péri-ischémique des sections B a un marquage significativement plus élevé que les autres sections et que le groupe témoin (groupe témoin : 0,026 ± 0,018 %, n = 8; tissus sains : 0,020 ± 0,012, n = 4; zone péri-ischémique : 0,602 ± 0,217 %, n = 6; infarctus : 0,135 ± 0,061 %, n = 6;  $P < 0,05$ ).

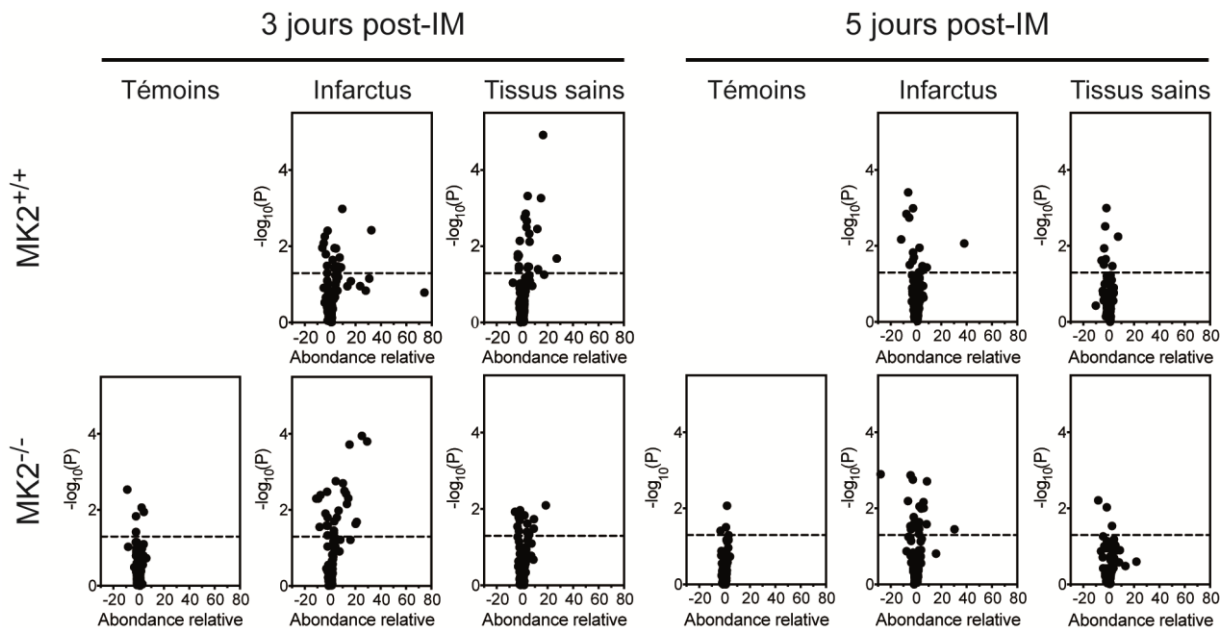
En résumé, dans toutes les situations présentées, il n'y a pas de différence significative entre les zones péri-ischémiques des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ce qui indique que la présence des macrophages n'est pas affectée par l'absence de MK2. Il est possible de voir que la progression d'invasion de ces cellules dans la zone entourant l'infarctus des sections A entre le 3<sup>e</sup> et le 5<sup>e</sup> jour après l'IM est très similaire entre les deux génotypes. Le pourcentage de surface marquée des sections B par rapport aux sections A semble rester stable dans les deux groupes. Après un IM, les macrophages et les monocytes qui résident dans le cœur sont progressivement remplacés par un grand nombre de monocytes provenant de la circulation sanguine (31). La présence équivalente des macrophages dans les tissus MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> démontre donc que la signalisation pour induire leur recrutement, leur prolifération ou une combinaison des deux processus est activé de façon à obtenir un résultat similaire entre les deux génotypes pour participer et moduler l'inflammation dans les tissus.

## **Évaluation du patron d'expression des transcrits d'ARNm des cytokines et chimiokines impliquées dans la réponse inflammatoire par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array »**

MK2 a été identifiée comme un joueur majeur dans la réponse inflammatoire dans plusieurs contextes tels que le cancer (82). Plusieurs expériences ont démontré que cette kinase régule la stabilité de l'ARNm de plusieurs cytokines pro-inflammatoires en phosphorylant les protéines qui se lient à l'ARN comme TTP et HuR (82, 83). Cette activité kinase entraîne une réponse inflammatoire appropriée après un stress afin de nettoyer les débris cellulaires et déclencher le processus de guérison (82, 83). Puisque la régulation par MK2 de ce phénomène se fait au niveau de la stabilité de l'ARNm, nous voulions donc voir comment l'absence de MK2 affecterait le patron d'expression des transcrits des chimiokines et des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dans le contexte d'un IM chez la souris.

### **Le profile d'expression d'ARNm dans les tissus sains des souris MK2<sup>-/-</sup> 3 jours post-IM diffère des souris MK2<sup>+/+</sup> et un arrêt de l'inflammation a lieu 5 jours post-IM**

Sur la Figure 11 (p. 93), il est tout d'abord possible de voir qu'il n'y a pas une grande différence de l'expression d'ARNm pour la majorité des cytokines et des chimiokines dans les groupes témoins MK2<sup>-/-</sup> 3 et 5 jours après l'IM. Les seules différences notables avec les groupes témoins MK2<sup>+/+</sup> sont une augmentation de l'abondance d'IL-10 surtout 3 jours post-IM et une sous expression d'IL-15 au deux périodes de temps.



**Figure 11. L'absence de MK2 altère le patron d'expression des cytokines et des chimiokines impliqués dans la réponse inflammatoire dans les tissus sains, mais pas dans l'infarctus à 3 jours après l'IM.** Les transcrits de cytokines et des chimiokines provenant du LV de souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ont été quantifiés en utilisant les plaques RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array de QIAGEN. Ils ont tous été normalisés par rapport aux échantillons du groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> à 3 jours où à 5 jours post-IM. Les points correspondent chacun à un gène différent. Ceux situés au-dessus de la ligne pointillée ont une expression significativement altérée (n = 3 à 4).

Le profil d'expression des cytokines et des chimiokines 3 jours post-IM révèle une augmentation significative de l'ARNm de 10 gènes et une diminution de 5 gènes dans l'infarctus ainsi qu'une augmentation de 14 gènes et une diminution de 7 gènes dans les tissus sains des souris MK2<sup>+/+</sup> (Figure 8, p. 84). À 5 jours post-IM, le nombre de gènes activés diminue ce qui indiquerait un retour à un état basal, puisque le nombre de gènes significativement surexprimés est de 6 et sous-exprimé est de 8 dans les tissus sains ainsi que 4 pour les surexprimés et 5 respectivement dans les tissus sains. Ce retour à la normale est particulièrement évident dans les tissus sains.

Pour ce qui est des souris MK2<sup>-/-</sup>, il est possible de voir 3 jours post-IM que plusieurs gènes sont significativement surexprimés et sous exprimés dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> de façon similaire à l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>. Un total de 15 gènes sont surexprimés et 9 gènes sont sous-exprimés dans les tissus de l'infarctus. Par contre,

dans les tissus sains, l'expression de plusieurs gènes est atténuée comparativement aux tissus sains de  $MK2^{+/+}$ , car 7 gènes sont surexprimés et 4 gènes sont sous-exprimés. À 5 jours post-IM, le nombre de gènes surexprimés et sous exprimés diminue surtout dans les tissus sains, mais aussi légèrement dans l'infarctus. Dans l'infarctus, le nombre de gènes surexprimés est de 10 et un total de 7 gènes sont sous-exprimés. Dans les tissus sains, on retrouve respectivement 1 gène surexprimé et 1 gène sous-exprimé.

La différence de patron d'expression dans les tissus sains  $MK2^{-/-}$  par rapport aux tissus sains  $MK2^{+/+}$  démontre que la réponse inflammatoire n'est pas absente, mais qu'elle est plus restreinte chez les souris  $MK2^{-/-}$ . Le nombre de gènes activés n'est pas aussi important dans les tissus sains  $MK2^{-/-}$  que dans les tissus sains  $MK2^{+/+}$ . La réponse inflammatoire serait donc plus localisée dans la zone de l'infarctus.

### **Chimiokines : l'absence de MK2 altère l'expression de Cxcl3 3 jours post-IM**

Les chimiokines sont décrites comme étant des petites protéines spécialisées dans le recrutement des leucocytes dans une zone spécifique (138). En règle générale, les chimiokines portant le motif CXC sont spécialisées dans le recrutement des neutrophiles alors que celles dont le motif est CC attirent les monocytes et certains autres lymphocytes (138). Il a été démontré que MK2 régule la stabilité de MIP, une famille de chimiokines spécialisée dans l'activation, entre autres, des fibroblastes, des macrophages et des neutrophiles (114). Cette famille comporte plusieurs acteurs dont CCL3, CCL4, CCL19, CCL20 et CXCL3 (114).

La comparaison de l'abondance des différents ARNm exprimés dans les différents groupes par rapport au groupe témoin  $MK2^{+/+}$  3 jours post-IM est représentée dans le Tableau 5 (p. i). Un chiffre positif représente une augmentation de l'expression de l'ARNm, alors qu'un chiffre négatif reflète une sous-expression de l'ARNm comparativement aux souris  $MK2^{+/+}$  du groupe témoin. Il est possible de voir que l'abondance de 3 chimiokines portant le motif CC ainsi que de 2 chimiokines portant le motif CXC est augmentée de façon significative dans l'infarctus des souris  $MK2^{+/+}$  :

CCL2 (7,59,  $P = 0,020$ ), CCL4 (4,61,  $P = 0,011$ ), CCL7 (6,94,  $P = 0,039$ ), CXCL10 (3,55,  $P = 0,011$ ) et CXCL16 (3,11,  $P = 0,037$ ) 3 jours post-IM. Une augmentation est aussi observée dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> pour CCL12, CCL3 (5,12,  $P = 0,079$ ), CXCL1, CXCL13 et particulièrement CXCL3 (74,3,  $P = 0,16$ ), mais elle est très instable. L'abondance de la majorité de ces chimiokines est aussi augmentée dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> comme CCL2 (4,72,  $P = 0,034$ ) et CXCL3 (27,3,  $P = 0,021$ ). Dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup>, 2 chimiokines au motif CC et 3 chimiokines au motif CXC ont une abondance augmentée significativement : CCL12 (6,81,  $P = 0,010$ ), CCL2 (5,35,  $P = 0,016$ ), CXCL16 (3,36,  $P = 0,020$ ), CXCL3 (20,2,  $P = 0,023$ ) et CXCL5 (13,3,  $P = 0,007$ ). Dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup>, seul CXCL3 augmente de façon significative (5,57,  $P = 0,044$ ). CCL3, CCL4, CCL7, CXCL10 et CXCL9 ont une expression très variable dans les tissus sains et dans l'infarctus pour les deux génotypes. CCL19 a une abondance réduite dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. Donc, la différence d'expression de l'ARNm de CCL3 et de CCL4 ne varie pas fortement entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> 3 jours post-IM.

À 5 jours post-IM (Tableau 6, p. iii), l'abondance des transcrits semble retourner à l'état basal dans les tissus des souris MK2<sup>+/+</sup> puisqu'aucun des transcrits n'a une augmentation significative de leur expression. CCL12, CCL17, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CXCL10, CXCL13, CXCL16, CXCL3 et Pf4 ont une expression élevée mais très variable dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>. Dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup>, 4 chimiokines au motif CC (CCL2, CCL3, CCL4 et CCL5) ainsi que PF4 sont significativement plus élevés. L'expression de CCL7, CCL17 et CXCL16 augmente de façon instable. Une certaine augmentation de l'abondance de ces dernières n'est pas significative dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup>. Seule l'abondance de CCL11 dans l'infarctus est fortement diminuée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (-27,8,  $P = 0,001$ ) par rapport aux MK2<sup>+/+</sup> (-5,26,  $P = 0,002$ ). Il est donc possible que le signal de recrutement soit plus long chez les souris MK2<sup>-/-</sup>.

En résumé, un plus grand nombre de transcrits a une augmentation significative de leur abondance dans les tissus des souris MK2<sup>+/+</sup> 3 jours post-IM. Au 5<sup>e</sup> jour après

l'IM, l'abondance des transcrits des chimiokines semble revenir au niveau basal pour les deux génotypes, mais plus rapidement chez les souris MK2<sup>+/+</sup>. La signalisation pour le recrutement des leucocytes n'est donc pas être significativement défavorisé par l'absence de MK2 dans le contexte d'un IM.

### **Interleukines : L'absence de MK2 n'affecte pas significativement la stabilité de l'ARNm d'IL-6, d'IL-10 et d'IL-1β**

Les interleukines sont des petites protéines impliquées dans la communication intracellulaire des leucocytes (133). Le patron d'expression des interleukines et de leurs récepteurs varie grandement selon le type de cellule immunitaire, ce qui permet de réguler une réponse inflammatoire adéquatement selon le type de signal reçu (133). Les interleukines identifiées comme étant régulées par MK2 sont : IL-6, IL-10, IL-1β, IL-8 et COX-2 (82, 83, 93, 102). Seules les trois premières ont été évaluées dans l'étude présente.

Dans les infarctus et les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, l'abondance de IL1rn augmente significativement alors que celle d'IL-15 diminue fortement 3 jours post-IM (Tableau 7, p. v). L'augmentation d'IL-1β dans l'infarctus des deux génotypes est très variable (MK2<sup>+/+</sup> : 28,2,  $P = 0,144$ ; MK2<sup>-/-</sup> : 16,1,  $P = 0,061$ ). Dans les tissus sains, son abondance semble être légèrement plus élevée chez les souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport aux souris MK2<sup>-/-</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : 12,5,  $P = 0,040$ ; MK2<sup>-/-</sup> : 9,32,  $P = 0,018$ ). De façon similaire, IL-10 et IL-11 a une augmentation de l'abondance variable pour les deux génotypes. IL-6 est exprimée fortement dans tous les tissus (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 23,6,  $P = 0,110$ ; tissus sains : 17,3,  $P = 0,055$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 29,3,  $P = 0,0002$ ; tissus sains : 9,16,  $P = 0,033$ ). Par contre, l'expression est plus stable chez les souris MK2<sup>-/-</sup> que chez les souris MK2<sup>+/+</sup> où la variabilité est très élevée. L'abondance d'IL-18 est plus forte dans les tissus sains chez les souris MK2<sup>+/+</sup> par rapport aux souris MK2<sup>-/-</sup>. Finalement, IL-16 est diminué dans les tissus sains des souris MK2<sup>-/-</sup>.

Tout comme 3 jours post-IM, l'abondance de IL-15 est faible et celle de IL1rn est élevée dans l'infarctus et les tissus sains de MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> (Tableau 8, p. vii). IL-11, IL-1α, IL-1β, IL-27 et IL-6 ont tous une augmentation variable de l'abondance dans

l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> et certains sont aussi variables dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup>. L'abondance de IL-10 augmente significativement dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup>, mais malgré que son expression est relativement plus abondante dans les tissus sains comparativement au souris MK2<sup>+/+</sup> la variabilité est élevée (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 1,78,  $P = 0,34$ ; tissus sains : 2,26,  $P = 0,23$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 8,38,  $P = 0,026$ ; tissus sains : 6,07,  $P = 0,13$ ). L'augmentation des transcrits IL-1 $\beta$ , IL-27, IL-4 et IL-6 dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> tout comme IL-11, IL-13, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6 dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup> est variable. De plus, il n'y a pas de différence significative de l'expression de l'ARNm d'IL-1 $\beta$  (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 3,93,  $P = 0,20$ ; tissus sains : 1,20,  $P = 0,72$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 3,99,  $P = 0,25$ ; tissus sains : 8,11,  $P = 0,26$ ) et d'IL-6 (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 5,64,  $P = 0,11$ ; tissus sains : 4,00,  $P = 0,17$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 15,9,  $P = 0,16$ ; tissus sains : 13,2,  $P = 0,33$ ) entre les deux génotypes.

Les patrons d'expression de l'ARNm d'interleukines de souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> sont donc très similaires 3 et 5 jours post-IM. Il ne semble pas y avoir une déstabilisation significative des interleukines identifiées comme étant régulées par MK2. En effet, on ne remarque pas une forte diminution de l'abondance d'IL-6, d'IL-10 et d'IL-1 $\beta$  dans les tissus provenant de souris MK2<sup>-/-</sup>. En fait, IL-10 semble conserver une abondance élevée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM, mais pas chez les souris MK2<sup>+/+</sup>.

### **Interférons : L'absence de MK2 entraîne une augmentation de l'abondance d'ARNm de l'IFN- $\alpha$ dans les tissus de l'infarctus**

Les interférons sont sécrétés après la stimulation des TLR afin de réguler la réponse immunitaire innée et acquise dans le but de répondre adéquatement à divers stimuli tels que l'infection virale (201). Certaines études ont démontré que l'inhibition de MK2 entraînait une diminution de l'expression d'IFN- $\gamma$  suivant l'injection de LPS dans des cellules (57, 82).

Selon les résultats présentés dans le Tableau 9 (p. ix), l'abondance d'IFN- $\gamma$  n'est pas altérée 3 jours après l'IM autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : -1,35,  $P = 0,39$ ; tissus sains : -1,08,  $P = 0,61$ ) que MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : 1,13,  $P = 0,78$ ; tissus sains : 1,90,

$P = 0,13$ ). Par contre, l'ARNm d'IFN- $\alpha$  est particulièrement abondant dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> (14,4,  $P = 0,005$ ), mais pas dans les tissus dans les tissus sains (7,01,  $P = 0,19$ ) alors que cette augmentation n'a pas du tout lieu dans les tissus MK2<sup>+/+</sup>. À 5 jours après l'IM (Tableau 10, p. x), cette abondance d'ARNm pour IFN- $\alpha$  dans les tissus MK2<sup>-/-</sup> est perdue et reste absent dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (2,27,  $P = 0,34$ ).

L'induction d'un IM ne semble donc pas avoir d'incidence significative sur l'abondance de l'ARNm d'IFN- $\gamma$  autant chez les souris MK2<sup>+/+</sup> que MK2<sup>-/-</sup>. Par contre, il l'absence de MK2 aurait pour effet d'augmenter l'abondance de l'ARNm d'IFN- $\alpha$  3 jours post-IM. Cette cytokine a pour rôle d'orchestrer la réponse du système immunitaire adaptatif en stimulant les cellules dendritiques, en activant les cellules T naïves, etc. (133).

### **Facteurs de croissance : l'abondance de l'ARNm de Csf2 est plus élevée dans l'infarctus en l'absence de MK2**

Les facteurs de croissance jouent un rôle particulièrement important dans la réponse inflammatoire puisqu'ils jouent un rôle dans la production de cellules immunitaires comme CSF2 ainsi que dans la régulation de la réparation des tissus comme en affectant, par exemple, l'expression de VEGF (133). MK2 régulerait la stabilité de l'ARNm de CSF2, de VEGF et une diminution de leur abondance devrait être observée en absence de MK2 (82, 83, 93, 102).

Dans le Tableau 11 (p. xi), il est possible de voir que l'abondance de l'ARNm de BMP2 est significativement élevée dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : 9,56,  $P = 0,001$ ; tissus sains : 2,74,  $P = 0,15$ ) et l'abondance est plus variable dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : 5,35,  $P = 0,060$ ; tissus sains : 1,44,  $P = 0,96$ ) 3 jours après l'IM. CSF2 est significativement élevée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : 12,7,  $P = 0,004$ ; tissus sains : 4,10,  $P = 0,024$ ), mais pas dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : 3,85,  $P = 0,22$ ; tissus sains : 4,26,  $P = 0,037$ ). L'augmentation de l'ARNm de Lif semble est très variable dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (4,18,  $P = 0,058$ ). OSM a une abondance significativement élevée dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (11,5,  $P = 0,003$ ) et est élevé, mais plus variable, dans



l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (13,6,  $P = 0,11$ ). L'abondance de l'ARNm de VEGFA diminue de façon similaire entre les génotypes (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : -3,35,  $P = 0,016$ ; tissus sains : -2,62,  $P = 0,017$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : -3,50,  $P = 0,012$ ; tissus sains : -2,69,  $P = 0,017$ ).

L'abondance des facteurs de croissance altérée par l'IM retourne à un état normal 5 jours post-IM comparativement à 3 jours post-IM (Tableau 12, p. xii). L'abondance de BMP7 est significativement diminuée chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : -6,10,  $P = 0,0004$ ; tissus sains : -2,76,  $P = 0,003$ ) ainsi que dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : -4,17,  $P = 0,001$ ; tissus sains : -2,12,  $P = 0,38$ ). L'abondance de CSF2 semble être très faible ce qui reflète un retour à l'état normal, surtout dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup>, mais l'expression est assez variable (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : -3,32,  $P = 0,29$ ; tissus sains : -10,1,  $P = 0,37$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : -2,02,  $P = 0,38$ ; tissus sains : -4,35,  $P = 0,38$ ). L'abondance élevée de Lif est variable dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> (4,06,  $P = 0,12$ ). De façon similaire, Nodal a une abondance diminuée dans l'infarctus, mais est exprimé de façon variable chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : -3,14,  $P = 0,059$ ; tissus sains : -3,06,  $P = 0,10$ ) et dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (-5,85,  $P = 0,057$ ). L'ARNm d'OSM a une abondance significativement élevée dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (8,53,  $P = 0,037$ ) et MK2<sup>-/-</sup> (6,05,  $P = 0,010$ ). L'ARNm de VEGF $\alpha$  est sous exprimé significativement dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (-4,86,  $P = 0,032$ ) et sa diminution dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> est plus variable (-3,82,  $P = 0,072$ ).

L'absence de MK2 ne semble donc pas avoir d'effets sur l'abondance de l'ARNm de VEGF $\alpha$  puisque les valeurs sont très similaires entre les deux génotypes. De plus, l'augmentation de CSF2 dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> est particulièrement élevée, mais très variable comparativement à l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>, ce qui est contraire à ce qui est décrit dans la littérature (82, 83, 93, 102).

### **Superfamille des récepteurs de TNF : l'abondance de TNF- $\alpha$ n'est pas régulée par MK2 suivant un IM**

Les membres de la superfamille des récepteurs de TNF sont impliqués dans la régulation de plusieurs voies telles que la survie et la mort cellulaire ainsi que la différenciation cellulaire des cellules lymphoïdes (202). Suivant l'injection de LPS dans

des cellules MK2<sup>-/-</sup>, il a été démontré que la production de TNF- $\alpha$  était significativement diminuée (57, 82).

À 3 jours après l'IM, il seul l'ARNm TNFRSF11b a une augmentation significative de son abondance dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (8,64,  $P = 0,036$ ) et MK2<sup>-/-</sup> (10,3,  $P = 0,002$ ) (Tableau 13, p. xiii). L'augmentation est aussi significative dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> (12,0,  $P = 0,004$ ), mais pas dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup> (7,03,  $P = 0,17$ ). L'abondance de l'ARNm de TNFSF11 augmente aussi dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>, mais elle est très variable (30,8,  $P = 0,070$ ) alors qu'elle est significativement abondante dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (21,1,  $P = 0,021$ ). À l'inverse, l'abondance est significativement élevée dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> (14,9,  $P = 0,001$ ) et l'ARNm est exprimé à des niveaux plus variables dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup> (4,87,  $P = 0,052$ ). Ensuite, il semblerait que l'abondance de TNFSF13b soit significativement basse dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> seulement (-8,25,  $P = 0,028$ ). L'ARNm de TNF- $\alpha$  reste à un niveau basal dans tous les tissus 3 jours post-IM.

À 5 jours post-IM, l'abondance de l'ARNm de TNFRSF11b, TNFSF11 et TNFSF13b retourne à un niveau basal (Tableau 14, p. xiv). En effet, TNFSF11b a encore une abondance significative dans la plupart des tissus, mais elle se situe à un niveau plus bas qu'à 3 jours post IM (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 2,82,  $P = 0,011$ ; tissus sains : 1,42,  $P = 0,29$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 2,83,  $P = 0,009$ ; tissus sains : 2,65,  $P = 0,029$ ). De façon similaire, l'ARNm de TNFSF11 a une abondance significativement élevée dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> (4,35,  $P = 0,046$ ), mais l'augmentation n'est pas significative dans les autres tissus.

L'ARNm de TNF- $\alpha$  semble reste à un niveau basal dans tous les tissus 3 jours post-IM ainsi que 5 jours post-IM. L'absence de MK2 n'aurait donc pas d'effet sur la régulation de TNF- $\alpha$  dans le contexte d'un IM.

## **Autres cytokines : l'absence de MK2 n'a pas d'incidence sur l'abondance de l'ARNm de TGF- $\beta$ 2**

Les cytokines qui ne pouvaient être mises dans les autres catégories ont été regroupées dans la section « autre » par le fabricant de la plaque. Adipoq régule le métabolisme du glucose et des acides gras, Ctf1 active la voie PI3K dans les CM, Hc a pour rôle de dégrader l'hème, Mif régule la fonction des macrophages, Spp1 est relié à l'apoptose des CM et régule le recrutement de divers leucocytes et TGF- $\beta$  régule, entre autres, la prolifération et la différenciation cellulaire (203). Cette dernière est censée être stabilisée lorsque HuR est phosphorylé par MK2 (82, 83).

À 3 jours post-IM, Les cytokines de cette catégorie dont l'abondance augmente de façon significative dans l'infarctus sont SPP1 qui être particulièrement élevé chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 32,6,  $P = 0,004$ ; tissus sains : 16,5,  $P = 0,00001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 25,2,  $P = 0,0001$ ; tissus sains : 18,6,  $P = 0,008$ ) ainsi que TGF- $\beta$ 2 qui apparaît légèrement plus élevés chez les souris MK2<sup>-/-</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 2,04,  $P = 0,023$ ; tissus sains : 1,91,  $P = 0,002$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 3,01,  $P = 0,040$ ; tissus sains : 1,01,  $P = 0,83$ ) (Tableau 15, p. xv). Le CTF1 a une abondance significativement diminuée dans l'infarctus des souris et les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : -4,93,  $P = 0,008$ ; tissus sains : -3,31,  $P = 0,016$ ) et encore plus diminué dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : -9,31,  $P = 0,005$ ; tissus sains : -3,56,  $P = 0,053$ ). L'abondance d'ADIPOQ est aussi diminuée pour les deux génotypes dans l'infarctus, mais il y a trop de variabilité pour que ce soit significatif (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : -4,23,  $P = 3,0$ ; tissus sains : 1,63,  $P = 0,47$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : -2,78,  $P = 0,35$ ; tissus sains : -1,52,  $P = 0,46$ ).

La diminution de l'ADIPOQ l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM est très variable (-4,49,  $P = 0,060$ ) (Tableau 16). CFT1 a une abondance significativement diminuée dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (infarctus : -11,7,  $P = 0,007$ ; tissus sains : -5,61,  $P = 0,024$ ) et la diminution semble moins marquée dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> (infarctus : -4,31,  $P = 0,09$ ; tissus sains : -4,30,  $P = 0,054$ ). TGF- $\beta$ 2 retourne à l'état normal excepté dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> où l'abondance semble un peu élevée (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 2,32,  $P = 0,049$ ; tissus sains : 1,56,  $P = 0,059$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 1,82,  $P = 0,031$ ; tissus

sains : -1,20,  $P = 0,66$ ). De plus, SPP1 a une abondance importante dans tous les tissus, mais particulièrement dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : infarctus : 32,6,  $P = 0,004$ ; tissus sains : 16,5,  $P = 0,00001$ ; MK2<sup>-/-</sup> : infarctus : 24,2,  $P = 0,0001$ ; tissus sains : 18,6,  $P = 0,008$ ).

Il semble donc que l'absence de MK2 n'altère pas l'abondance de l'ARNm de TGF- $\beta$ 2. Puisque l'expression de SPP1 par les CM et les cellules immunitaires augmente drastiquement dans le contexte d'une maladie cardiovasculaire afin de recruter la production de cytokines inflammatoires par les leucocytes, l'effet serait potentiellement atténué lorsque MK2 est absent puisque l'abondance est moins élevée dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> 3 et 5 jours post-IM en comparaison à l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> (203).

### **Cytokines anti-inflammatoires : l'absence de MK2 ne semble pas affecter l'abondance d'IL-10 significativement**

Afin de faciliter l'étude des cytokines pouvant avoir un effet anti-inflammatoire, elles ont été regroupées dans le Tableau 17 (p. xvii) et le Tableau 18 (p. xviii). Ces dernières sont particulièrement importantes puisqu'elles régulent la résolution de la réponse inflammatoire. Les cytokines IL-6, IL-10 et TGF- $\beta$  ont toutes été identifiées comme étant régulées par MK2 et il avait été démontré qu'une diminution significative de l'expression d'IL-6 et de TGF- $\beta$  avait lieu après l'injection de LPS dans des souris MK2<sup>-/-</sup> (57, 82).

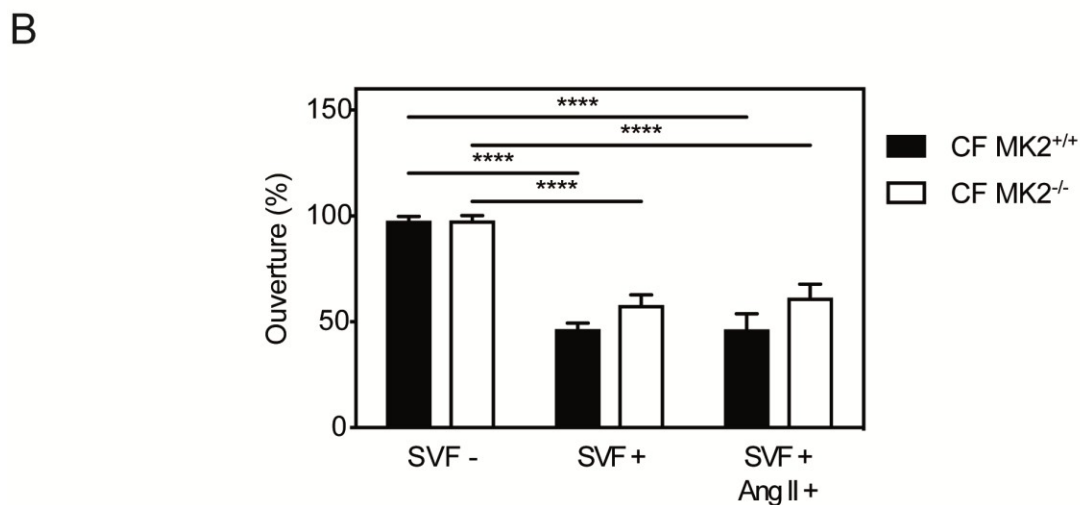
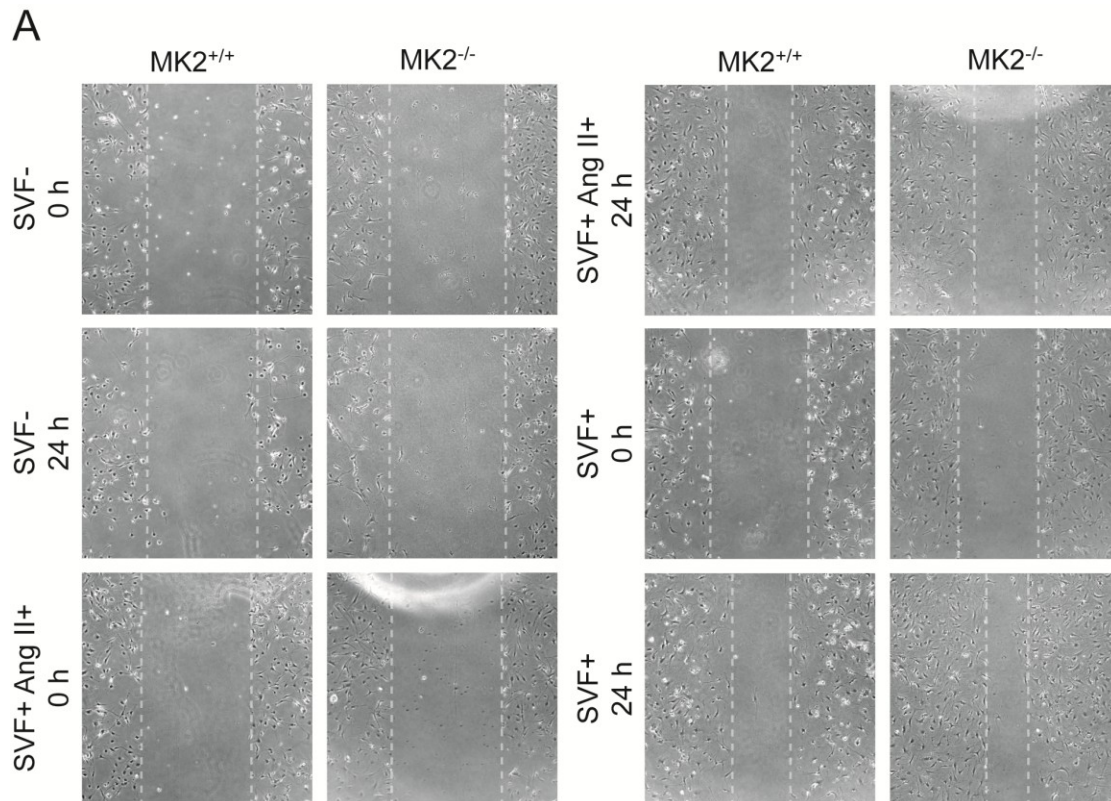
À 3 jours post-IM (Tableau 17), une diminution de l'abondance de CCL19 a lieu dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. Une augmentation de TGF- $\beta$ 2 est détectée dans les tissus de l'infarctus des deux génotypes, et une légère augmentation a eu lieu seulement dans les tissus sains de MK2<sup>+/+</sup>. De plus, dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, l'abondance d'IL-18 augmente significativement, mais semble être plus élevée chez les souris MK2<sup>+/+</sup> (MK2<sup>+/+</sup> : 5,929,  $P < 0,008$  ; MK2<sup>-/-</sup> : 3.817,  $P < 0,040$ ). L'augmentation de l'abondance d'IL-11 et d'IL-6 est très variable dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup>, mais elle augmente significativement chez les souris MK2<sup>-/-</sup>.

L'abondance d'IL-10 est élevée, mais instable, dans l'infarctus et les tissus sains des deux génotypes.

À 5 jours post-IM, les transcrits retournent pour la plupart à une abondance basale dans les tissus sains, excepté IL-6 qui est exprimée de façon instable autant dans les tissus sains que dans l'infarctus des deux génotypes. De plus, l'abondance d'IL-10, une cytokine spécialisée dans la diminution des cytokines pro-inflammatoires, est significativement élevée dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup>, mais pas chez les souris MK2<sup>+/+</sup> ce qui est contraire à ce qui était attendu puisque l'absence de MK2<sup>-/-</sup> aurait dû déstabiliser l'ARNm d'IL-10.

## **L'absence de MK2 ne diminue pas la migration des CF**

L'une des premières cibles associées à MK2 est la protéine de choc thermique Hsp27/25 (77, 78). L'un des rôles les mieux connus de cette dernière est d'inhiber la polymérisation d'actine en se liant à l'extrémité négative de ces filaments qui sont impliqués dans divers processus tels que la migration et la division cellulaire (77, 109). Lorsque MK2 phosphoryle Hsp27/25, cela entraîne l'inactivation de cette dernière ce qui réinstaura la formation de filaments d'actine dans la cellule (78). Il a été établi que la formation de filopodes est diminuée dans les macrophages MK2<sup>-/-</sup> et que la migration cellulaire est réduite dans les cellules des muscles lisses de trachée de souris MK2<sup>-/-</sup> et les MEF immortalisés MK2<sup>-/-</sup> (100).



**Figure 12. La migration cellulaire des CF murins n'est pas affectée de façon significative par l'absence de la protéine MK2.** (A) Migration de CF isolés du VG provenant de souris MK2<sup>+/+</sup> ou MK2<sup>-/-</sup> évaluée par test de cicatrisation. Après avoir fait l'égratignure, les CF ont été mis en culture avec du milieu cellulaire seulement (SVF-), avec du milieu cellulaire enrichi de SVF (SVF+) ou avec du milieu cellulaire enrichi de SVF et d'angiotensine II (SVF+ ANG II+). Les zones de l'ouverture de l'égratignure ont été mesurées aux temps 0 et à 24 heures après l'égratignure. (B) Ouverture de l'égratignure représentée en pourcentage comparant l'ouverture aux temps 0 et 24 heures. Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  erreur-type. L'analyse statistique a été faite par analyse de la variance bidirectionnelle suivie par le test de comparaison multiple de Tukey (\*\*\*\* : P < 0,0001; n = 4).

Nous voulions donc déterminer si des résultats similaires seraient observés dans le contexte de CF isolés en effectuant un test de cicatrisation connu sous le nom de « scratch-wound assay ». La Figure 9 (p. 87) démontre qu'il n'y a pas de différence significative du pourcentage d'ouverture de l'égratignure après 24 heures entre les CF MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. En effet, la différence d'ouverture après 24 heures chez les CF MK2<sup>-/-</sup> (SVF- : 97,9 ± 4,5 %; SVF+ : 57,9 ± 9,5 %; SVF+ et ANG II+ : 61,5 ± 12,8 %; n = 4) par rapport aux CF MK2<sup>+/+</sup> (SVF- : 97,8 ± 4,1 %; SVF+ : 46,6 ± 5,4 %; SVF+ et ANG II+ : 46,5 ± 14,6 %; n = 4) n'est pas significative. Puisque la concentration en SVF est assez élevée pour activer la migration ainsi que la prolifération cellulaire, une combinaison de ces deux processus est probablement impliquée dans la fermeture de l'égratignure.

## Compilation des résultats

Une vaste variété de résultats a été compilée au cours de cette étude. Tout d'abord, le modèle animal a été validé en démontrant que les deux variants d'épissage de MK2 sont absents des tissus prélevés et que cette absence altère l'expression de p38 $\alpha$ . Il a été confirmé que le changement d'expression de p38 $\alpha$  est au niveau protéique seulement puisqu'aucune variation peut-être observée au niveau de l'abondance de l'ARNm. Un nouvel élément découvert lors de cette étude est que l'induction d'un IM entraîne une augmentation de l'expression de l'ARNm de p38 $\beta$  vers la fin de la réponse inflammatoire dans les tissus de l'infarctus seulement chez les souris MK2<sup>+/+</sup>. Par contre, la régulation de l'expression p38 $\gamma$  et p38 $\delta$  au niveau de l'ARNm n'est pas affectée ni par l'absence de MK2 ni par l'induction d'un IM.

D'autres éléments n'ont pas été altérés chez les souris MK2<sup>-/-</sup> par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup> après l'induction d'un IM. La taille de la zone atteinte ainsi que la composition des tissus du myocarde après l'induction d'un infarctus ne diffèrent pas significativement entre les deux génotypes. En effet, les évaluations histologiques et immunohistologiques ont révélé que la composition en collagène ainsi que la présence de neutrophiles et de macrophages restent similaires entre les deux groupes 3 jours et 5 jours après l'IM. Il a été démontré par échocardiographie que les fonctions cardiaques

du VG et du VD ainsi que la structure du VD ne sont pas altérés différemment chez les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>. Seule la structure du VG est mieux conservée à 5 jours après l'IM lorsque MK2 est absent.

Contrairement à nos attentes, le taux de survie au cours de la phase inflammatoire post-IM est amélioré chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Cette amélioration de la survie pourrait être attribuée à l'altération de la réponse inflammatoire entraînée par l'absence de MK2. En effet, il est possible de confirmer que l'inflammation est induite adéquatement chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. L'évaluation de l'expression de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoire qui révèle que la signalisation pro-inflammatoire à 3 jours après l'IM est localisée dans les tissus de l'infarctus MK2<sup>-/-</sup>. En effet, un moins grand nombre de gènes sont surexprimés dans les tissus sains MK2<sup>-/-</sup> comparativement aux tissus sains MK2<sup>+/+</sup>. L'absence de MK2<sup>-/-</sup> n'entrave pas la formation de fibrose réparatrice. En plus que les souris MK2<sup>-/-</sup> n'ont pas subis de ruptures du myocarde dans les premiers jours après l'IM, un test de cicatrisation *in vitro* a démontré que la migration cellulaire des CF n'est pas significativement altérée lorsque MK2 est absent.



## Discussion

Plusieurs rôles biologiques ont été attribués à MK2 dont la biosynthèse de cytokines impliquées dans la réponse inflammatoire, la survie cellulaire et la migration cellulaire (78, 81, 82, 99, 102, 103). Cette kinase est aussi associée au mécanisme d'un grand nombre de maladies comme l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, certains cancers et le diabète de type 2 (78, 93, 103, 104). Puisque MK2 se retrouve en aval de p38MAPK, la kinase a été identifiée comme étant une cible thérapeutique potentielle afin de traiter plusieurs maladies inflammatoires (78, 93, 103, 104). Développer un inhibiteur de MK2 permettrait de contourner les effets secondaires causés par l'usage d'inhibiteurs de p38MAPK (82). Il a déjà été démontré que l'inhibition de MK2 comporte des avantages dans le cadre de certaines maladies comme le diabète de type 2. En effet, il a été démontré que, chez les souris diabétiques MK2<sup>-/-</sup>, l'absence de MK2 avait un effet cardioprotecteur (104). l'apparition d'une dégénération des fonctions cardiaques était retardée et les symptômes liés au diabète tels que la résistance à l'insuline étaient améliorés (104). Puisque la réponse inflammatoire est l'élément clef dans le déclenchement adéquat du processus de guérison du myocarde suivant un IM, il est important de déterminer comment l'absence de MK2 peut altérer ce processus (11, 28). Une diminution de l'inflammation peut à la fois être avantageuse, en limitant les dommages dans les tissus en périphérie de la zone ischémique (57), et délétère si l'inhibition de MK2 diminue l'inflammation de façon excessive, la fibrose étant déficiente ce qui augmente les risques de rupture cardiaque (16, 59). En effet, l'absence d'activation des CF en MCF mènerait à la fragilisation de l'infarctus à cause du manque de sécrétion de collagène permettant de former une cicatrice capable de résister aux tensions mécaniques du ventricule (13). Nous avons donc décidé d'étudier les répercussions de l'absence de MK2 dans le contexte d'un IM dans un modèle murin.

Les souris MK2<sup>-/-</sup> expriment une protéine tronquée au site actif qui est dégradée rapidement après sa production (196). Elles sont viables, fertiles et ne semblent pas souffrir d'effets indésirables (77). Leur réponse inflammatoire induite par l'injection de LPS est altérée puisque la sécrétion de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  et INF- $\gamma$  est diminuée (93, 196). De plus, l'expression de p38 $\alpha$  est diminuée, car MK2 n'est pas là pour stabiliser la kinase (81). Nous avons démontré que les deux variants d'épissage MK2-CT1 et MK2-CT2 sont effectivement absents des tissus du cœur du modèle de souris MK2<sup>-/-</sup> et que cela entraîne une diminution significative de la protéine p38 $\alpha$  excepté dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM (Figure 4, p. 67). L'analyse du patron d'expression de l'ARNm de p38 $\alpha$  a confirmé que la diminution de la protéine est due à une régulation post-traductionnelle puisqu'aucune variation de l'abondance de son ARNm n'a été détectée (Figure 5, p. 71). Tous ces résultats permettent de valider que la kinase MK2 est bien éliminée dans le modèle de souris MK2<sup>-/-</sup> utilisé pour les expériences subséquentes.

Un infarctus du myocarde entraîne une perte des CM ce qui affecte les fonctions cardiaques de façon permanente (11, 54). La formation de la cicatrice rétablit la résistance de la paroi ventriculaire aux tensions induites par les contractions du cœur, mais ne restaure pas la capacité contractile du muscle (9, 11, 59). Dépendamment de l'étendue des dommages causés par l'IM, la structure du myocarde se retrouvera altérée de diverses manières : dilatation du ventricule, hypertrophie, etc. (5, 11, 59). Ultiment, ces altérations physiques détériorent les fonctions du myocarde et peuvent même mener à de l'insuffisance cardiaque (59). L'échocardiographie est une méthode non invasive permettant de prendre les mesures des différentes parties du cœur et de capter les paramètres des fonctions du myocarde reliées aux différentes structures (204). Notre étude a démontré que les fonctions cardiaques des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ayant subi la chirurgie ont été altérées de façon similaire (Tableaux 3 et 4, pp. i et v). Une diminution claire des fonctions systoliques était déjà détectable 3 jours post-IM et une dégradation de certains aspects des fonctions diastoliques a aussi été mesurée. De plus, un score WMSI de près de 2 a été accordé aux souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, ce qui reflète une

hypokinésie du VG. Ces altérations du VG ont pour effet d'agrandir le diamètre de l'oreillette gauche de façon visible puisqu'elle doit surcompenser pour la perte de fonctions du VG due à l'IM. Les fonctions systoliques et diastoliques du VD ont aussi subi une détérioration significativement dans les deux génotypes. L'IM induit par la chirurgie LADL est donc une méthode efficace pour modéliser et suivre l'évolution de ce type de cardiomyopathie et affecte de façon néfaste le muscle dans son entièreté. L'absence de MK2 a un effet positif sur la maintenance de la structure du VG déjà dans les premiers jours post-IM. Le diamètre du VG des souris MK2<sup>-/-</sup> était dilaté, mais était significativement mieux conservé que celui des souris MK2<sup>+/+</sup>. Puisque la structure ventriculaire est intimement liée avec les fonctions cardiaques, il serait intéressant de déterminer si la conservation des structures est maintenue au cours des autres phases de guérison post-IM et si cette conservation structurale pourrait finir par avoir un effet positif sur les fonctions cardiaques. Les dommages induits par l'IM ont aussi été quantifiés directement par histologie et il a été démontré que la taille de la zone de l'infarctus était similaire entre les entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ce qui confirme les observations faites par échocardiographie.

Après un IM, plusieurs voies sont activées, dont MAPK, afin de déclencher la phase inflammatoire, la première étape du processus de guérison du myocarde (9, 11, 28, 55, 57). Cette inflammation est particulièrement importante, puisque c'est grâce à cette réponse qu'une vaste variété de cellules est recrutée afin de nettoyer les débris causés par l'IM ainsi que pour former une cicatrice de collagène (9, 11, 28, 29). Lors de cette phase, il y a un risque important de rupture du myocarde, car le tissu du ventricule est aminci par la nécrose des cellules et par la dégradation de la MEC (61, 62). Cette rupture peut être due à deux aspects de la réponse inflammatoire (61, 62). Si la réponse est trop faible, le processus de guérison appelé fibrose réparatrice ne sera pas déclenché, car les CF ne seront pas activés pour migrer dans la zone affectée afin de former une cicatrice composée de collagène (13). Si la réponse est trop forte, les MMP sécrétés par les CF et les cellules immunitaires dégraderont la MEC de façon excessive et affaibliront le ventricule (61, 62). La meilleure survie des souris MK2<sup>-/-</sup> observée au cours de notre étude est le

premier indice qui démontre que, contrairement à nos attentes, une réponse inflammatoire a lieu même en l'absence de MK2. En effet, les souris MK2<sup>-/-</sup> semblent être protégées de la rupture du myocarde durant la phase inflammatoire puisqu'elles ont toutes survécu à la période des 5 jours après l'IM, alors que le décès des souris MK2<sup>+/+</sup> au cours de la même période de temps était dû à une rupture du myocarde (Figure 6, p. 75). Comme mentionné précédemment, une absence de la réponse inflammatoire aurait certainement résulté en une augmentation de la rupture chez les souris MK2<sup>-/-</sup>, car il n'y aurait pas eu le déclenchement essentiel de la fibrose réparatrice servant à former une cicatrice. En effet, le recrutement des fibroblastes est déclenché rapidement par l'inflammation puisque les cellules du système immunitaires comme les neutrophiles et les macrophages sécrètent des signaux profibrotiques (205). Cette protection contre la rupture laisse aussi croire que l'inflammation est moins importante chez les souris MK2<sup>-/-</sup> que MK2<sup>+/+</sup> puisqu'une réponse trop forte mènerait aussi à une rupture. Cette absence de rupture chez les souris MK2<sup>-/-</sup> est particulièrement révélatrice, puisqu'il a été démontré que l'inhibition de p38α ciblée dans les CF de souris entraîne systématiquement une rupture du VG après l'induction d'un IM (17). Cette rupture était due à l'absence de formation d'une cicatrice chez 100 % des souris où p38α était inactivé (17). Cette opposition des résultats entre l'inhibition spécifique de p38α dans les CF et l'inhibition de MK2 suggère fortement qu'une voie régulée par la MAPK distincte de MK2 est essentielle pour éviter la rupture du ventricule.

Plusieurs autres expériences dans ce projet démontrent que la réponse inflammatoire a lieu dans le contexte d'un IM et ce malgré l'absence de MK2 et qu'il y a bien activation du processus de guérison, comme en témoigne l'observation d'une fibrose réparatrice chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Cela va à l'encontre de nos attentes, car des études avaient démontré que la réponse inflammatoire était diminuée significativement après l'injection de LPS (93, 196). D'abord, la Figure 8 (p. 84) illustre bien que la formation de la cicatrice est commencée puisque le dépôt de collagène augmente progressivement dans les tissus de l'infarctus, de façon similaire dans les deux groupes de souris. Cette augmentation du collagène indique que des

CF ont bien été recrutés dans la zone de l'infarctus, puis activés en MCF pour reconstruire la MEC. La Figure 12 (p. 104) vient supporter en partie comment la fibrose peut avoir lieu : la migration des CF est toujours possible malgré l'absence de MK2. L'activation de MK2 a été identifiée comme étant nécessaire au processus de migration cellulaire (82). Par contre, selon nos résultats, il semblerait qu'une voie alternative soit impliquée dans ce processus dans les CF MK2<sup>-/-</sup>, car l'absence de MK2 n'inhibe pas leur capacité à refermer l'espace créé par une égratignure en 24 h. Les voies impliquées dans la régulation de la migration cellulaire pourraient donc être différentes dans les tissus du myocarde par rapport aux autres modèles cellulaires étudiés tels que les fibroblastes embryonnaires de souris (100). L'une des possibilités serait que la voie de la kinase MK5 soit dominante dans les CF puisque des études dans notre laboratoire ont démontré que la migration cellulaire des CF MK5<sup>-/-</sup> était significativement inhibée dans les mêmes conditions expérimentales que celles présentées dans cette étude (119). Puisque MK5 peut être activée dans des conditions similaires à MK2, il est possible que cette autre MAPKAPK prenne la relève en l'absence de MK2 ou bien que ce soit cette voie qui soit principalement activée dans les CF. Les Figure 9 et Figure 10 (pp. 87 et 90) illustrent que le recrutement des macrophages et des neutrophiles, des joueurs d'une importance majeure dans la réponse inflammatoire, n'est pas altéré chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Ces événements sont d'autres indicateurs que la réponse inflammatoire est activée, même si MK2 n'est pas présent.

Dans la documentation, il est rapporté que l'expression des cytokines TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10 et IFN- $\gamma$  après l'injection de LPS est significativement diminuée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup> (57, 82). Cette diminution de cytokines pro-inflammatoires serait reliée à l'absence de MK2 qui ne peut plus inactiver l'activité de déstabilisation de l'ARNm par les protéines TTP et AUF1 (82, 83, 93, 102). De plus, il a été rapporté que MK2 est nécessaire pour la stabilisation des transcrits des membres de la famille MIP, COX-2, Csf2, TGF- $\beta$  et VEGF (57, 82, 83, 93, 102). Pourtant, nos données (Tableaux 3 à 18 (pp. i à xviii)) révèlent que l'abondance de l'ARNm des cytokines et des chimiokines impliquées dans la signalisation de la

réponse inflammatoire dans l'infarctus n'est pas significativement affectée par l'absence de MK2. En effet, l'abondance de l'ARNm de plusieurs chimiokines, même la famille MIP (CCL3, CCL4 et CXCL3), augmente dans tous les tissus, ce qui confirme la présence de signal pour la présence des cellules immunitaires présenté précédemment (Figure 9 et Figure 10, pp. 87 et 90). L'abondance de CCL3 et CCL4 n'est pas augmentée dans les tissus MK2<sup>-/-</sup> 3 jours post-IM alors que l'expression est augmentée significativement surtout dans les tissus sains MK2<sup>+/+</sup>. La situation est inversée dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM, puisque c'est dans les tissus de l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> seulement qu'une augmentation est détectées. La signalisation CXCL2 pour attirer les neutrophiles semble donc être perdue vers la fin de la phase inflammatoire, ce qui concorde avec la documentation (18, 28, 30, 37). Le recrutement des neutrophiles n'est plus nécessaire à ce stade et ils commencent à être phagocytés par les macrophages pour déclencher le processus anti-inflammatoire (18, 28, 30, 37). Maintenir la signalisation de CCL3 et CCL4 pourrait donc servir à prolonger le recrutement de monocytes qui pourront changer de phénotype afin devenir des macrophages M2 spécialisés dans la sécrétion de cytokines anti-inflammatoire et la réparation des tissus (18, 37).

La même chose peut être observée pour les interleukines IL-1 $\beta$  et IL-6 dont l'abondance est censée être fortement diminuée par l'absence de MK2. Une augmentation de leur ARNm a lieu dans les tissus MK2<sup>-/-</sup>, mais elle tend à être plus modérée surtout dans leurs tissus sains par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup> 3 jours post-IM puisqu'un moins grand nombre de gènes est activé. Par contre, l'inverse a lieu 5 jours post-IM où l'abondance de ces cytokines pro-inflammatoires est résorbée chez les souris MK2<sup>+/+</sup> alors qu'elle semble perdurer chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. IL-1 $\beta$  pourrait prolonger le recrutement des neutrophiles et des macrophages ainsi que la réponse de type 1 qui promeut la phagocytose (28, 152). Il est aussi possible de voir une augmentation de l'ARNm d'IL1rn, une protéine capable d'inhiber les effets d'IL-1, dans l'infarctus des deux génotypes 5 jours post-IM. IL-6 peut avoir des effets pro-inflammatoires, comme l'activation d'une grande variété de cellules, et anti-inflammatoires, tels que la prolifération des fibroblastes et la transformation des M1

en M2 lorsque l'interleukine est combinée avec IL-10 (28, 133). L'abondance d'IL-10, justement, est aussi augmentée de façon similaire entre les deux groupes 3 jours post-IM, mais son abondance est significativement augmentée seulement chez les souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM. Cela pourrait être associé à l'arrêt de la réponse inflammatoire plus lente ou prolongée chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. IL-27 est fortement exprimée particulièrement dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> 3 jours post-IM ce qui pourrait servir à antagoniser les effets pro-inflammatoires d'IL-6 (176). Donc, les interleukines pro-inflammatoires ne sont pas éliminées significativement chez les souris MK2<sup>-/-</sup>, mais leur expression semble être plus modérée et mieux localisée par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup>.

Contrairement à ce qui est attendu selon la documentation, CSF2, une cytokine sécrétée par les CF et les leucocytes pour stimuler le recrutement des macrophages et des neutrophiles, est particulièrement abondant dans l'infarctus MK2<sup>-/-</sup> 3 jours post-IM (82, 83). Cette abondance marquée pourrait expliquer la présence importante de neutrophiles et de macrophages dans les tissus MK2<sup>-/-</sup> illustrée dans les Figure 9 et Figure 10 (pp. 87 et 90) (133). L'ARNm de BMP2 est significativement augmenté dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup>, mais pas dans l'infarctus de MK2<sup>-/-</sup> ce qui pourrait être l'un des facteurs participant à l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales. La présence significative de BMP2 pourrait aussi avoir comme effet de diminuer la capacité des macrophages à différencier en M2 dans l'infarctus MK2<sup>+/+</sup> et alors freiner la réponse anti-inflammatoire (177). Cette abondance est perdue 5 jours post-IM. L'ARNm de Bmp7 est fortement diminué dans l'infarctus des deux génotypes 3 et 5 jours post-IM. Puisque cette protéine a un effet anti-fibrotique, la diminution de son abondance pourrait servir de mécanisme pour aider au développement de la fibrose réparatrice spécialement dans les tissus endommagés (177). Spp1 est une autre molécule fortement exprimée après une lésion musculaire (150). Elle participe au recrutement des macrophages et des neutrophiles et sa sécrétion par les macrophages régule positivement la production de fibrose (150). L'inhibition plus modérée de Bmp7 et l'abondance légèrement plus

faible de *Spp1* chez les souris  $MK2^{-/-}$  aurait donc le potentiel de limiter la fibrose et de les protéger contre un développement de fibrose pathologique.

L'abondance de l'ARNm de VEGFa et de TNF- $\alpha$  n'est pas affectée par l'absence de MK2 à partir de 3 et 5 jours post-IM. Il est possible que cette absence de différence soit due au temps auquel les échantillons ont été collectés. En effet, leur expression atteint un maximum dans les 12 premières heures après l'IM, puis retourne rapidement au niveau basal (28, 170). La période étudiée dépasse donc la fenêtre de temps où ces protéines ont une expression significativement augmentée (28, 170). De façon similaire, l'abondance de TGF- $\beta$  n'est pas affectée par l'absence de MK2.

TNFRS11b entre en compétition avec RANK pour lier TNFSF11 et peut donc servir d'inhibiteur pour la signalisation par le récepteur RANK (167). TNFSF11b est lié au remodelage et à la régulation des cellules T, alors que TNFSF11 est associé au recrutement des neutrophiles et à la sécrétion de protéases comme MMP9 (166, 167). L'abondance de TNFSF11 et TNFRS11b semble être plus importante dans les tissus sains des souris  $MK2^{+/+}$  que dans les tissus sains  $MK2^{-/-}$  3 jours post-IM. L'expression de ces ARNm serait donc plus localisée dans l'infarctus chez les souris  $MK2^{-/-}$ . L'expression de TNFSF11 semble être prolongée 5 jours post-IM chez les souris  $MK2^{+/+}$  ce qui pourrait corrélérer avec une activité protéolytique des neutrophiles importante.

Dans le cœur entier, les isoformes de p38MAPK les plus exprimés au niveau de l'ARNm et au niveau protéique sont p38 $\alpha$  et p38 $\gamma$ , suivi par p38 $\beta$  puis p38 $\delta$  à des niveaux beaucoup plus faibles (87). Nous avons démontré que le patron d'expression de l'ARNm de p38 $\beta$  est altéré après un IM, puisqu'une augmentation significative de l'abondance est détectée vers la fin de la phase inflammatoire, mais que cette augmentation n'a pas lieu en l'absence de MK2 (Figure 5, p. 71). Les rôles de p38 $\beta$  sont souvent regroupés avec ceux de p38 $\alpha$ , car p38 $\alpha$  est l'isoforme le plus exprimé et il n'existe pas d'inhibiteurs spécifiques de l'un ou l'autre des isoformes (89, 91, 94).



L'inhibition de p38 $\alpha$  et p38 $\beta$  dans le cadre de différentes expériences résulte souvent en données conflictuelles puisqu'il est impossible de distinguer quels effets sont reliés à quel isoforme (94, 206). Dernièrement, certaines distinctions fonctionnelles ont été apportées (94). Plusieurs décrivent l'activation de p38 $\alpha$  comme étant nuisible après une ischémie, car elle aggraverait l'étendue des dommages (94, 206). À l'inverse, p38 $\beta$  aurait un effet cardioprotecteur en limitant les dommages et l'énergie consommée dans les tissus ayant subi une ischémie (94). L'augmentation de l'ARNm de p38 $\beta$  5 jours après l'IM est présente seulement dans l'infarctus des souris MK2<sup>+/+</sup>. Cette abondance d'ARNm est spécifique aux tissus ischémiques puisqu'elle n'est pas présente dans les tissus sains du LV MK2<sup>+/+</sup>. Il serait nécessaire de déterminer si cette augmentation est reflétée au niveau protéique. Ces résultats démontrent que MK2 est impliqué dans la régulation de la transcription du gène p38 $\beta$  vers la fin de la phase inflammatoire post-IM. Cette augmentation de la transcription pourrait être directement régulée par l'activité de MK2 ou encore être causée par l'activation d'une voie qui entraînerait un besoin pour les effets de p38 $\beta$ . En effet, l'augmentation de l'abondance de l'ARNm n'a pas lieu en son absence.

Les souris où l'un des isoformes p38 $\beta$ , p38 $\gamma$  ou p38 $\delta$  est inhibé ne semblent pas souffrir d'effets néfastes (80, 87). Plusieurs pensent que cette absence d'effets serait due aux autres isoformes capables de pallier pour l'absence de l'isoforme inhibé car ils partageraient des rôles similaires (80, 87). Selon nos résultats, l'absence de MK2 et l'induction d'un IM n'altèrent pas le niveau d'expression d'ARNm des isoformes p38 $\gamma$  et p38 $\delta$ , mais il reste à établir si la même chose peut être observée au niveau protéique. En effet, la régulation de p38 $\alpha$  au niveau protéique reflète bien la nécessité de déterminer si le même type de régulation peut avoir lieu pour les autres isoformes de p38MAPK. Déterminer si leur expression protéique est affectée pourrait être intéressant particulièrement dans le cadre de l'isoforme p38 $\delta$  chez les souris MK2<sup>-/-</sup> puisqu'elle aurait le potentiel de pallier à l'absence de MK2. En effet, p38 $\delta$  est identifié comme étant impliqué dans l'expression de certaines cytokines pro-inflammatoires ainsi que dans l'apoptose et la

régénération des tissus (80, 85, 92). Étant donné qu'une réponse inflammatoire est présente chez les souris MK2<sup>-/-</sup> après un IM, la voie p38 $\delta$  pourrait être une piste alternative à explorer pour expliquer le phénomène. Une autre possibilité de voie pouvant être impliquée pour pallier à l'absence de MK2 pourrait être MK3, puisque cette kinase est capable de former un complexe avec p38 $\alpha$  et de réguler la stabilité d'ARNm dont la région 3'-UTR est riche en éléments AU lorsque MK2 n'est pas exprimée (82, 117). Cette voie pourrait donc participer à l'augmentation de p38 $\alpha$  observée dans l'infarctus des souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM. L'ensemble de nos résultats démontre donc que la réponse inflammatoire post-IM se déroule normalement chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. Les cellules inflammatoires sont recrutées dans la zone affectée, un début de fibrose peut être détecté, la taille de la blessure ne diffère pas et l'abondance de l'ARNm de cytokines impliquées dans la régulation de l'inflammation n'est pas diminuée de façon significative. Par contre, cette abondance d'ARNm serait plus localisée dans la zone de l'infarctus plutôt que de s'étendre dans les tissus sains. Le patron d'expression de l'ARNm des isoformes de p38MAPK semble indiquer que certaines voies en aval telles que p38 $\beta$  pourraient être activées différemment lorsque MK2 n'est pas présent. De plus, certains avantages sont associés à l'absence de MK2 : la survie post-IM est améliorée significativement et les structures du VG étaient mieux conservées.

Une nouvelle piste thérapeutique à suivre serait de déterminer si l'inhibition de MK2 aurait le potentiel de diminuer les risques de mortalité chez les individus plus âgés, car il serait possible que ce type de thérapie soit applicable seulement chez les plus jeunes. En effet, il a été démontré que, lorsqu'un IM est induit chez des souris dont l'âge dépasse les 18 semaines, les risques de mortalité augmentaient de façon plus significative principalement dans les premiers jours après l'IM (207). Cette augmentation des risques serait reliée à une apoptose plus importante des CM dans la zone affectée par l'ischémie en comparaison aux souris âgées de 12 semaines (207). Le vieillissement d'un animal entraînerait en fait un gain en complexité dans le profil d'expression des voies pro-apoptotiques et anti-apoptotique activées par un IM

(207). L'une de ces nouvelles voies exprimées impliquerait MEKK1 l'un des acteurs de la cascade d'activation de MK2 (207). L'inhibition de MK2 aurait alors comme potentiel de limiter la réponse d'apoptose en diminuant la force du signal activé par MEKK1. Par contre, une augmentation de l'âge est aussi associée à une réponse inflammatoire moins robuste, ce qui ralentit le processus de guérison après une blessure (208). La phagocytose des débris, le recrutement des neutrophiles et l'infiltration des CMF dans l'infarctus pour sécréter le collagène, par exemple, sont tous moins efficaces chez les souris en sénescence (208). Il serait donc possible que l'inhibition de MK2 soit moins appropriée chez les individus plus âgés en ralentissant le processus de fibrose réparatrice. En effet, même si les effets anti-inflammatoires semblent être modérés chez les souris âgées de 12 semaines, un déséquilibre plus marqué pourrait avoir lieu chez les souris de plus de 18 semaines .

Une autre voie thérapeutique pertinente à garder en vue est la possibilité d'utiliser un inhibiteur de MK2 dans le cadre de la gestion des symptômes du diabète de type 2. Les résultats démontrent que l'absence de la kinase n'a pas d'effets négatifs sur le cours de la phase inflammatoire après un IM, un problème de santé très fréquent chez les diabétiques (127, 128). Évidemment, l'évaluation des effets de l'absence de MK2 sur une plus longue période est nécessaire afin de définir si les autres étapes du processus de réparation post-IM se déroulent adéquatement. Une étude à plus long terme permettrait de consolider le potentiel thérapeutique de l'inhibition de MK2 pour améliorer la survie après un IM ou pour contrôler le diabète de type 2,

## Conclusion

Cette étude a démontré que MK2 ne joue pas un rôle majeur dans la régulation de la réponse inflammatoire des cellules du myocarde après un IM puisque la réponse inflammatoire n'a pas été inhibée chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. En effet, le recrutement des macrophages et des neutrophiles n'a pas été altéré dans les tissus MK2<sup>-/-</sup>. De plus, l'absence de l'activité de MK2 n'a pas entraîné la diminution significative de l'ARNm des cytokines identifiées comme étant fortement diminuées en l'absence de MK2 dans d'autres contextes d'inflammation tels que l'injection de LPS. Les interleukines régulées par MK2 comme IL-6, IL-10 et IL-1 $\beta$  ne sont pas régulées négativement dans le myocarde. Les voies impliquées dans le modèle imitant l'inflammation due à une infection bactérienne par le LPS pourraient donc différer de celles qui régulent l'inflammation due à des dommages stériles causés par un IM.

Les fonctions cardiaques au niveau du VG et du VD ont subi une dégradation similaire entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup>, mais certains paramètres tendent à se détériorer de façon moins importante chez les souris MK2<sup>-/-</sup>. De plus, la fibrose réparatrice semble pouvoir être activée adéquatement puisque l'augmentation du collagène dans les tissus de l'infarctus évolue de façon similaire entre les souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> ce qui est représentatif du recrutement des CF et de leur activation en MCF dans la zone touchée afin de former une cicatrice. La possibilité de l'implication d'une voie alternative dans la migration des CF a été soulevée par le fait que les CF MK2<sup>-/-</sup> ont performé de façon similaire aux CF MK2<sup>+/+</sup> lors d'un test de cicatrisation. Or, lorsque des CF MK5<sup>-/-</sup> sont soumis aux mêmes conditions expérimentales, la migration est significativement ralentie après 24 h (119). Ceci pourrait donc être une piste pour identifier quelles voies sont potentiellement impliquées dans la régulation des CF MK2<sup>-/-</sup> dans l'environnement du myocarde.

Certains avantages ont pu être associés à l'absence de MK2 dans le contexte de la phase inflammatoire post-IM. L'avantage le plus évident est le taux de survie significativement plus élevé chez les souris MK2<sup>-/-</sup> lors des 5 premiers jours après

l'induction de l'IM. Il semble qu'elles soient protégées contre la rupture du myocarde, le résultat fatal d'une réponse inflammatoire absente ou trop importante qui a eu lieu chez 20 % des souris MK2<sup>+/+</sup> au cours de la même période. De plus, l'évaluation de la structure du VG a révélé qu'elle était mieux conservée chez les souris MK2<sup>-/-</sup> 5 jours post-IM. Il serait donc intéressant de voir si cette conservation de la structure du VG perdue sur une période de temps post-IM plus étendue et si cela pourrait entraîner une amélioration des fonctions cardiaques par rapport aux souris MK2<sup>+/+</sup>.

Plusieurs voies de signalisation sont impliquées dans la régulation de l'inflammation après un IM telles que MAPK et NF-κB suivant l'activation des récepteurs TLR présents sur les macrophages. Il est donc possible que MK2 ne soit pas l'acteur principal dans l'induction l'inflammation après un IM, puisque cette réponse poursuit son cours normalement malgré l'absence de la kinase. L'altération du patron d'expression de l'ARNm des p38MAPK pourrait signifier que d'autres voies sont responsables de la réponse inflammatoire lorsque la voie de MK2 est inhibée. En effet, lorsque p38α est inhibé de façon ciblée dans les CF de souris, cela entraîne systématiquement une rupture du VG dans les 5 jours après l'induction d'un IM (17). La rupture était due à l'absence de formation d'une cicatrice ce qui est particulièrement révélateur quant à l'importance de p38α dans le processus de guérison post-IM.

Au final, la protéine kinase MK2 n'est pas essentielle au bon déroulement de la phase inflammatoire puisque la signalisation des cytokines n'a pas été altérée de façon critique, le recrutement des cellules inflammatoires se déroule de façon normale, les premiers indices de fibrose peuvent être observés et il n'y a pas d'accélération de la dégradation des fonctions cardiaques. En fait, il se pourrait même que l'absence de MK2 apporte certains avantages. D'abord, l'inhibition de MK2 pourrait aider à localiser la réponse dans une zone plus restreinte, puisque le patron d'expression des cytokines des souris MK2<sup>-/-</sup> illustre une moins grande abondance de l'ARNm de cytokines impliquées dans l'inflammation dans leurs tissus sains. Ensuite, la survie des souris MK2<sup>-/-</sup> lors de la phase inflammatoire post-IM était

significativement améliorée puisqu'aucun décès n'a été comptabilisé lors de cette période. De plus, la structure de leur VG était mieux conservée après les 5 premiers jours. Si cette conservation perdure au cours des prochaines phases de guérison, cela pourrait se refléter positivement sur les fonctions du myocarde.

Des études précédentes ont démontré que l'inhibition de MK2 dans l'organisme entier améliorerait les symptômes associés au diabète tels que la résistance à l'insuline et la perturbation du métabolisme des lipides en plus de protéger contre la dégradation des fonctions cardiaques (104, 126). Les patients atteints du diabète sont plus à risque de développer un IM (127). Les répercussions de l'utilisation d'un inhibiteur à action générale de MK2 sur le processus de guérison après un tel événement devaient donc être définies. Les résultats de cette étude révèlent que, contrairement à ce qui serait attendu, l'absence de MK2 n'a pas d'effets néfastes sur le processus inflammatoire après un IM. En fait, l'usage d'un inhibiteur de MK2 aurait le potentiel de diminuer les chances de rupture cardiaque lors de la première semaine après un IM, car l'absence de MK2 semble restreindre la réponse inflammatoire sans pour autant empêcher son bon déroulement. La prochaine étape sera d'étudier l'absence de MK2 sur une plus longue période de temps pour déterminer les répercussions possibles sur le processus de la fibrose réparatrice ainsi que sur l'altération de la structure et des fonctions cardiaques. Cela permettrait d'établir si un usage à long terme d'un inhibiteur de MK2 serait envisageable ou si elle serait utile seulement à court terme.

## Bibliographie

1. Segers VFM, Brutsaert DL, De Keulenaer GW. Cardiac Remodeling: Endothelial Cells Have More to Say Than Just NO. *Front Physiol.* 2018;9:382.
2. Baudino TA, Carver W, Giles W, Borg TK. Cardiac fibroblasts: friend or foe? *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(3):H1015-26.
3. Devalla HD, Passier R. Cardiac differentiation of pluripotent stem cells and implications for modeling the heart in health and disease. *Sci Transl Med.* 2018;10(435).
4. Katz AM. *Physiology of the Heart.* Third Edition ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2000 2000. 576 p.
5. Woodcock EA, Matkovich SJ. Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(9):1746-51.
6. Goodenough DA, Paul DL. Gap junctions. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(1):a002576.
7. Frago-Medina J, Zarain-Herzberg A. SERCA2a: its role in the development of heart failure and as a potential therapeutic target. *Research Reports in Clinical Cardiology.* 2014;2014(5):43-55.
8. Park WJ, Oh JG. SERCA2a: a prime target for modulation of cardiac contractility during heart failure. *BMB Rep.* 2013;46(5):237-43.
9. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost.* 2007;97(5):738-47.
10. Leri A, Rota M, Pasqualini FS, Goichberg P, Anversa P. Origin of cardiomyocytes in the adult heart. *Circ Res.* 2015;116(1):150-66.
11. Shinde AV, Frangogiannis NG. Fibroblasts in myocardial infarction: a role in inflammation and repair. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;70:74-82.
12. . !!! INVALID CITATION !!! .
13. Ivey MJ, Kuwabara JT, Pai JT, Moore RE, Sun Z, Tallquist MD. Resident fibroblast expansion during cardiac growth and remodeling. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;114:161-74.

14. Li Y, Li Z, Zhang C, Li P, Wu Y, Wang C, et al. Cardiac Fibroblast-Specific Activating Transcription Factor 3 Protects Against Heart Failure by Suppressing MAP2K3-p38 Signaling. *Circulation*. 2017.
15. Horn MA, Trafford AW. Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;93:175-85.
16. Ma Y, Iyer RP, Jung M, Czubyt MP, Lindsey ML. Cardiac Fibroblast Activation Post-Myocardial Infarction: Current Knowledge Gaps. *Trends Pharmacol Sci*. 2017;38(5):448-58.
17. Molkentin JD, Bugg D, Ghearing N, Dorn LE, Kim P, Sargent MA, et al. Fibroblast-Specific Genetic Manipulation of p38 MAPK in vivo Reveals its Central Regulatory Role in Fibrosis. *Circulation*. 2017.
18. Humeres C, Vivar R, Boza P, Munoz C, Bolivar S, Anfossi R, et al. Cardiac fibroblast cytokine profiles induced by proinflammatory or profibrotic stimuli promote monocyte recruitment and modulate macrophage M1/M2 balance in vitro. *J Mol Cell Cardiol*. 2016.
19. Hendrickx J, Doggen K, Weinberg EO, Van Tongelen P, Fransen P, De Keulenaer GW. Molecular diversity of cardiac endothelial cells in vitro and in vivo. *Physiol Genomics*. 2004;19(2):198-206.
20. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: life style intervention. *Biomed Res Int*. 2014;2014:801896.
21. Chen Q, Zhang H, Liu Y, Adams S, Eilken H, Stehling M, et al. Endothelial cells are progenitors of cardiac pericytes and vascular smooth muscle cells. *Nat Commun*. 2016;7:12422.
22. Saleh M, Ambrose JA. Understanding myocardial infarction. *F1000Res*. 2018;7.
23. Ng LG, Ostuni R, Hidalgo A. Heterogeneity of neutrophils. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(4):255-65.
24. Ley K, Hoffman HM, Kubes P, Cassatella MA, Zychlinsky A, Hedrick CC, et al. Neutrophils: New insights and open questions. *Sci Immunol*. 2018;3(30).



25. Sugimoto MA, Ribeiro ALC, Costa BRC, Vago JP, Lima KM, Carneiro FS, et al. Plasmin and plasminogen induce macrophage reprogramming and regulate key steps of inflammation resolution via annexin A1. *Blood*. 2017;129(21):2896-907.
26. Varol C, Mildner A, Jung S. Macrophages: development and tissue specialization. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:643-75.
27. Mouton AJ, DeLeon-Pennell KY, Rivera Gonzalez OJ, Flynn ER, Freeman TC, Saucerman JJ, et al. Mapping macrophage polarization over the myocardial infarction time continuum. *Basic Res Cardiol*. 2018;113(4):26.
28. Leonard WJ. *Cytokines: From Basic Mechanisms of Cellular Control to New Therapeutics*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2018. 470 p.
29. Nah DY, Rhee MY. The inflammatory response and cardiac repair after myocardial infarction. *Korean Circ J*. 2009;39(10):393-8.
30. Lech M, Anders HJ. Macrophages and fibrosis: How resident and infiltrating mononuclear phagocytes orchestrate all phases of tissue injury and repair. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1832(7):989-97.
31. Sager HB, Kessler T, Schunkert H. Monocytes and macrophages in cardiac injury and repair. *J Thorac Dis*. 2017;9(Suppl 1):S30-S5.
32. Guernonprez P, Helft J. Inflammasome activation: a monocyte lineage privilege. *Nat Immunol*. 2019;20(4):383-5.
33. Nawaito SA, Dingar D, Sahadevan P, Hussein B, Sahmi F, Shi Y, et al. MK5 haploinsufficiency attenuates hypertrophy and preserves diastolic function during remodeling induced by chronic pressure overload in the mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;313(1):H46-H58.
34. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep*. 2014;6:13.
35. Koh YC, Yang G, Lai CS, Weerawatanakorn M, Pan MH. Chemopreventive Effects of Phytochemicals and Medicines on M1/M2 Polarized Macrophage Role in Inflammation-Related Diseases. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8).
36. Korn D, Frasch SC, Fernandez-Boyanapalli R, Henson PM, Bratton DL. Modulation of macrophage efferocytosis in inflammation. *Front Immunol*. 2011;2:57.

37. Garbers C, Heink S, Korn T, Rose-John S. Interleukin-6: designing specific therapeutics for a complex cytokine. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(6):395-412.
38. Ma Y, Mouton AJ, Lindsey ML. Cardiac macrophage biology in the steady-state heart, the aging heart, and following myocardial infarction. *Transl Res.* 2018;191:15-28.
39. Elliott MR, Koster KM, Murphy PS. Efferocytosis Signaling in the Regulation of Macrophage Inflammatory Responses. *J Immunol.* 2017;198(4):1387-94.
40. Proto JD, Doran AC, Gusarova G, Yurdagul A, Jr., Sozen E, Subramanian M, et al. Regulatory T Cells Promote Macrophage Efferocytosis during Inflammation Resolution. *Immunity.* 2018;49(4):666-77 e6.
41. Liu K, Zhao E, Ilyas G, Lalazar G, Lin Y, Haseeb M, et al. Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization. *Autophagy.* 2015;11(2):271-84.
42. Qiu P, Liu Y, Zhang J. Review: the Role and Mechanisms of Macrophage Autophagy in Sepsis. *Inflammation.* 2019;42(1):6-19.
43. Vural A, Kehrl JH. Autophagy in macrophages: impacting inflammation and bacterial infection. *Scientifica (Cairo).* 2014;2014:825463.
44. Li AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med.* 2002;8(11):1235-42.
45. Jeong SJ, Lee MN, Oh GT. The Role of Macrophage Lipophagy in Reverse Cholesterol Transport. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2017;32(1):41-6.
46. Tabas I. Macrophage apoptosis in atherosclerosis: consequences on plaque progression and the role of endoplasmic reticulum stress. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(9):2333-9.
47. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res.* 2014;114(12):1852-66.
48. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VA, Grechko AV, Orekhov AN. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis. *J Mol Med (Berl).* 2017;95(11):1153-65.

49. Ouimet M, Franklin V, Mak E, Liao X, Tabas I, Marcel YL. Autophagy regulates cholesterol efflux from macrophage foam cells via lysosomal acid lipase. *Cell Metab.* 2011;13(6):655-67.
50. Collier P, Watson CJ, van Es MH, Phelan D, McGorrian C, Tolan M, et al. Getting to the heart of cardiac remodeling; how collagen subtypes may contribute to phenotype. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;52(1):148-53.
51. de Souza RR. Aging of myocardial collagen. *Biogerontology.* 2002;3(6):325-35.
52. Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix metalloproteinases and myocardial infarction. *Can J Cardiol.* 2007;23(9):727-33.
53. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Glob Heart.* 2012;7(4):275-95.
54. Cleutjens JP, Blankesteijn WM, Daemen MJ, Smits JF. The infarcted myocardium: simply dead tissue, or a lively target for therapeutic interventions. *Cardiovasc Res.* 1999;44(2):232-41.
55. Stieger P, Daniel JM, Tholen C, Dutzmann J, Knopp K, Gunduz D, et al. Targeting of Extracellular RNA Reduces Edema Formation and Infarct Size and Improves Survival After Myocardial Infarction in Mice. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(6).
56. van den Borne SW, Diez J, Blankesteijn WM, Verjans J, Hofstra L, Narula J. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(1):30-7.
57. Moens U, Kostenko S, Sveinbjornsson B. The Role of Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinases (MAPKAPKs) in Inflammation. *Genes (Basel).* 2013;4(2):101-33.
58. Takawale A, Zhang P, Azad A, Wang W, Wang X, Murray AG, et al. Myocardial overexpression of TIMP3 following myocardial infarction exerts beneficial effects through promoting angiogenesis and suppressing early proteolysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017:ajpheart 00108 2017.
59. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Blaxall BC. Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. *Circ Res.* 2016;118(6):1021-40.

60. Samak M, Fatullayev J, Sabashnikov A, Zeriuoh M, Schmack B, Farag M, et al. Cardiac Hypertrophy: An Introduction to Molecular and Cellular Basis. *Med Sci Monit Basic Res.* 2016;22:75-9.
61. Gao XM, Ming Z, Su Y, Fang L, Kiriazis H, Xu Q, et al. Infarct size and post-infarct inflammation determine the risk of cardiac rupture in mice. *Int J Cardiol.* 2010;143(1):20-8.
62. Maher JF, Mallory GK, Laurenz GA. Rupture of the heart after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1956;255(1):1-10.
63. Mishra PK, Pathi V, Murday A. Post myocardial infarction left ventricular free wall rupture. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2007;6(1):39-42.
64. Bates ER. Reperfusion therapy reduces the risk of myocardial rupture complicating ST-elevation myocardial infarction. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(5):e001368.
65. Battaloglu B, Erdil N, Nisanoglu V. Left ventricular aneurysmal repair within 30 days after acute myocardial infarction: early and mid-term outcomes. *Tex Heart Inst J.* 2007;34(2):154-9.
66. Levene A. Spontaneous rupture of the heart. A historical review. *Postgrad Med J.* 1962;38:334-7.
67. Okabe T, Julien HM, Kaliyadan AG, Siu H, Marhefka GD. Prompt Recognition of Left Ventricular Free-Wall Rupture Aided by the Use of Contrast Echocardiography. *Tex Heart Inst J.* 2015;42(5):474-8.
68. Ali MR, Salim Hossain M, Islam MA, Saiful Islam Arman M, Sarwar Raju G, Dasgupta P, et al. Aspect of thrombolytic therapy: a review. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:586510.
69. Becker RC, Hochman JS, Cannon CP, Spencer FA, Ball SP, Rizzo MJ, et al. Fatal cardiac rupture among patients treated with thrombolytic agents and adjunctive thrombin antagonists: observations from the Thrombolysis and Thrombin Inhibition in Myocardial Infarction 9 Study. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33(2):479-87.
70. Lijnen HR, Collen D. Fibrinolytic agents: mechanisms of activity and pharmacology. *Thromb Haemost.* 1995;74(1):387-90.

71. Kendall RW, DeWood MA. Postinfarction cardiac rupture: surgical success and review of the literature. *Ann Thorac Surg.* 1978;25(4):311-5.
72. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2011;75(1):50-83.
73. Kim EK, Choi EJ. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(4):396-405.
74. Coulombe P, Meloche S. Atypical mitogen-activated protein kinases: structure, regulation and functions. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1773(8):1376-87.
75. Arthur JS, Ley SC. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(9):679-92.
76. Dingar D, Benoit MJ, Mamarbachi AM, Villeneuve LR, Gillis MA, Grandy S, et al. Characterization of the expression and regulation of MK5 in the murine ventricular myocardium. *Cell Signal.* 2010;22(7):1063-75.
77. Fiore M, Forli S, Manetti F. Targeting Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinase 2 (MAPKAPK2, MK2): Medicinal Chemistry Efforts To Lead Small Molecule Inhibitors to Clinical Trials. *J Med Chem.* 2016;59(8):3609-34.
78. Gurgis FM, Ziaziaris W, Munoz L. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in neuroinflammation, heat shock protein 27 phosphorylation, and cell cycle: role and targeting. *Mol Pharmacol.* 2014;85(2):345-56.
79. Gomez-Gutierrez P, Campos PM, Vega M, Perez JJ. Identification of a Novel Inhibitory Allosteric Site in p38alpha. *PLoS One.* 2016;11(11):e0167379.
80. Risco A, Cuenda A. New Insights into the p38gamma and p38delta MAPK Pathways. *J Signal Transduct.* 2012;2012:520289.
81. Fan W, Gao XK, Rao XS, Shi YP, Liu XC, Wang FY, et al. Hsp70 interacts with MAPK-activated protein kinase 2 to regulate p38MAPK stability and myoblast differentiation during skeletal muscle regeneration. *Mol Cell Biol.* 2018.
82. Soni S, Anand P, Padwad YS. MAPKAPK2: the master regulator of RNA-binding proteins modulates transcript stability and tumor progression. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):121.

83. Khabar KS. Hallmarks of cancer and AU-rich elements. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2017;8(1).
84. Tanaka T, Iino M, Goto K. Sec6 enhances cell migration and suppresses apoptosis by elevating the phosphorylation of p38 MAPK, MK2, and HSP27. *Cell Signal*. 2018;49:1-16.
85. Sahu V, Nigam L, Agnihotri V, Gupta A, Shekhar S, Subbarao N, et al. Diagnostic Significance of p38 Isoforms (p38alpha, p38beta, p38gamma, p38delta) in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Comparative Serum Level Evaluation and Design of Novel Peptide Inhibitor Targeting the Same. *Cancer Res Treat*. 2019;51(1):313-25.
86. Zarubin T, Han J. Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Res*. 2005;15(1):11-8.
87. Dingar D, Merlen C, Grandy S, Gillis MA, Villeneuve LR, Mamarbachi AM, et al. Effect of pressure overload-induced hypertrophy on the expression and localization of p38 MAP kinase isoforms in the mouse heart. *Cell Signal*. 2010;22(11):1634-44.
88. Trempelec N, Dave-Coll N, Nebreda AR. SnapShot: p38 MAPK signaling. *Cell*. 2013;152(3):656- e1.
89. Cuenda A, Rousseau S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1773(8):1358-75.
90. Bageghni SA, Hemmings KE, Zava N, Denton CP, Porter KE, Ainscough JFX, et al. Cardiac fibroblast-specific p38alpha MAP kinase promotes cardiac hypertrophy via a putative paracrine interleukin-6 signaling mechanism. *FASEB J*. 2018:fj201701455RR.
91. O'Keefe SJ, Mudgett JS, Cupo S, Parsons JN, Chartrain NA, Fitzgerald C, et al. Chemical genetics define the roles of p38alpha and p38beta in acute and chronic inflammation. *J Biol Chem*. 2007;282(48):34663-71.
92. O'Callaghan C, Fanning LJ, Barry OP. p38delta MAPK: Emerging Roles of a Neglected Isoform. *Int J Cell Biol*. 2014;2014:272689.

93. Singh RK, Najmi AK, Dastidar SG. Biological functions and role of mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2 (MK2) in inflammatory diseases. *Pharmacol Rep.* 2017;69(4):746-56.
94. Cross HR, Li M, Petrich BG, Murphy E, Wang Y, Steenbergen C. Effect of p38 MAP kinases on contractility and ischemic injury in intact heart. *Acta Physiol Hung.* 2009;96(3):307-23.
95. Leestemaker Y, de Jong A, Witting KF, Penning R, Schuurman K, Rodenko B, et al. Proteasome Activation by Small Molecules. *Cell Chem Biol.* 2017;24(6):725-36 e7.
96. Lee JC, Kumar S, Griswold DE, Underwood DC, Votta BJ, Adams JL. Inhibition of p38 MAP kinase as a therapeutic strategy. *Immunopharmacology.* 2000;47(2-3):185-201.
97. Singh RK, Diwan M, Dastidar SG, Najmi AK. Differential effect of p38 and MK2 kinase inhibitors on the inflammatory and toxicity biomarkers in vitro. *Hum Exp Toxicol.* 2018;37(5):521-31.
98. Cheung PC, Campbell DG, Nebreda AR, Cohen P. Feedback control of the protein kinase TAK1 by SAPK2a/p38alpha. *EMBO J.* 2003;22(21):5793-805.
99. Menon MB, Gropengiesser J, Fischer J, Novikova L, Deuretzbacher A, Lafera J, et al. p38(MAPK)/MK2-dependent phosphorylation controls cytotoxic RIPK1 signalling in inflammation and infection. *Nat Cell Biol.* 2017;19(10):1248-59.
100. Kotlyarov A, Yannoni Y, Fritz S, Laass K, Telliez JB, Pitman D, et al. Distinct cellular functions of MK2. *Mol Cell Biol.* 2002;22(13):4827-35.
101. Huang CK, Zhan L, Ai Y, Jongstra J. LSP1 is the major substrate for mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in human neutrophils. *J Biol Chem.* 1997;272(1):17-9.
102. Menon MB, Gaestel M. MK2-TNF-Signaling Comes Full Circle. *Trends Biochem Sci.* 2017.
103. Kostenko S, Dumitriu G, Moens U. Tumour promoting and suppressing roles of the atypical MAP kinase signalling pathway ERK3/4-MK5. *J Mol Signal.* 2012;7(1):9.

104. Ruiz M, Coderre L, Lachance D, Houde V, Martel C, Thompson Legault J, et al. MK2 Deletion in Mice Prevents Diabetes-Induced Perturbations in Lipid Metabolism and Cardiac Dysfunction. *Diabetes*. 2016;65(2):381-92.
105. Fujino A, Fukushima K, Kubota T, Matsumoto Y, Takimoto-Kamimura M. Structure of the beta-form of human MK2 in complex with the non-selective kinase inhibitor TEI-L03090. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 2013;69(Pt 12):1344-8.
106. Cuesta R, Laroia G, Schneider RJ. Chaperone hsp27 inhibits translation during heat shock by binding eIF4G and facilitating dissociation of cap-initiation complexes. *Genes Dev*. 2000;14(12):1460-70.
107. Pereira M, Tome D, Domingues AS, Varanda AS, Paulo C, Santos MAS, et al. A Fluorescence-Based Sensor Assay that Monitors General Protein Aggregation in Human Cells. *Biotechnol J*. 2018;13(4):e1700676.
108. Shiroto K, Otani H, Yamamoto F, Huang CK, Maulik N, Das DK. MK2<sup>-/-</sup> gene knockout mouse hearts carry anti-apoptotic signal and are resistant to ischemia reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;38(1):93-7.
109. Vedula P, Kashina A. The makings of the 'actin code': regulation of actin's biological function at the amino acid and nucleotide level. *J Cell Sci*. 2018;131(9).
110. Dogterom M, Koenderink GH. Actin-microtubule crosstalk in cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019;20(1):38-54.
111. Gaestel M. What goes up must come down: molecular basis of MAPKAP kinase 2/3-dependent regulation of the inflammatory response and its inhibition. *Biol Chem*. 2013;394(10):1301-15.
112. Clark AR, Dean JL. The control of inflammation via the phosphorylation and dephosphorylation of tristetraprolin: a tale of two phosphatases. *Biochemical Society Transactions*. 2016;44(5):1321-37.
113. Li ML, Defren J, Brewer G. Hsp27 and F-box protein beta-TrCP promote degradation of mRNA decay factor AUF1. *Mol Cell Biol*. 2013;33(11):2315-26.
114. Streicher JM, Ren S, Herschman H, Wang Y. MAPK-activated protein kinase-2 in cardiac hypertrophy and cyclooxygenase-2 regulation in heart. *Circ Res*. 2010;106(8):1434-43.



115. Scharf M, Neef S, Freund R, Geers-Knorr C, Franz-Wachtel M, Brandis A, et al. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinases 2 and 3 regulate SERCA2a expression and fiber type composition to modulate skeletal muscle and cardiomyocyte function. *Mol Cell Biol.* 2013;33(13):2586-602.
116. Houslay KF, Christian F, MacLeod R, Adams DR, Houslay MD, Baillie GS. Identification of a multifunctional docking site on the catalytic unit of phosphodiesterase-4 (PDE4) that is utilised by multiple interaction partners. *Biochem J.* 2016.
117. Ronkina N, Kotlyarov A, Dittrich-Breiholz O, Kracht M, Hitti E, Milarski K, et al. The mitogen-activated protein kinase (MAPK)-activated protein kinases MK2 and MK3 cooperate in stimulation of tumor necrosis factor biosynthesis and stabilization of p38 MAPK. *Mol Cell Biol.* 2007;27(1):170-81.
118. Shiryaev A, Dumitriu G, Moens U. Distinct roles of MK2 and MK5 in cAMP/PKA- and stress/p38MAPK-induced heat shock protein 27 phosphorylation. *J Mol Signal.* 2011;6(1):4.
119. Nawaito SA, Sahadevan P, Clavet-Lanthier ME, Pouliot P, Sahmi F, Shi Y, et al. MK5 haploinsufficiency decreases collagen deposition and scar size during post-myocardial infarction wound repair. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019;316(6):H1281-H96.
120. Ramana KV, Fadl AA, Tammali R, Reddy AB, Chopra AK, Srivastava SK. Aldose reductase mediates the lipopolysaccharide-induced release of inflammatory mediators in RAW264.7 murine macrophages. *J Biol Chem.* 2006;281(44):33019-29.
121. Yucel G, Zhao Z, El-Battrawy I, Lan H, Lang S, Li X, et al. Lipopolysaccharides induced inflammatory responses and electrophysiological dysfunctions in human-induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Sci Rep.* 2017;7(1):2935.
122. Tucureanu MM, Rebleanu D, Constantinescu CA, Deleanu M, Voicu G, Butoi E, et al. Lipopolysaccharide-induced inflammation in monocytes/macrophages is blocked by liposomal delivery of Gi-protein inhibitor. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:63-76.
123. D'Angelo B, Astarita C, Boffo S, Massaro-Giordano M, Antonella Ianuzzi C, Caporaso A, et al. LPS-induced inflammatory response triggers cell cycle reactivation

- in murine neuronal cells through retinoblastoma proteins induction. *Cell Cycle*. 2017;16(24):2330-6.
124. Shen H, Kreisel D, Goldstein DR. Processes of sterile inflammation. *J Immunol*. 2013;191(6):2857-63.
125. Chen GY, Nunez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(12):826-37.
126. Ruiz M, Coderre L, Allen BG, Rosiers CD. Protecting the heart through MK2 modulation, toward a role in diabetic cardiomyopathy and lipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2017.
127. Fisher M. Diabetes and myocardial infarction. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 1999;13(2):331-43.
128. Jacoby RM, Nesto RW. Acute myocardial infarction in the diabetic patient: pathophysiology, clinical course and prognosis. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20(3):736-44.
129. Murcia AM, Hennekens CH, Lamas GA, Jimenez-Navarro M, Rouleau JL, Flaker GC, et al. Impact of diabetes on mortality in patients with myocardial infarction and left ventricular dysfunction. *Arch Intern Med*. 2004;164(20):2273-9.
130. Oberst A. MK2 balances inflammation and cell death. *Nat Cell Biol*. 2017;19(10):1150-2.
131. Eming SA, Wynn TA, Martin P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science*. 2017;356(6342):1026-30.
132. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007;45(2):27-37.
133. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Cramer R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(4):984-1010.
134. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-kappaB signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2.
135. Seif F, Khoshmirsafa M, Aazami H, Mohsenzadegan M, Sedighi G, Bahar M. The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells. *Cell Commun Signal*. 2017;15(1):23.

136. Macias MJ, Martin-Malpartida P, Massague J. Structural determinants of Smad function in TGF-beta signaling. *Trends Biochem Sci.* 2015;40(6):296-308.
137. Hughes CE, Nibbs RJB. A guide to chemokines and their receptors. *FEBS J.* 2018;285(16):2944-71.
138. Graves DT, Jiang Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995;6(2):109-18.
139. Cavalera M, Frangogiannis NG. Targeting the chemokines in cardiac repair. *Curr Pharm Des.* 2014;20(12):1971-9.
140. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity.* 2013;39(6):1003-18.
141. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(10):a016295.
142. Unver N, McAllister F. IL-6 family cytokines: Key inflammatory mediators as biomarkers and potential therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018;41:10-7.
143. Fuster JJ, Walsh K. The good, the bad, and the ugly of interleukin-6 signaling. *EMBO J.* 2014;33(13):1425-7.
144. Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, Vogt MC, Ruud J, Nguyen KD, et al. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. *Nat Immunol.* 2014;15(5):423-30.
145. Kopitar-Jerala N. The Role of Interferons in Inflammation and Inflammasome Activation. *Front Immunol.* 2017;8:873.
146. Rauch I, Muller M, Decker T. The regulation of inflammation by interferons and their STATs. *JAKSTAT.* 2013;2(1):e23820.
147. Ank N, West H, Bartholdy C, Eriksson K, Thomsen AR, Paludan SR. Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo. *J Virol.* 2006;80(9):4501-9.
148. Espinosa V, Dutta O, McElrath C, Du P, Chang YJ, Cicciarelli B, et al. Type III interferon is a critical regulator of innate antifungal immunity. *Sci Immunol.* 2017;2(16).

149. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8-27.
150. Pagel CN, Wasgewatte Wijesinghe DK, Taghavi Esfandouni N, Mackie EJ. Osteopontin, inflammation and myogenesis: influencing regeneration, fibrosis and size of skeletal muscle. *J Cell Commun Signal.* 2014;8(2):95-103.
151. Miao X, Leng X, Zhang Q. The Current State of Nanoparticle-Induced Macrophage Polarization and Reprogramming Research. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2).
152. Spellberg B, Edwards JE, Jr. Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 2001;32(1):76-102.
153. Pare A, Mailhot B, Levesque SA, Juzwik C, Ignatius Arokia Doss PM, Lecuyer MA, et al. IL-1beta enables CNS access to CCR2(hi) monocytes and the generation of pathogenic cells through GM-CSF released by CNS endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(6):E1194-E203.
154. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(11):762-74.
155. Soehnlein O, Lindbom L, Weber C. Mechanisms underlying neutrophil-mediated monocyte recruitment. *Blood.* 2009;114(21):4613-23.
156. Tian M, Yuan YC, Li JY, Gionfriddo MR, Huang RC. Tumor necrosis factor-alpha and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review. *Chronic Dis Transl Med.* 2015;1(1):18-26.
157. Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, Reynolds RS, Young JL, Schonbeck U. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. *J Exp Med.* 2002;195(2):245-57.
158. Voronov E, Carmi Y, Apte RN. The role IL-1 in tumor-mediated angiogenesis. *Front Physiol.* 2014;5:114.
159. Steel JC, Waldmann TA, Morris JC. Interleukin-15 biology and its therapeutic implications in cancer. *Trends Pharmacol Sci.* 2012;33(1):35-41.
160. Zeng R, Spolski R, Finkelstein SE, Oh S, Kovanen PE, Hinrichs CS, et al. Synergy of IL-21 and IL-15 in regulating CD8+ T cell expansion and function. *J Exp Med.* 2005;201(1):139-48.

161. Anzai A, Choi JL, He S, Fenn AM, Nairz M, Rattik S, et al. The infarcted myocardium solicits GM-CSF for the detrimental oversupply of inflammatory leukocytes. *J Exp Med*. 2017;214(11):3293-310.
162. Ichiki T, Jougasaki M, Setoguchi M, Imamura J, Nakashima H, Matsuoka T, et al. Cardiotrophin-1 stimulates intercellular adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 in human aortic endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(2):H750-63.
163. Konii H, Sato K, Kikuchi S, Okiyama H, Watanabe R, Hasegawa A, et al. Stimulatory effects of cardiotrophin 1 on atherosclerosis. *Hypertension*. 2013;62(5):942-50.
164. Wollert KC, Chien KR. Cardiotrophin-1 and the role of gp130-dependent signaling pathways in cardiac growth and development. *J Mol Med (Berl)*. 1997;75(7):492-501.
165. Abdul-Ghani M, Suen C, Jiang B, Deng Y, Weldrick JJ, Putinski C, et al. Cardiotrophin 1 stimulates beneficial myogenic and vascular remodeling of the heart. *Cell Res*. 2017;27(10):1195-215.
166. Carbone F, Crowe LA, Roth A, Burger F, Lenglet S, Braunersreuther V, et al. Treatment with anti-RANKL antibody reduces infarct size and attenuates dysfunction impacting on neutrophil-mediated injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;94:82-94.
167. Ueland T, Jemtland R, Godang K, Kjekshus J, Hognestad A, Omland T, et al. Prognostic value of osteoprotegerin in heart failure after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(10):1970-6.
168. Jansson AM, Hartford M, Omland T, Karlsson T, Lindmarker P, Herlitz J, et al. Multimarker risk assessment including osteoprotegerin and CXCL16 in acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(12):3041-9.
169. Zhang X, Zhu D, Wei L, Zhao Z, Qi X, Li Z, et al. OSM Enhances Angiogenesis and Improves Cardiac Function after Myocardial Infarction. *Biomed Res Int*. 2015;2015:317905.
170. Zhao T, Zhao W, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction. *Microvasc Res*. 2010;80(2):188-94.

171. Jelkmann W. Pitfalls in the measurement of circulating vascular endothelial growth factor. *Clin Chem*. 2001;47(4):617-23.
172. Josko J, Gwozdz B, Jedrzejowska-Szypulka H, Hendryk S. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit*. 2000;6(5):1047-52.
173. Kobayashi K, Maeda K, Takefuji M, Kikuchi R, Morishita Y, Hirashima M, et al. Dynamics of angiogenesis in ischemic areas of the infarcted heart. *Sci Rep*. 2017;7(1):7156.
174. Shinohara K, Shinohara T, Mochizuki N, Mochizuki Y, Sawa H, Kohya T, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in human myocardial infarction. *Heart Vessels*. 1996;11(3):113-22.
175. Krock BL, Skuli N, Simon MC. Hypoxia-induced angiogenesis: good and evil. *Genes Cancer*. 2011;2(12):1117-33.
176. Jones GW, Hill DG, Cardus A, Jones SA. IL-27: a double agent in the IL-6 family. *Clin Exp Immunol*. 2018;193(1):37-46.
177. Wu DH, Hatzopoulos AK. Bone morphogenetic protein signaling in inflammation. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2019;244(2):147-56.
178. Senior RM, Griffin GL, Huang JS, Walz DA, Deuel TF. Chemotactic activity of platelet alpha granule proteins for fibroblasts. *J Cell Biol*. 1983;96(2):382-5.
179. Moore BB, Murray L, Das A, Wilke CA, Herrygers AB, Toews GB. The role of CCL12 in the recruitment of fibrocytes and lung fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;35(2):175-81.
180. Lin RJ, Su ZZ, Liang SM, Chen YY, Shu XR, Nie RQ, et al. Role of Circulating Fibrocytes in Cardiac Fibrosis. *Chin Med J (Engl)*. 2016;129(3):326-31.
181. Ekert JE, Murray LA, Das AM, Sheng H, Giles-Komar J, Rycyzyn MA. Chemokine (C-C motif) ligand 2 mediates direct and indirect fibrotic responses in human and murine cultured fibrocytes. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2011;4(1):23.
182. Jin Y, Cheng X, Lu J, Li X. Exogenous BMP-7 Facilitates the Recovery of Cardiac Function after Acute Myocardial Infarction through Counteracting TGF-beta1 Signaling Pathway. *Tohoku J Exp Med*. 2018;244(1):1-6.

183. Benveniste EN, Qin H. Type I interferons as anti-inflammatory mediators. *Sci STKE*. 2007;2007(416):pe70.
184. Frangogiannis NG. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circ Res*. 2012;110(1):159-73.
185. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF-beta and the TGF-beta Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(5).
186. Croker BA, Kiu H, Nicholson SE. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Semin Cell Dev Biol*. 2008;19(4):414-22.
187. Sasaki A, Inagaki-Ohara K, Yoshida T, Yamanaka A, Sasaki M, Yasukawa H, et al. The N-terminal truncated isoform of SOCS3 translated from an alternative initiation AUG codon under stress conditions is stable due to the lack of a major ubiquitination site, Lys-6. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2432-6.
188. Madej MP, Topfer E, Boraschi D, Italiani P. Different Regulation of Interleukin-1 Production and Activity in Monocytes and Macrophages: Innate Memory as an Endogenous Mechanism of IL-1 Inhibition. *Front Pharmacol*. 2017;8:335.
189. Wyburn K, Wu H, Yin J, Jose M, Eris J, Chadban S. Macrophage-derived interleukin-18 in experimental renal allograft rejection. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(4):699-706.
190. Romagnani S. Th1/Th2 cells. *Inflamm Bowel Dis*. 1999;5(4):285-94.
191. Zhao LJ, Hua X, He SF, Ren H, Qi ZT. Interferon alpha regulates MAPK and STAT1 pathways in human hepatoma cells. *Virology*. 2011;8:157.
192. van Wijk B, Moorman AF, van den Hoff MJ. Role of bone morphogenetic proteins in cardiac differentiation. *Cardiovasc Res*. 2007;74(2):244-55.
193. Ebel H, Hillebrand I, Arlt S, Zhang Y, Kostin S, Neuhaus H, et al. Treatment with bone morphogenetic protein 2 limits infarct size after myocardial infarction in mice. *Shock*. 2013;39(4):353-60.
194. Qian Z, Qingshan C, Chun J, Huijun Z, Feng L, Qiang W, et al. High expression of TNFSF13 in tumor cells and fibroblasts is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Am J Clin Pathol*. 2014;141(2):226-33.

195. Xu L, Yates CC, Lockyer P, Xie L, Bevilacqua A, He J, et al. MMI-0100 inhibits cardiac fibrosis in myocardial infarction by direct actions on cardiomyocytes and fibroblasts via MK2 inhibition. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;77:86-101.
196. Kotlyarov A, Neininger A, Schubert C, Eckert R, Birchmeier C, Volk HD, et al. MAPKAP kinase 2 is essential for LPS-induced TNF-alpha biosynthesis. *Nat Cell Biol.* 1999;1(2):94-7.
197. Liao Y, Ishikura F, Beppu S, Asakura M, Takashima S, Asanuma H, et al. Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282(5):H1703-8.
198. Schmid E, Hilberath JN, Blumenstock G, Shekar PS, Kling S, Shernan SK, et al. Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) predicts poor outcome in patients undergoing acute pulmonary embolectomy. *Heart Lung Vessel.* 2015;7(2):151-8.
199. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys.* 2018;640:47-52.
200. Azad AK, Rajaram MV, Schlesinger LS. Exploitation of the Macrophage Mannose Receptor (CD206) in Infectious Disease Diagnostics and Therapeutics. *J Cytol Mol Biol.* 2014;1(1).
201. Stetson DB, Medzhitov R. Type I interferons in host defense. *Immunity.* 2006;25(3):373-81.
202. Ware CF. The TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(3-4):181-4.
203. Renault MA, Robbesyn F, Reant P, Douin V, Daret D, Allieres C, et al. Osteopontin expression in cardiomyocytes induces dilated cardiomyopathy. *Circ Heart Fail.* 2010;3(3):431-9.
204. Gao S, Ho D, Vatner DE, Vatner SF. Echocardiography in Mice. *Curr Protoc Mouse Biol.* 2011;1:71-83.
205. Wick G, Grundtman C, Mayerl C, Wimpissinger TF, Feichtinger J, Zelger B, et al. The immunology of fibrosis. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:107-35.



206. Sicard P, Clark JE, Jacquet S, Mohammadi S, Arthur JS, O'Keefe SJ, et al. The activation of p38 alpha, and not p38 beta, mitogen-activated protein kinase is required for ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48(6):1324-8.
207. Boyle AJ, Hwang J, Ye J, Shih H, Jun K, Zhang Y, et al. The effects of aging on apoptosis following myocardial infarction. *Cardiovasc Ther.* 2013;31(6):e102-10.
208. Bujak M, Kweon HJ, Chatila K, Li N, Taffet G, Frangogiannis NG. Aging-related defects are associated with adverse cardiac remodeling in a mouse model of reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(14):1384-92.

## **Annexe 1 : Tableaux**

**Tableau 3. Paramètres d'échocardiographie de la structure et des fonctions du VG des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> âgées de 12 semaines qui ont subi la chirurgie LADL mesurés 3 et 5 jours post-IM.**

	3 jours				5 jours			
	Groupes témoins		Groupes LADL		Groupes témoins		Groupes LADL	
	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>
<i>n</i>	17	19	16	20	20	17	23	19
<b>Intervalle R-R</b>	190,3±6,3	218,3±8,4	169,1±6,5 (15)	189,1±5,7*	196,3±9,3	215,5±13,5	165,8±5,7	198,7±8,3
<b>Dimensions et masse du VG</b>								
<b>LVAW<sub>d</sub> (mm)</b>	0,794±0,022	0,775±0,020	0,823±0,046	0,800±0,039	0,809±0,014	0,757±0,010	0,740±0,026	0,758±0,028
<b>LVPW<sub>d</sub> (mm)</b>	0,733±0,018	0,710±0,020	0,828±0,038	0,740±0,021	0,732±0,021	0,688±0,015	0,741±0,032	0,799±0,028†
<b>LVD<sub>d</sub> (mm)</b>	4,02±0,07	3,80±0,07	4,41±0,16	4,19±0,10*	4,06±0,05	3,93±0,05	5,00±0,12¥	4,50±0,08‡§
<b>LVD<sub>s</sub> (mm)</b>	2,67±0,09	2,45±0,09	3,56±0,19¥	3,37±0,12¥	2,68±0,07	2,58±0,08	4,14±0,17¥	3,51±0,12¥ξ
<b>Masse du VG (mg)</b>	111,5±3,3	97,9±3,2	148,1±12,6†	122,2±6,5	115,0±2,7	99,9±2,3	155,4±6,5¥	139,6±6,3¥
<b>Masse du VG/LVD<sub>d</sub> (mg/mm)</b>	27,77±0,76	25,78±0,71	33,09±2,07*	29,04±1,23	28,31±0,53	25,40±0,48	25,79±0,71	30,870±1,05‡
<b>Masse corporelle (g)</b>	28,48±0,67	25,07±0,84	27,56±0,97	26,75±0,75	30,20±0,80	27,92±0,93	28,64±0,67	26,98±0,44
<b>Masse du VG/Masse corporelle (mg/g)</b>	3,93±0,11	3,95±0,14	5,32±0,36†	4,62±0,29	3,83±0,09	3,63±0,12	5,50±0,28¥	5,18±0,23¥
<b>Fonctions systoliques du VG</b>								
<b>LVFS (%)</b>	33,8±1,5	35,6±1,8	19,8±2,1¥	19,8±1,5¥	34,0±1,3	34,4±2,1	17,7±1,7¥	22,1±1,9¥
<b>LVEF (%)</b>	68,9±1,9	70,8±2,4	45,4±3,9¥	46,0±2,9¥	69,3±1,6	69,1±2,8	41,1±3,5¥	49,9±3,2‡

<b>LVV<sub>d</sub></b> <b>(mL)</b>	0,164±0,008	0,141±0,007	0,222±0,020*	0,188±0,012*	0,169±0,006	0,153±0,005	0,311±0,021¥	0,227±0,011†§
<b>LVV<sub>s</sub></b> <b>(mL)</b>	0,052±0,005	0,042±0,005	0,127±0,018¥	0,105±0,011‡	0,052±0,004	0,047±0,004	0,194±0,024¥	0,116±0,010*ξ
<b>SV (µL)</b>	0,032±0,001 (16)	0,029±0,002	0,025±0,002 (15)*	0,025±0,001	0,036±0,002 (19)	0,034±0,002	0,025±0,001‡	0,024±0,002†
<b>CO</b> <b>(mL/min)</b>	10,43±0,53 (16)	8,14±0,50	9,29±0,63(15)	9,33±0,49	11,89±0,60(19)	10,18±0,82	8,20±0,49*	7,60±0,54*
<b>S<sub>L</sub> (cm/s)</b>	2,19±0,11	2,04±0,09(18)	1,82±0,10(15)	1,70±0,08	2,16±0,12	2,15±0,10	1,72±0,08†	1,66±0,087†
<b>S<sub>s</sub> (cm/s)</b>	2,40±0,10	2,25±0,09(18)	2,05±0,07(15)	1,98±0,09	2,65±0,11	2,35±0,09	2,28±0,09*	1,91±0,08*\$
<b>Sm</b> <b>latéral</b>	2,19±0,11	2,04±0,09(18)	1,82±0,10(15)	1,70±0,08	2,16±0,12	2,15±0,10	1,72±0,08†	1,66±0,09†
<b>Sm</b> <b>septal</b>	2,40±0,10	2,25±0,09(18)	2,05±0,07(15)	1,97±0,09	2,65±0,11	2,35±0,09	2,28±0,09*	1,91±0,07*\$
<b>WMSI</b>	1,01±0,01	1,02±0,02	1,96±0,11¥	1,75±0,08¥	1,02±0,02	1,02±0,02	1,88±0,10¥	1,80±0,08¥

### Fonctions diastoliques du VG

#### Flux trans-mitral

<b>Vélocité</b> <b>E (cm/s)a</b>	19,0±1,2	19,8±1,2	14,9±1,9(15)	11,2±0,9¥	20,2±1,3	18,2±1,3	12,4±1,2¥	12,6±1,0*
<b>EDT (ms)</b>	36,8±1,8	41,3±1,5	32,4±1,9(15)	35,1±1,4*	33,9±1,7	40,6±2,3	34,4±2,0	36,9±2,6
<b>Taux ED</b> <b>(m/s<sup>2</sup>)</b>	19,9±1,0	17,3±0,6	22,0±1,6(15)	22,8±1,2†	25,2±1,6	21,2±1,8	22,9±1,8	21,2±1,8
<b>A (cm/s)</b>	45,1±2,5(16)	42,9±2,3(18)	31,0±3,3(10)*	24,1±2,7(19)¥	49,3±1,6(19)*	47,6±2,0	34,5±4,4(16)†	30,5±3,8(16)†
<b>E/A</b>	1,7±0,2(16)	1,7±0,1(18)	2,6±0,7(9)	4,1±0,5(19)¥	1,6±0,1(19)	1,7±0,1	2,8±0,4(16)	3,3±0,6(16)*
<b>Em</b> <b>latéral</b> <b>(cm/s)</b>	1,8±0,1	1,8±0,1(18)	1,5±0,2(10)	1,5±0,1(19)	0,9±0,1	1,01±0,03	1,0±0,1	0,9±0,1
<b>Am</b> <b>latéral</b> <b>(cm/s)</b>	1,9±0,1	1,7±0,1(18)	1,2±0,1(10)‡	1,2±0,1(19)*	1,7±0,1(19)	1,9±0,1	1,2±0,1(18)†	1,1±0,1(17)¥
<b>Em/Am</b> <b>latéral</b>	1,0±0,1	1,1±0,1(18)	1,5±0,3(10)	1,3±0,1(19)	1,1±0,1(19)	1,2±0,1	1,4±0,1(18)	1,5±0,1(17)
<b>E/Em</b>	42,8±2,5	41,4±2,7(18)	50,2±4,0(10)	56,6±6,2(19)	50,2±4,2(19)	39,4±2,1	47,6±3,0(18)	48,6±3,0(17)

<b>latéral</b>								
<b>Em septal (cm/s)</b>	2,8±0,2	2,3±0,1(18)	1,8±0,2(10)	1,9±0,1(19)	2,8±0,2(19)	2,4±0,1	1,9±0,1(17)¥	1,8±0,1(17)†
<b>Am septal (cm/s)</b>	2,2±0,1	2,0±0,1(18)	1,5±0,1(10)†	1,6±0,1(19)	2,3±0,1(19)	2,5±0,1	1,7±0,2(17)*	1,5±0,1(17)¥
<b>Em/Am septal E/Em</b>	1,2±0,2	1,3±0,1(18)	1,4±0,2(10)	1,2±0,1	1,3±0,1(19)	1,0±0,1	1,3±0,1(17)	1,3±0,2
<b>septal E/Em</b>	31,8±1,6	31,6±1,9(18)	39,8±3,9(10)	42,8±2,5(19)†	30,2±1,4(19)	34,3±1,2	40,5±3,5(17)	44,1±4,8(17)
<b>moyen</b>	37,3±1,9	36,5±2,1(18)	45,0±3,0(10)	49,7±4,1(19)†	40,2±2,5(19)	36,8±1,4	44,1±2,6(18)	46,3±3,6(17)
<b>Flux veineux pulmonaire</b>								
<b>S supérieur (cm/s)</b>	17,22±0,77(16)	13,67±1,33	11,11±1,51(14)	7,52±2,10*	18,38±1,07	18,72±1,23	13,00±2,02	6,96±2,94‡
<b>D supérieur (cm/s)</b>	44,65±1,35(16)	34,39±1,17(18)	29,70±2,12(16)‡	29,80±1,42	44,79±1,79	34,92±0,89	33,64±1,41¥	28,18±1,27*\$
<b>S/D supérieur</b>	0,39±0,01(16)	0,44±0,03(18)	0,35±0,05(16)	0,28±0,07	0,42±0,03	0,54±0,03	0,37±0,05	0,28±0,10*
<b>S inférieur (cm/s)</b>	46,81±1,95(16)	41,38±2,39(17)	36,30±2,52(15)*	36,72±2,10	50,75±2,78	44,85±2,38	45,30±2,29	32,41±4,18*\$
<b>D inférieur (cm/s)</b>	31,41±1,66(16)	30,20±1,63(17)	20,98±1,62(15)‡	24,42±1,51	36,78±1,93	30,43±1,69	29,73±1,87*	25,58±1,96
<b>S/D inférieur</b>	1,53±0,07(16)	1,39±0,06(17)	1,75±0,08(15)‡	1,55±0,08	1,42±0,08	1,49±0,05	1,66±0,13*	1,45±0,19
<b>SD moyen</b>	0,96±0,04(16)	0,89±0,05(18)	1,00±0,07(16)	0,92±0,05	0,92±0,04	1,01±0,03	1,01±0,08	0,86±0,12
<b>Pente SD</b>	4,00±0,23(16)	3,14±0,23(17)	3,76±0,29(15)	3,59±0,26	4,20±0,29	3,49±0,31	4,58±0,22	3,78±0,44
<b>Temps de relaxation isovolumétrique du VG</b>								
<b>IVRT (ms)</b>	12,3±0,6	13,1±0,9	15,7±1,5(15)	13,8±1,5	12,8±1,0(19)	14,2±1,3	15,4±1,6	16,8±1,6(18)

<b>IVRTc</b>	0,89±0,04	0,89±0,07	1,2±0,09(15)	1,00±0,11	0,92±0,06(19)	0,95±0,07	1,18±0,10	1,18±0,10(18)
<b>Dimensions de l'oreillette gauche</b>								
<b>LAD<sub>s</sub></b> <b>(mm)</b>	2,11±0,06	2,06±0,07	2,45±0,09(15)*	2,18±0,06‡	2,17±0,05	2,07±0,06	2,64±0,08‡	2,21±0,06¥
<b>LAD<sub>d</sub></b> <b>(mm)</b>	1,71±0,06	1,65±0,06	2,10±0,12(15)†	2,19±0,08¥	1,73±0,05	1,69±0,06	2,32±0,09¥	2,33±0,10¥
<b>LAFS (%)</b>	19,0±1,2	19,8±1,2	14,9±1,9(15)	11,2±0,9¥	20,2±1,3	18,2±1,3	12,4±1,2¥	12,6±1,0*
<b>MPI</b>								
<b>Septal</b>	51,3±2,1	52,8±2,6(18)	82,2±7,8(15)‡	71,2±5,0*	53,8±2,6	50,8±2,7	77,2±3,6¥	76,3±4,8¥
<b>Latéral</b>	54,1±3,1	53,3±2,7(18)	90,4±7,3(15)¥	77,6±6,4†	53,7±2,7	55,0±4,9	78,4±4,7†	79,1±6,1†
<b>Global</b>	45,2±2,6	46,2±2,4	73,4±6,5(15)‡	67,7±5,6†	43,0±2,8(19)	43,9±3,0	67,0±4,4‡	77,1±5,4(18)¥
<b>Moyen</b>	52,7±2,3	53,1±2,3(18)	86,3±7,4(15)¥	74,4±5,5†	53,7±2,4	50,7±2,2	77,8±3,9¥	77,7±5,3¥

Données présentées en tant que moyenne ± erreur-type. \* :  $P < 0,05$  vs groupe témoin. † :  $P < 0,01$  vs groupe témoin. ‡ :  $P < 0,001$  vs groupe témoin. ¥ :  $P < 0,0001$  vs groupe témoin. \$ :  $P < 0,05$  vs MK2<sup>+/+</sup>. ξ :  $P < 0,01$  vs MK2<sup>+/+</sup>. § :  $P < 0,001$  vs MK2<sup>+/+</sup>. Les  $n$  qui diffèrent sont indiqués entre parenthèses.

**Tableau 4. Paramètres d'échocardiographie de la structure et des fonctions du VD des souris MK2<sup>+/+</sup> et MK2<sup>-/-</sup> âgées de 12 semaines qui ont subi la chirurgie LADL mesurés 3 et 5 jours post-IM.**

	3 jours				5 jours			
	Groupe témoin		Groupe LADL		Groupe témoin		Groupe LADL	
	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>	MK2 <sup>+/+</sup>	MK2 <sup>-/-</sup>
<i>n</i>	17	19	16	20	20	17	23	19
<b>Structure du VD</b>								
RVAW <sub>d</sub> (mm)	0,295±0,014	0,289±0,009	0,322±0,015	0,432±0,117	0,326±0,010	0,318±0,010	0,341±0,013	0,335±0,017
RVD <sub>d</sub> (mm)	1,66±0,03	1,70±0,03	1,80±0,05	1,68±0,04	1,87±0,05	1,78±0,05	1,76±0,05	1,74±0,06
RVAW <sub>d</sub> /RVD <sub>d</sub>	0,178±0,009	0,171±0,005	0,178±0,007	0,257±0,068	0,175±0,005	0,180±0,007	0,196±0,008	0,194±0,009
TAPSE (mm)	1,21±0,04	1,25±0,03	1,04±0,04(15)*	1,06±0,03†	1,33±0,05(19)	1,25±0,04	1,04±0,05¥	1,01±0,03†
<b>Fonction systolique du VD</b>								
S <sub>R</sub> (cm/s)	3,12±0,19	2,95±0,18	2,61±0,20(15)	2,12±0,13†	3,53±0,21	3,11±0,17	2,48±0,13¥	2,29±0,10†
<b>Fonctions diastoliques du VD</b>								
<b>Flux trans-tricuspide</b>								
E <sub>t</sub> (cm/s)	25,39±1,49	29,33±1,44	35,83±3,21(15)†	25,39±1,15†ξ	31,18±2,08	24,64±1,05	36,11±2,20	30,40±2,21
E <sub>t</sub> DT (ms)	33,24±2,89	41,11±1,94	30,31±1,88(15)	31,00±2,15	32,16±2,34	34,33±2,38	30,41±1,91	29,58±1,53
<b>Taux E<sub>t</sub>D (m/s<sup>2</sup>)</b>								
A <sub>t</sub> (cm/s)	8,17±0,55 39,09±2,26 (16)	7,49±0,49 42,11±1,50 (16)	12,11±0,82(15)‡	8,93±0,70‡ξ 39,42±2,02 (19)	10,66±0,95 41,25±1,46 (16)	7,66±0,49 39,20±2,85 (16)	12,77±0,86 40,03±2,63 (11)	10,92±0,97 33,29±2,87 (14)
E <sub>t</sub> /A <sub>t</sub>	0,70±0,11 (16)	0,67±0,04(16)	0,58±0,03(6)	0,65±0,04(19)	0,67±0,03(16)	0,59±0,03(16)	0,79±0,08(11)	0,96±0,19(14)
Em latéral (cm/s)	2,87±0,25 (16)	2,31±0,13(17)	2,03±0,27(9)*	1,94±0,13	3,28±0,17(18)	2,57±0,16(16)	2,17±0,14(14) ¥	2,15±0,15(18)
Am latéral (cm/s)	3,01±0,26 (16)	2,28±0,19(17)	2,67±0,35(9)	1,87±0,17	2,88±0,20(18)	3,13±0,20(16)	1,85±0,26(14) †	2,15±0,19(18) †
Em/Am latéral	1,01±0,08 (16)	1,13±0,13(17)	0,85±0,14(9)	1,14±0,08	1,24±0,11(18)	0,86±0,06(16)	1,47±0,19(16)	1,29±0,25(18)

<b>E/Em latéral</b>	9,18±0,68 (16)	12,59±0,67 (17)	16,48±2,38(9)‡	13,94±0,90	9,27±0,72(18)	9,77±0,51(16)	14,83±1,14 (14)‡	14,25±0,89 (18)†
<b>Flux artériel pulmonaire</b>								
<b>AT (ms)</b>	23,49±1,20	24,45±1,42	16,86±0,85†	17,70±1,67 (15)†	21,37±0,82 (17)	24,24±1,66	15,43±0,58 (22)‡	16,98±0,99¥
<b>AT/RVET</b>	31,01±1,50	28,15±1,29	23,91±1,03†	23,82±1,56 (15)	28,26±1,05 (17)	28,05±1,45	22,61±1,17 (22)†	21,19±0,90‡
<b>MPI du VD</b>								
<b>TV<sub>CO</sub> (ms)</b>	99,69±3,98	112,76±3,32	104,08±5,46(15)	101,14±4,91 (19)	97,60±4,29	109,88±5,57	104,18±4,44 (22)	117,81±5,57
<b>RVET (ms)</b>	76,52±2,76	86,62±3,02	70,47±1,87	73,14±3,2 (16)†	76,26±2,68 (17)	86,48±4,28	70,08±2,48 (22)	80,64±3,10
<b>Latéral</b>	40,92±1,82	41,62±1,85	59,93±4,42(15)‡	51,09±3,20 (16)	40,68±1,78 (17)	41,03±1,89	56,91±1,80¥ (22)*	58,77±2,81¥
<b>Global</b>	30,53±2,42	30,99±2,66	46,90±5,04(15)†	40,74±3,36 (16)	29,74±2,98 (17)	27,10±2,08	43,31±3,17 (22)*	45,68±3,48‡

Données présentées en tant que moyenne ± erreur-type. \* :  $P < 0,05$  vs groupe témoin. † :  $P < 0,01$  vs groupe témoin. ‡ :  $P < 0,001$  vs groupe témoin. ¥ :  $P < 0,0001$  vs groupe témoin. \$ :  $P < 0,05$  vs MK2<sup>+/+</sup>. ξ :  $P < 0,01$  vs MK2<sup>+/+</sup>. § :  $P < 0,001$  vs MK2<sup>+/+</sup>. Les  $n$  qui diffèrent sont indiqués entre parenthèses.



**Tableau 5. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : chimiokines.**

Chimiokines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
CCL1	Chemokine (C-C motif) ligand 1	1,65 (0,272)	-1,11 (0,562)	-1,39 (0,295)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)
CCL11	Chemokine (C-C motif) ligand 11	1,28 (0,605)	1,69 (0,256)	1,20 (0,638)	1,50 (0,407)	-1,77 (0,634)
<b>CCL12</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 12</b>	5,02 (0,075)	<b>5,32 (0,034)</b>	1,73 (0,282)	<b>6,81 (0,010)</b>	7,35 (0,080)
CCL17	Chemokine (C-C motif) ligand 17	-1,91 (0,884)	1,26 (0,647)	-1,13 (0,555)	1,59 (0,890)	-1,27 (0,573)
<b>CCL19</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 19</b>	<b>-2,34 (0,032)</b>	-1,49 (0,318)	-1,60 (0,129)	<b>-2,03 (0,047)</b>	1,34 (0,353)
<b>CCL2</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 2</b>	<b>7,59 (0,020)</b>	<b>4,72 (0,034)</b>	-1,30 (0,605)	<b>5,35 (0,016)</b>	2,63 (0,204)
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20	-1,35 (0,388)	-1,11 (0,562)	-1,39 (0,295)	1,85 (0,151)	1,38 (0,350)
CCL22	Chemokine (C-C motif) ligand 22	1,49 (0,748)	1,10 (0,750)	2,95 (0,906)	1,56 (0,688)	1,25 (0,560)
CCL24	Chemokine (C-C motif) ligand 22	1,60 (0,381)	-1,31 (0,427)	1,04 (0,994)	2,03 (0,273)	3,07 (0,222)
<b>CCL3</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 3</b>	5,12 (0,079)	<b>3,67 (0,002)</b>	1,07 (0,927)	3,83 (0,053)	1,50 (0,212)
<b>CCL4</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 4</b>	<b>4,61 (0,011)</b>	<b>2,81 (0,001)</b>	-1,44 (0,524)	2,84 (0,067)	1,73 (0,175)
CCL5	Chemokine (C-C motif) ligand 5	-1,02 (0,902)	1,39 (0,542)	-1,30 (0,517)	1,40 (0,541)	1,03 (0,914)
<b>CCL7</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 7</b>	<b>6,94 (0,039)</b>	<b>5,57 (0,005)</b>	-1,20 (0,833)	8,10 (0,061)	4,14 (0,066)
CX3CL1	Chemokine (C-X3-C motif) ligand 1	1,31 (0,334)	-1,19 (0,981)	-1,23 (0,957)	-1,08 (0,646)	-1,17 (0,530)
CXCL1	Chemokine (C-X-C motif) ligand 1	6,31 (0,064)	1,79 (0,493)	1,85 (0,411)	2,06 (0,465)	1,53 (0,972)
<b>CXCL10</b>	<b>Chemokine (C-X-C motif) ligand 10</b>	<b>3,55 (0,011)</b>	<b>3,48 (0,003)</b>	1,04 (0,962)	2,88 (0,089)	2,18 (0,112)
CXCL11	Chemokine (C-X-C motif) ligand 11	-1,35 (0,388)	1,17 (0,794)	2,06 (0,229)	1,29 (0,564)	1,81 (0,165)
<b>CXCL12</b>	<b>Chemokine (C-X-C motif) ligand 12</b>	-1,53 (0,093)	-1,44 (0,094)	<b>-2,08 (0,015)</b>	<b>-1,90 (0,016)</b>	<b>-1,85 (0,020)</b>
CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13	-1,97 (0,502)	1,21 (0,619)	2,12 (0,240)	1,49 (0,723)	1,91 (0,333)
<b>CXCL16</b>	<b>Chemokine (C-X-C motif) ligand 16</b>	<b>3,11 (0,037)</b>	2,44 (0,066)	1,27 (0,600)	<b>3,36 (0,020)</b>	2,77 (0,105)

<b>CXCL3</b>	<b>Chemokine (C-X-C motif) ligand 3</b>	74,3 (0,163)	<b>27,3</b> <b>(0,021)</b>	2,55 (0,194)	<b>20,2</b> <b>(0,023)</b>	<b>5,57</b> <b>(0,044)</b>
<b>CXCL5</b>	<b>Chemokine (C-X-C motif) ligand 5</b>	16,4 (0,082)	7,92 (0,109)	3,32 (0,278)	<b>13,35</b> <b>(0,007)</b>	5,66 (0,188)
CXCL9	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9	-1,35 (0,388)	-1,11 (0,562)	1,82 (0,336)	3,49 (0,125)	2,62 (0,269)
PF4	Platelet factor 4	2,21 (0,149)	1,88 (0,088)	-1,76 (0,123)	1,28 (0,482)	1,09 (0,895)
PPBP	Pro-platelet basic protein	2,92 (0,241)	1,60 (0,537)	-1,72 (0,313)	1,66 (0,495)	1,03 (0,764)
XCL1	Chemokine (C motif) ligand 1	-1,83 (0,531)	-2,02 (0,418)	-3,42 (0,325)	-1,98 (0,400)	-1,98 (0,439)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 6. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : chimiokines.**

Chimiokines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 4)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
CCL1	Chemokine (C-C motif) ligand 1	-1,64 (0,261)	-1,45 (0,560)	-2,62 (0,173)	-2,83 (0,188)	-1,82 (0,396)
<b>CCL11</b>	Chemokine (C-C motif) ligand 11	<b>-5,26</b> <b>(0,002)</b>	<b>-2,31</b> <b>(0,022)</b>	1,29 (0,392)	<b>-27,8</b> <b>(0,001)</b>	-3,37 (0,098)
CCL12	Chemokine (C-C motif) ligand 12	1,89 (0,116)	1,54 (0,310)	-1,63 (0,866)	1,01 (0,810)	1,16 (0,477)
CCL17	Chemokine (C-C motif) ligand 17	3,50 (0,202)	-1,11 (0,500)	1,37 (0,786)	3,82 (0,184)	2,40 (0,453)
CCL19	Chemokine (C-C motif) ligand 19	-1,38 (0,723)	-1,22 (0,468)	1,60 (0,198)	-1,16 (0,625)	1,91 (0,396)
<b>CCL2</b>	<b>Chemokine</b> <b>(C-C motif) ligand 2</b>	1,87 (0,220)	1,98 (0,164)	-1,07 (0,846)	<b>2,39</b> <b>(0,047)</b>	3,96 (0,108)
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
CCL22	Chemokine (C-C motif) ligand 22	-2,68 (0,158)	-4,62 (0,152)	-1,84 (0,445)	-7,36 (0,133)	-6,02 (0,133)
CCL24	Chemokine (C-C motif) ligand 22	-1,25 (0,740)	-2,74 (0,179)	2,41 (0,263)	-2,21 (0,295)	-1,77 (0,588)
<b>CCL3</b>	<b>Chemokine</b> <b>(C-C motif) ligand 3</b>	2,97 (0,096)	2,40 (0,079)	-1,08 (0,761)	<b>4,21</b> <b>(0,010)</b>	3,09 (0,200)
<b>CCL4</b>	<b>Chemokine</b> <b>(C-C motif) ligand 4</b>	2,75 (0,138)	2,21 (0,144)	-1,23 (0,371)	<b>5,91</b> <b>(0,007)</b>	4,13 (0,065)
<b>CCL5</b>	<b>Chemokine</b> <b>(C-C motif) ligand 5</b>	2,32 (0,110)	1,72 (0,085)	-1,59 (0,489)	<b>2,54</b> <b>(0,023)</b>	1,41 (0,226)
CCL7	Chemokine (C-C motif) ligand 7	3,10 (0,098)	1,67 (0,341)	1,01 (0,845)	2,41 (0,127)	4,25 (0,204)
CX3CL1	Chemokine (C-X3-C motif) ligand 1	-1,34 (0,737)	-1,14 (0,593)	-1,06 (0,939)	1,52 (0,265)	1,02 (0,956)
CXCL1	Chemokine (C-X-C motif) ligand 1	-2,65 (0,184)	-2,16 (0,716)	-1,01 (0,929)	-1,47 (0,999)	-2,76 (0,604)
CXCL10	Chemokine (C-X-C motif) ligand 10	2,85 (0,261)	2,95 (0,174)	1,09 (0,945)	3,81 (0,074)	2,97 (0,080)
CXCL11	Chemokine (C-X-C motif) ligand 11	1,35 (0,813)	1,42 (0,868)	-1,20 (0,579)	1,11 (0,821)	1,36 (0,949)
<b>CXCL12</b>	<b>Chemokine</b> <b>(C-X-C motif) ligand</b> <b>12</b>	-1,09 (0,697)	-1,16 (0,528)	-1,02 (0,904)	<b>-1,49</b> <b>(0,025)</b>	-1,27 (0,070)
CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13	3,14 (0,276)	2,37 (0,282)	-1,93 (0,936)	1,13 (0,598)	1,41 (0,362)

CXCL16	Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	2,99 (0,071)	1,79 (0,133)	1,21 (0,698)	2,37 (0,133)	1,87 (0,118)
CXCL3	Chemokine (C-X-C motif) ligand 3	2,39 (0,269)	1,44 (0,878)	-1,96 (0,281)	2,04 (0,434)	3,78 (0,373)
CXCL5	Chemokine (C-X-C motif) ligand 5	1,71 (0,691)	-3,96 (0,273)	-1,32 (0,708)	-1,09 (0,960)	-1,68 (0,654)
CXCL9	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9	-2,93 (0,130)	-4,17 (0,158)	-1,52 (0,677)	-3,65 (0,266)	-1,03 (0,707)
<b>PF4</b>	<b>Platelet factor 4</b>	3,16 (0,113)	2,01 (0,180)	1,02 (0,784)	<b>2,58</b> <b>(0,035)</b>	1,77 (0,100)
PPBP	Pro-platelet basic protein	1,66 (0,447)	1,04 (0,670)	1,03 (0,643)	1,02 (0,893)	1,46 (0,181)
XCL1	Chemokine (C motif) ligand 1	-1,07 (0,643)	-4,39 (0,178)	-1,20 (0,849)	-2,15 (0,389)	1,09 (0,868)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 7. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interleukines.**

Interleukines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
<b>IL-10</b>	<b>Interleukin 10</b>	4,69 (0,149)	5,71 (0,058)	<b>4,16</b> <b>(0,011)</b>	7,49 (0,123)	8,88 (0,211)
<b>IL-11</b>	<b>Interleukin 11</b>	5,64 (0,145)	1,96 (0,277)	-1,37 (0,421)	<b>3,03</b> <b>(0,035)</b>	1,36 (0,383)
IL-12a	Interleukin 12a	-5,02 (0,122)	-7,15 (0,090)	-8,29 (0,094)	-1,47 (0,599)	-2,05 (0,317)
IL-12b	Interleukin 12b	-1,35 (0,388)	1,85 (0,329)	2,67 (0,225)	4,22 (0,092)	1,95 (0,103)
IL-13	Interleukin 13	-1,23 (0,843)	-1,61 (0,413)	-1,21 (0,679)	-1,08 (0,640)	1,53 (0,946)
<b>IL-15</b>	<b>Interleukin 15</b>	<b>-4,13</b> <b>(0,006)</b>	<b>-2,47</b> <b>(0,038)</b>	<b>-9,03</b> <b>(0,003)</b>	<b>-7,57</b> <b>(0,004)</b>	<b>-5,62</b> <b>(0,012)</b>
<b>IL-16</b>	<b>Interleukin 16</b>	1,33 (0,278)	-1,63 (0,164)	-1,44 (0,171)	-1,86 (0,091)	<b>-3,69</b> <b>(0,029)</b>
IL-17a	Interleukin 17A	-1,35 (0,388)	1,45 (0,426)	-1,04 (0,882)	2,09 (0,266)	1,38 (0,350)
IL-17f	Interleukin 17F	-3,36 (0,220)	-2,23 (0,298)	-1,45 (0,528)	-1,24 (0,654)	-1,04 0,923
<b>IL-18</b>	<b>Interleukin 18</b>	1,76 (0,446)	<b>5,93</b> <b>(0,008)</b>	1,35 (0,688)	2,00 (0,357)	<b>3,82</b> <b>(0,040)</b>
IL-1a	Interleukin 1 alpha	1,18 (0,620)	-2,10 (0,292)	-1,96 (0,427)	-1,06 (0,709)	-2,85 (0,231)
<b>IL-1b</b>	<b>Interleukin 1 beta</b>	28,2 (0,144)	<b>12,5</b> <b>(0,040)</b>	6,02 (0,187)	16,1 (0,061)	<b>9,32</b> <b>(0,018)</b>
<b>IL-1Rn</b>	<b>Interleukin 1 receptor antagonist</b>	<b>5,95</b> <b>(0,033)</b>	<b>4,46</b> <b>(0,0005)</b>	1,13 (0,559)	<b>4,52</b> <b>(0,002)</b>	<b>1,82</b> <b>(0,015)</b>
IL-2	Interleukin 2	-1,35 (0,388)	1,30 (0,576)	1,08 (0,793)	1,18 (0,724)	1,38 (0,350)
IL-21	Interleukin 21	-1,35 (0,388)	-1,11 (0,562)	-1,39 (0,295)	1,60 (0,220)	1,38 (0,350)
IL-22	Interleukin 22	-1,35 (0,388)	1,57 (0,383)	-1,39 (0,295)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)
IL-23a	Interleukin 23, alpha subunit p19	-2,13 (0,202)	1,25 0,598	-1,43 (0,535)	-1,01 (0,985)	-1,17 (0,549)
IL-24	Interleukin 24	1,28 (0,447)	-1,07 (0,616)	-1,39 (0,295)	1,33 (0,481)	1,39 (0,348)
<b>IL-27</b>	<b>Interleukin 27</b>	5,75 (0,145)	1,16 (0,806)	1,30 (0,455)	<b>15,5</b> <b>(0,0002)</b>	5,18 (0,074)
IL-3	Interleukin 3	-1,35 (0,388)	1,14 (0,862)	-1,21 (0,469)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)

IL-4	Interleukin 4	-2,27 (0,215)	-1,53 (0,356)	-1,65 (0,339)	1,37 (0,573)	-1,22 (0,831)
IL-5	Interleukin 5	-2,32 (0,393)	1,24 (0,960)	1,25 (0,709)	1,29 (0,867)	2,77 (0,457)
<b>IL-6</b>	<b>Interleukin 6</b>	23,6 (0,110)	17,3 (0,055)	1,19 (0,964)	<b>29,3</b> <b>(0,0002)</b>	<b>9,16</b> <b>(0,033)</b>
IL-7	Interleukin 7	-2,22 (0,118)	-1,54 (0,749)	1,26 (0,519)	-1,43 (0,395)	-1,76 (0,150)
IL-9	Interleukin 9	-1,35 (0,388)	-1,11 (0,562)	-1,30 (0,360)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 8. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interleukines.**

Interleukines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 4)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
<b>IL-10</b>	<b>Interleukin 10</b>	1,78 (0,342)	2,26 (0,225)	3,27 (0,068)	<b>8,38</b> <b>(0,026)</b>	6,07 (0,127)
IL-11	Interleukin 11	5,38 (0,203)	3,59 (0,279)	1,32 (0,628)	1,18 (0,746)	2,24 (0,243)
IL-12a	Interleukin 12a	1,89 (0,302)	1,48 (0,530)	1,76 (0,318)	-2,12 (0,449)	1,71 (0,377)
IL-12b	Interleukin 12b	-1,36 (0,373)	-1,41 (0,360)	1,31 (0,540)	-1,98 (0,271)	1,56 (0,498)
IL-13	Interleukin 13	1,16 (0,747)	1,48 (0,730)	1,64 (0,480)	-1,53 (0,387)	2,41 (0,405)
<b>IL-15</b>	<b>Interleukin 15</b>	<b>-7,52</b> <b>(0,001)</b>	<b>-3,59</b> <b>(0,012)</b>	<b>-3,14</b> <b>(0,039)</b>	<b>-6,23</b> <b>(0,006)</b>	<b>-8,20</b> <b>(0,006)</b>
<b>IL-16</b>	<b>Interleukin 16</b>	-2,23 (0,167)	-1,46 (0,244)	<b>1,96</b> <b>(0,009)</b>	-1,19 (0,536)	-4,63 (0,194)
IL-17a	Interleukin 17A	-1,21 (0,495)	-1,38 (0,335)	-1,10 (0,923)	-2,25 (0,146)	-1,03 (0,924)
IL-17f	Interleukin 17F	-1,94 (0,296)	-2,61 (0,233)	1,66 (0,524)	-4,26 (0,174)	-1,77 (0,507)
IL-18	Interleukin 18	1,95 (0,224)	1,14 (0,990)	-1,17 (0,952)	1,16 (0,862)	-1,96 (0,828)
IL-1a	Interleukin 1 alpha	2,45 (0,429)	4,10 (0,126)	4,27 (0,185)	1,58 (0,569)	21,8 (0,251)
IL-1b	Interleukin 1 beta	3,93 (0,204)	1,20 (0,720)	-1,62 (0,935)	3,99 (0,246)	8,11 (0,262)
<b>IL-1Rn</b>	<b>Interleukin 1 receptor antagonist</b>	<b>5,08</b> <b>(0,034)</b>	<b>2,88</b> <b>(0,034)</b>	-1,15 (0,834)	<b>8,64</b> <b>(0,002)</b>	3,23 (0,142)
IL-2	Interleukin 2	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,07 (0,980)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
IL-21	Interleukin 21	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
IL-22	Interleukin 22	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,43 (0,690)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
<b>IL-23a</b>	<b>Interleukin 23, alpha subunit p19</b>	<b>-2,61</b> <b>(0,025)</b>	-1,45 (0,428)	-1,01 (0,801)	-1,89 (0,353)	-1,77 (0,750)
IL-24	Interleukin 24	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,17 (0,580)	1,62 (0,616)
IL-27	Interleukin 27	5,96 (0,228)	2,32 (0,268)	-1,16 (0,744)	4,60 (0,064)	-1,17 (0,700)
IL-3	Interleukin 3	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)

IL-4	Interleukin 4	1,56 (0,605)	1,21 (0,906)	1,70 (0,478)	2,30 (0,288)	1,62 (0,616)
<b>IL-5</b>	<b>Interleukin 5</b>	-1,85 (0,491)	<b>-3,75</b> <b>(0,031)</b>	-1,56 (0,921)	<b>-3,94</b> <b>(0,035)</b>	-1,32 (0,884)
IL-6	Interleukin 6	5,64 (0,113)	4,00 (0,173)	1,35 (0,513)	15,9 (0,156)	13,23 (0,328)
IL-7	Interleukin 7	-1,63 (0,372)	-1,55 (0,598)	2,15 (0,223)	-1,54 (0,343)	1,66 (0,416)
IL-9	Interleukin 9	1,16 (0,956)	1,02 (0,754)	-1,12 (0,891)	-1,61 (0,340)	1,36 (0,687)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.



**Tableau 9. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interférons.**

Interférons		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
<b>IFN-α2</b>	<b>Interferon alpha 2</b>	1,45 (0,238)	4,44 (0,109)	3,27 (0,175)	<b>14,4</b> <b>(0,005)</b>	7,01 (0,194)
IFN-γ	Interferon gamma	-1,35 (0,388)	-1,08 (0,606)	-1,34 (0,344)	1,13 (0,778)	1,90 (0,125)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 10. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : interférons.**

Intérférons		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gene	Nom complet	Infarctus (n = 4)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
IFN- α2	Interferon alpha 2	1,02 (0,452)	-1,22 (0,299)	1,48 (0,511)	-1,54 (0,311)	-1,21 (0,715)
IFN-γ	Interferon gamma	2,27 (0,340)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	1,52 (0,562)	1,62 (0,616)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 11. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : facteurs de croissance.**

Facteurs de croissance		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
<b>BMP2</b>	<b>Bone morphogenetic protein 2</b>	<b>9,56 (0,001)</b>	2,74 (0,149)	-1,19 (0,444)	5,35 (0,060)	1,44 (0,963)
BMP4	Bone morphogenetic protein 4	1,09 (0,973)	1,29 (0,660)	-1,04 (0,898)	1,27 (0,661)	1,45 (0,444)
<b>BMP6</b>	<b>Bone morphogenetic protein 6</b>	-2,17 (0,051)	<b>-2,57 (0,033)</b>	-1,75 (0,103)	<b>-2,64 (0,026)</b>	<b>-2,56 (0,037)</b>
<b>BMP7</b>	<b>Bone morphogenetic protein 7</b>	<b>-6,10 (0,011)</b>	<b>-3,31 (0,020)</b>	-1,31 (0,448)	<b>-10,84 (0,005)</b>	-3,10 (0,319)
CNTF	Ciliary neurotrophic factor	1,02 (0,858)	-1,48 (0,333)	-1,71 (0,150)	-1,37 (0,279)	1,15 (0,451)
<b>CSF1</b>	<b>Colony stimulating factor 1 (macrophage)</b>	-1,22 (0,254)	-1,61 (0,115)	<b>-2,14 (0,038)</b>	<b>-1,92 (0,026)</b>	<b>-2,22 (0,015)</b>
<b>CSF2</b>	<b>Colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)</b>	3,85 (0,215)	<b>4,26 (0,037)</b>	2,13 (0,210)	<b>12,7 (0,004)</b>	<b>4,10 (0,024)</b>
CSF3	Colony stimulating factor 3 (granulocyte)	4,21 (0,100)	2,11 (0,192)	1,87 (0,178)	2,40 (0,199)	3,16 (0,114)
<b>GPI1</b>	<b>Glucose phosphate isomerase 1</b>	<b>-1,99 (0,004)</b>	<b>-1,75 (0,007)</b>	-1,26 (0,255)	<b>-2,28 (0,003)</b>	<b>-1,61 (0,011)</b>
LIF	Leukemia inhibitory factor	4,18 (0,058)	1,71 (0,264)	1,04 (0,489)	2,53 (0,170)	-1,85 (0,939)
MSTN	Myostatin	-1,25 (0,899)	-1,30 (0,486)	-1,24 (0,847)	-1,51 (0,437)	1,74 (0,369)
NODAL	Nodal	-1,35 (0,388)	-1,11 (0,562)	1,28 (0,512)	1,13 (0,778)	2,20 (0,239)
<b>OSM</b>	<b>Oncostatin M</b>	13,6 (0,111)	6,10 (0,081)	1,15 (0,448)	<b>11,5 (0,003)</b>	-1,13 (0,976)
THPO	Thrombopoietin	-1,91 (0,524)	-2,27 (0,314)	-1,27 (0,737)	-2,25 (0,335)	-1,62 (0,831)
VEGF $\alpha$	Vascular endothelial growth factor A	<b>-3,35 (0,016)</b>	<b>-2,62 (0,017)</b>	-2,28 (0,071)	<b>-3,50 (0,012)</b>	<b>-2,69 (0,017)</b>

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 12. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : facteurs de croissance.**

Facteurs de croissance		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
BMP2	Bone morphogenetic protein 2	1,38 (0,764)	1,46 (0,831)	-2,31 (0,582)	1,73 (0,629)	-1,27 (0,495)
BMP4	Bone morphogenetic protein 4	1,47 (0,126)	1,44 (0,201)	1,51 (0,260)	-1,52 (0,961)	1,18 (0,483)
<b>BMP6</b>	<b>Bone morphogenetic protein 6</b>	<b>-2,30 (0,015)</b>	-1,29 (0,424)	1,55 (0,068)	<b>-2,10 (0,027)</b>	-1,63 (0,111)
<b>BMP7</b>	<b>Bone morphogenetic protein 7</b>	<b>-6,104 (0,0004)</b>	<b>-2,76 (0,003)</b>	-1,25 (0,663)	<b>-4,17 (0,001)</b>	-2,12 (0,381)
CNTF	Ciliary neurotrophic factor	1,44 (0,255)	1,11 (0,434)	-1,05 (0,879)	-1,03 (0,911)	1,25 (0,376)
<b>CSF1</b>	<b>Colony stimulating factor 1 (macrophage)</b>	-1,67 (0,060)	-1,23 (0,073)	-1,22 (0,185)	<b>-1,44 (0,032)</b>	-1,40 (0,074)
CSF2	Colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	-3,32 (0,288)	-10,1 (0,374)	1,89 (0,428)	-2,02 (0,380)	-4,35 (0,377)
CSF3	Colony stimulating factor 3 (granulocyte)	-1,15 (0,573)	-1,31 (0,373)	-1,02 (0,994)	-1,12 (0,834)	2,36 (0,400)
<b>GPI1</b>	<b>Glucose phosphate isomerase 1</b>	<b>-2,29 (0,001)</b>	-1,51 (0,062)	1,07 (0,484)	<b>-2,43 (0,002)</b>	<b>-1,48 (0,009)</b>
LIF	Leukemia inhibitory factor	2,33 (0,328)	1,22 (0,661)	3,15 (0,051)	4,06 (0,124)	5,29 (0,093)
MSTN	Myostatin	-1,24 (0,412)	-1,49 (0,299)	2,89 (0,109)	-1,72 (0,335)	-1,05 (0,814)
NODAL	Nodal	-3,14 (0,059)	-3,08 (0,101)	-1,23 (0,808)	-5,85 (0,057)	1,21 (0,731)
<b>OSM</b>	<b>Oncostatin M</b>	<b>8,53 (0,037)</b>	3,58 (0,182)	2,25 (0,206)	<b>6,05 (0,010)</b>	1,24 (0,608)
THPO	Thrombopoietin	-1,16 (0,753)	1,59 (0,418)	1,04 (0,890)	1,28 (0,709)	1,26 (0,629)
<b>VEGF<math>\alpha</math></b>	<b>Vascular endothelial growth factor A</b>	<b>-4,86 (0,032)</b>	-1,32 (0,397)	1,08 (0,901)	-3,82 (0,072)	-1,26 (0,506)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 13. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : membres de la superfamille des récepteurs de TNF.**

Membres de la superfamille des récepteurs de TNF		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
CD40lg	CD40 ligand	-1,73 (0,390)	-1,43 (0,443)	1,03 (0,957)	1,26 (0,875)	1,69 (0,775)
CD70	CD70 antigen	1,26 (0,555)	-1,11 (0,562)	-1,39 (0,295)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)
FASL	Fas ligand (TNF superfamily, member 6)	-1,69 (0,182)	-1,39 (0,250)	-1,75 (0,138)	-1,11 (0,747)	1,87 (0,298)
LTA	Lymphotoxin A	-1,35 (0,388)	1,52 (0,393)	2,66 (0,105)	1,47 (0,401)	1,47 (0,317)
<b>LTB</b>	<b>Lymphotoxin B</b>	2,08 (0,169)	-1,72 (0,806)	<b>2,32</b> <b>(0,009)</b>	-1,00 (0,675)	-2,06 (0,101)
TNF	Tumor necrosis factor	1,33 (0,965)	1,56 (0,901)	-1,049 (0,619)	1,84 (0,895)	-1,38 (0,488)
<b>TNFSF11b</b>	<b>Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11b (osteoprotegerin)</b>	<b>8,64</b> <b>(0,036)</b>	<b>11,9</b> <b>(0,004)</b>	1,83 (0,790)	<b>10,3</b> <b>(0,002)</b>	7,03 (0,168)
TNFSF10	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	-1,08 (0,688)	-1,04 (0,812)	1,18 (0,601)	1,13 (0,720)	-1,96 (0,678)
<b>TNFSF11</b>	<b>Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11</b>	30,8 (0,070)	<b>14,9</b> <b>(0,001)</b>	4,00 (0,080)	<b>21,1</b> <b>(0,021)</b>	4,87 (0,052)
<b>TNFSF13b</b>	<b>Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 13b</b>	-2,18 (0,080)	-2,00 (0,124)	-2,12 (0,160)	<b>-8,25</b> <b>(0,028)</b>	-2,40 (0,071)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 14. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : membres de la superfamille des récepteurs de TNF.**

Membres de la superfamille des récepteurs de TNF		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
CD40lg	CD40 ligand	1,90 (0,288)	<b>-1,79</b> (0,001)	-2,42 (0,133)	-1,10 (0,686)	-1,06 (0,585)
CD70	CD70 antigen	1,72 (0,510)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
FASL	Fas ligand (TNF superfamily, member 6)	2,03 (0,365)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
LTA	Lymphotoxin A	2,49 (0,443)	1,16 (0,875)	1,01 (0,985)	1,46 (0,565)	2,11 (0,344)
LTB	Lymphotoxin B	1,78 (0,513)	1,63 (0,721)	1,31 (0,779)	2,02 (0,392)	1,07 (0,979)
TNF	Tumor necrosis factor	-1,07 (0,823)	-1,05 (0,658)	-1,26 (0,887)	-1,41 (0,315)	-2,69 (0,520)
<b>TNFRSF11b</b>	<b>Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11b (osteoprotegerin)</b>	<b>2,82</b> (0,011)	1,43 (0,390)	-1,41 (0,294)	<b>2,83</b> (0,009)	<b>2,65</b> (0,029)
TNFSF10	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	-2,08 (0,082)	-1,28 (0,438)	2,07 (0,075)	-1,80 (0,174)	1,17 (0,882)
<b>TNFSF11</b>	<b>Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11</b>	<b>4,35</b> (0,046)	1,65 (0,452)	-1,03 (0,887)	3,07 (0,234)	2,89 (0,356)
<b>TNFSF13b</b>	<b>Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 13b</b>	<b>-1,55</b> (0,020)	1,33 (0,350)	1,50 (0,128)	<b>-1,80</b> (0,017)	-1,58 (0,647)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 15. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : autres cytokines.**

Autres cytokines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
ADIPO Q	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	-4,23 (0,299)	1,63 (0,466)	-1,35 (0,660)	-2,78 (0,350)	-1,52 (0,462)
<b>CTF1</b>	<b>Cardiotrophin 1</b>	<b>-4,93 (0,008)</b>	<b>-3,31 (0,016)</b>	-1,51 (0,254)	<b>-9,31 (0,005)</b>	-3,56 (0,053)
Hc	Hemolytic complement	2,13 (0,434)	-1,29 (0,434)	-1,50 (0,467)	1,40 (0,961)	1,13 (0,652)
MIF	Macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor)	1,00 (0,970)	1,17 (0,440)	1,14 (0,507)	1,22 (0,294)	1,60 (0,169)
<b>SPP1</b>	<b>Secreted phosphoprotein 1</b>	<b>32,6 (0,004)</b>	<b>16,5 (0,00001 )</b>	3,90 (0,161)	<b>25,2 (0,0001)</b>	<b>18,56 (0,008)</b>
<b>TGF-β2</b>	<b>Transforming growth factor, beta 2</b>	<b>2,04 (0,023)</b>	<b>1,91 (0,002)</b>	-1,43 (0,071)	<b>3,01 (0,040)</b>	1,01 (0,827)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 16. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : autres cytokines.**

Autres cytokines		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
ADIPO Q	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	1,62 (0,434)	1,07 (0,606)	1,29 (0,551)	-4,49 (0,060)	-1,61 (0,382)
<b>CTF1</b>	<b>Cardiotrophin 1</b>	<b>-11,7</b> <b>(0,007)</b>	<b>-5,61</b> <b>(0,024)</b>	-1,09 (0,776)	<b>-4,31</b> <b>(0,029)</b>	-4,30 (0,054)
Hc	Hemolytic complement	-1,03 (0,652)	2,91 (0,267)	1,04 (0,637)	2,51 (0,263)	1,72 (0,557)
MIF	Macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor)	1,12 (0,906)	1,03 (0,941)	1,27 (0,625)	-1,43 (0,343)	1,19 (0,829)
<b>SPP1</b>	<b>Secreted phosphoprotein 1</b>	<b>38,2</b> <b>(0,009)</b>	<b>7,52</b> <b>(0,006)</b>	1,15 (0,847)	<b>30,5</b> <b>(0,036)</b>	8,88 (0,126)
<b>TGF-β2</b>	<b>Transforming growth factor, beta 2</b>	<b>2,32</b> <b>(0,049)</b>	1,56 (0,059)	<b>1,11</b> <b>(0,031)</b>	<b>1,82</b> <b>(0,031)</b>	-1,20 (0,659)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.



**Tableau 17. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 3 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : cytokines anti-inflammatoires.**

Cytokines anti-inflammatoires		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
<b>CCL19</b>	<b>Chemokine (C-C motif) ligand 19</b>	<b>-2,34 (0,032)</b>	-1,49 (0,318)	-1,59 (0,129)	<b>-2,03 (0,047)</b>	1,34 (0,353)
<b>IL-10</b>	<b>Interleukin 10</b>	4,69 (0,149)	5,71 (0,058)	<b>4,16 (0,011)</b>	7,49 (0,123)	8,88 (0,211)
<b>IL-11</b>	<b>Interleukin 11</b>	5,64 (0,145)	1,96 (0,277)	-1,37 (0,421)	<b>3,03 (0,035)</b>	1,36 (0,383)
IL-12a	Interleukin 12a	-5,02 (0,122)	-7,15 (0,090)	-8,29 (0,094)	-1,47 (0,599)	-2,05 (0,317)
IL-12b	Interleukin 12b	-1,35 (0,388)	1,85 (0,329)	2,67 (0,225)	4,22 (0,092)	1,95 (0,103)
IL-13	Interleukin 13	-1,23 (0,843)	-1,61 (0,413)	-1,21 (0,679)	-1,08 (0,640)	1,53 (0,946)
<b>IL-18</b>	<b>Interleukin 18</b>	1,76 (0,446)	<b>5,93 (0,008)</b>	1,35 (0,688)	2,00 (0,357)	<b>3,82 (0,040)</b>
IL-2	Interleukin 2	-1,35 (0,388)	1,30 (0,576)	1,08 (0,793)	1,18 (0,724)	1,38 (0,350)
IL-22	Interleukin 22	-1,35 (0,388)	1,57 (0,383)	-1,39 (0,295)	1,13 (0,778)	1,38 (0,350)
IL-23a	Interleukin 23, alpha subunit p19	-2,13 (0,202)	1,25 0,598	-1,43 (0,535)	-1,01 (0,985)	-1,17 (0,549)
IL-24	Interleukin 24	1,28 (0,447)	-1,07 (0,616)	-1,39 (0,295)	1,33 (0,481)	1,39 (0,348)
IL-4	Interleukin 4	-2,27 (0,215)	-1,53 (0,356)	-1,65 (0,339)	1,37 (0,573)	-1,22 (0,831)
<b>IL-6</b>	<b>Interleukin 6</b>	23,6 (0,110)	17,3 (0,055)	1,19 (0,964)	<b>29,3 (0,0002)</b>	<b>9,16 (0,033)</b>
<b>TGF- β2</b>	<b>Transforming growth factor, beta 2</b>	<b>2,04 (0,023)</b>	<b>1,91 (0,002)</b>	-1,43 (0,071)	<b>3,01 (0,040)</b>	1,01 (0,827)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 4). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-P sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.

**Tableau 18. Patrons d'expression d'ARNm exprimés dans les tissus du VG de souris 5 jours post-IM analysés par « RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array » : cytokines anti-inflammatoires.**

Cytokines anti-inflammatoires		MK2 <sup>+/+</sup>		MK2 <sup>-/-</sup>		
Gènes	Noms complets	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)	Groupe témoin (n = 3)	Infarctus (n = 3)	Tissus sains (n = 3)
CCL19	Chemokine (C-C motif) ligand 19	-1,38 (0,723)	-1,22 (0,468)	1,60 (0,198)	-1,16 (0,625)	1,91 (0,396)
<b>IL-10</b>	<b>Interleukin 10</b>	1,78 (0,342)	2,30 (0,225)	3,27 (0,068)	<b>8,38</b> <b>(0,026)</b>	6,07 (0,127)
IL-11	Interleukin 11	5,38 (0,203)	3,59 (0,279)	1,32 (0,628)	1,18 (0,746)	2,24 (0,243)
IL-12a	Interleukin 12a	1,89 (0,302)	1,48 (0,530)	1,76 (0,318)	-2,12 (0,449)	1,71 (0,377)
IL-12b	Interleukin 12b	-1,36 (0,373)	-1,41 (0,360)	1,31 (0,540)	-1,98 (0,271)	1,56 (0,498)
IL-13	Interleukin 13	1,16 (0,747)	1,48 (0,730)	1,64 (0,480)	-1,53 (0,387)	2,41 (0,405)
IL-18	Interleukin 18	1,95 (0,224)	1,14 (0,990)	-1,17 (0,952)	1,16 (0,862)	-1,96 (0,828)
IL-2	Interleukin 2	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,07 (0,980)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
IL-22	Interleukin 22	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,43 (0,690)	-1,35 (0,465)	1,62 (0,616)
<b>IL-23a</b>	Interleukin 23, alpha subunit p19	<b>-2,61</b> <b>(0,025)</b>	-1,45 (0,428)	-1,01 (0,801)	-1,89 (0,353)	-1,77 (0,750)
IL-24	Interleukin 24	1,38 (0,818)	1,21 (0,906)	1,06 (0,991)	-1,17 (0,580)	1,62 (0,616)
IL-4	Interleukin 4	1,55 (0,605)	1,21 (0,906)	1,70 (0,478)	2,30 (0,288)	1,62 (0,616)
IL-6	Interleukin 6	5,64 (0,113)	4,00 (0,173)	1,35 (0,513)	15,9 (0,156)	13,23 (0,328)
<b>TGF-β2</b>	<b>Transforming growth factor, beta 2</b>	<b>2,32</b> <b>(0,049)</b>	1,56 (0,059)	<b>1,11</b> <b>(0,031)</b>	<b>1,82</b> <b>(0,031)</b>	-1,20 (0,659)

Les données sont présentées en tant que changements de ratio d'expression d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> (n = 3). Un ratio supérieur à 1 correspond à l'augmentation de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et IL- est égal au  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Un ratio négatif correspond à une diminution de l'abondance d'ARNm par rapport au groupe témoin MK2<sup>+/+</sup> et il est égal à l'inverse négatif du  $2^{(-\Delta\Delta C_T)}$ . Les valeurs-*P* sont présentées entre parenthèses. Les valeurs en gras sont statistiquement significatives.