**Étude des mécanismes de protection vis-à-vis de l’ischémie reperfusion myocardique induits par le préconditionnement anesthésique : rôle des protéines de la famille Bcl-2**
Communication orale

Auteurs :
**Romain Rozier** (*Anesthésie orthopédie IULS, CHU Pasteur 2, Nice*), Sébastien Pommier (*Institut Arnault-Tzanck, Saint-Laurent-du-Var*), Marc-Aimé Raucoules (*Pôle anesthésie réanimation urgences, CHU de Nice*), Jean-Ehrland Ricci (*Université Côte-d'Azur, C3M U1065 Inserm, Nice*), Michel Carles (*Service de réanimation polyvalent, CHU de Pointe-à-Pitre*),

**Objectifs :**

L’ischémie-reperfusion (IR) myocardique est un mécanisme lésionnel responsable de la première cause de morbi-mortalité péri-opératoire. L’effet protecteur vis-à-vis de l’IR du préconditionnement anesthésique (APC) par les agents anesthésiques volatiles, en particulier par le sévoflurane, a été largement démontré chez l’animal et chez l’homme. Il semble que l’APC protégerait les cellules myocardiques de la mort cellulaire, en particulier de l’apoptose. Cependant, les mécanismes impliqués restent à préciser. Ainsi, nous avons émis l’hypothèse que les membres anti-apoptotiques des protéines de la famille Bcl-2, Bcl-xL et Bcl-2, sont modulés par le sévoflurane et participent à l’effet cardioprotecteur de l’APC.

**Matériel et méthodes**

Afin d’étudier les mécanismes de l’APC par le sévoflurane vis-à-vis de l’IR myocardique, nous avons utilisé un modèle in vitro validé reproduisant les lésions d’IR. Après avoir atteint leur confluence, les cellules H9c2 de cardiomyoblastes de rat sont cultivées en hypoxie à 0,1 % O2 en présence d’un milieu mimant l’ischémie (125 mM NaCl ; 8 mM KCl ; 1,2 mM KH2PO4 ; 1,25 mM MgSO4 ; 1,2 mM CaCl2 ; 6,25 mM NaHCO3 ; 5mM sodium lactate ; 20mM HEPES ; pH 6,6 ajusté au NaOH). Après 2h30 d’ischémie, les lésions de reperfusion sont induites grâce à un remplacement du milieu de culture par un milieu normoxique Krebs-Henseleit pré-incubé en air ambiant pendant 90 minutes. Les conditions contrôles ont été incubées pendant les mêmes durées. L’APC a été réalisé par l’ajout de sévoflurane, provenant de la solution stock (Baxter®), directement dans le milieu de culture à une concentration initiale de 20 mM comme décrit par Zitta et al. préalablement à l’ischémie pendant 90 minutes. L’apoptose a été mesurée par dosage de l’activité caspase et par western blot en étudiant l’expression du clivage de la procaspase 3 en condition d’IR et APC.

**Résultats**

Nous avons mis au point un modèle in vitro d’étude de l’IR et de l’APC dans des cultures de cardiomyoblastes de rat (cellules H9c2). Notre modèle reproduit fidèlement l’effet protecteur de l’APC qui se traduit par une diminution de l’apoptose (observée en mesurant la diminution du clivage et de l’activité enzymatique de la caspase 3) en situation d’IR. Nous avons montré que le sévoflurane induit une surexpression de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL de manière dose et temps-dépendante, responsable de l’effet protecteur de l’APC par le sévoflurane dans notre modèle cellulaire vis-à-vis des lésions d’IR. Nous avons validé ce résultat in vivo à partir de lysats de cœur de souris. L’augmentation rapide de l’expression de Bcl-xL par le sévoflurane dans notre modèle cellulaire est régulée au niveau post-transcriptionnel. En effet, nous montrons que le sévoflurane, en dehors de tout stress, est capable d’induire la phosphorylation de Bcl-xL sur des résidus sérine/thréonine. D’autre part, nous avons observé que l’activation de la sérine thréonine kinase Akt était induite par le sévoflurane. Actuellement nous analysons son implication dans la phosphorylation de Bcl-xL et dans l’effet protecteur de l’APC.

**Conclusions**

Notre étude montre pour la première fois que l’effet protecteur de l’APC par le sévoflurane est médié par l’augmentation de l’expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL, potentiellement Akt-dépendante. Ceci ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le management péri-opératoire, notamment en chirurgie cardiaque et en chirurgie non-cardiaque chez les patients à risque cardiovasculaire élevé.

**MOTS-CLÉS :**

Ischémie/reperfusion (Ischemia/reperfusion), Apoptose (Apoptosis),