

POSTERS

P7 - REGULATION OF CATHEPSIN B IN ENDOTHELIAL CELLS AFTER INFECTION BY PORPHYROMONAS GINGIVALIS AND STIMULATION WITH ITS LPS

O.HUCK, R. ELKAIM, J.-L. DAVIDEAU and H. TENENBAUM

Department of Periodontology, University of Strasbourg, France

OBJECTIVES

Porphyromonas gingivalis (Pg), a periopathogenic bacteria, is able to interact with endothelial cells through dissemination in the blood flow. The main objective of the present study was to investigate the effect of *Porphyromonas gingivalis* and his LPS on endothelial cells, notably on the regulation of cathepsins, lysosomal enzymes involved in the destruction of gingival tissues but also over-expressed in the atheromatous plaque.

METHODS

Endothelial cells (HUVECs) were stimulated with purified Pg-lipopolysaccharide (Pg-LPS) for 24, 48 or 72 hours or infected by the whole bacteria for 2 to 6 hours. Cell lysates were prepared to measure the enzymatic activity of cathepsin B as well as the amount of protein by western blotting.

RESULTS

Our results showed an increase of the enzymatic activity of cathepsin B during the time-course stimulation with Pg- LPS or infection by the whole bacteria without modification of the rate of mRNA expression or protein concentration. Concerning the regulation of cathepsin B activity, our data showed that the tyrosine-dephosphorylation form of this enzyme is associated with his activity in infected endothelial cells but not in cells only stimulated with its purified Pg-LPS.

CONCLUSION

Our results evidenced that cathepsin B is differentially regulated depending on bacterial virulence factors. These results contribute to explain molecular links between periodontal disease and atherosclerosis.

POSTERS

P7 - RÉGULATION DIFFÉRENTIELLE DE L'ACTIVITÉ DE LA CATHEPSINE B DANS LES CELLULES ENDOTHÉLIALES INFECTÉES PAR PORPHYROMONAS GINGIVALIS ET STIMULÉES PAR SON LIPOPOLYSACCHARIDE

O.HUCK, R. ELKAIM, J.-L. DAVIDEAU and H. TENENBAUM

Department of Periodontology, University of Strasbourg, France

OBJECTIFS

Porphyromonas gingivalis (Pg), bactérie particulièrement parodontopathogène est capable d'agir sur les cellules endothéliales après dissémination via la circulation sanguine. L'objectif de notre étude est d'observer les effets que peut entraîner *Porphyromonas gingivalis* et son lipopolysaccharide (LPS) sur des cellules endothéliales, en particulier sur l'activité de certaines enzymes lysosomiales, les cathepsines.

METHODES

Les cellules endothéliales (HUVECs) ont été stimulées par le LPS de Pg pendant 24, 48 et 72 heures ou infectées par la bactérie totale sur une période de 2 à 6 heures. Les extraits cellulaires ont été par la suite récoltés afin d'analyser la quantité de protéines présentes par western-blot ainsi que l'activité enzymatique par tests d'activité spécifique et fluorimétrie.

RESULTATS

Les résultats montrent une augmentation

de l'activité enzymatique de la cathepsine B après stimulation par le LPS de Pg ou suite à l'infection par la bactérie totale, cette augmentation n'étant pas accompagnée par une modification de l'expression de l'ARNm correspondant. Des expérimentations complémentaires montrent un mécanisme de régulation différent entre les cellules endothéliales stimulées par le LPS et les cellules infectées par la bactérie totale. En effet, un processus de tyrosine-déphosphorylation est associé à l'augmentation de l'activité de la cathepsine B pour les cellules infectées contrairement aux cellules stimulées par le LPS où cette tyrosine-déphosphorylation n'est pas retrouvée.

CONCLUSION

Nos résultats montrent que l'activité enzymatique de la cathepsine B est régulée de manière différentielle dans les cellules endothéliales en fonction des facteurs de virulence de la souche bactérienne utilisée. Ces résultats contribuent à expliquer les mécanismes d'action délétères de Pg sur les cellules endothéliales.