

Titre du Projet	<b>Analyse de la différenciation astrocytaire en conditions inflammatoires (étude pilote)</b>		
Mots Clés (Maximum 5)	Astrocyte, différenciation, neuro-inflammation, LPS injection		
But du projet	Recherche fondamentale	<u>oui</u>	non
	Recherche translationnelle et appliquée	oui	<u>non</u>
	Utilisation réglementaire et production de routine	oui	<u>non</u>
	Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien être humain ou animal	oui	<u>non</u>
	Préservation d'espèces	oui	<u>non</u>
	Enseignement supérieur ou formation	oui	<u>non</u>
	Requêtes légales	oui	<u>non</u>
	Entretien des colonies d'animaux génétiquement modifiés, et non utilisées dans d'autres procédures	oui	<u>non</u>
Décrire les objectifs du projet	Notre projet consiste à étudier le rôle de la voie NFκB (principal médiateur de l'inflammation) lors de la différenciation des astrocytes dans le système nerveux central. Le but de cette étude préliminaire est de déterminer le meilleur modèle <i>in vivo</i> d'induction de la neuro-inflammation chez le nouveau-né. 2 modèles seront testés : injection de LPS (IP) chez la mère en fin de gestation (E17) et injection de LPS (IP) chez le nouveau-né (P0). Les paramètres inflammatoires et la différenciation gliale seront évalués par qPCR après prélèvement des cerveaux des nouveaux-nés à P1, P2 et P3.		
Quels seront les avancées scientifiques qui pourront être tirées de ce projet ? (pour l'humain et pour l'animal)	Dans nos derniers travaux nous avons observé que l'activation de la voie NFκB induisait une modulation de la différenciation astrocytaire. Ces résultats ayant été obtenus <i>in vitro</i> , dans le modèle Neurosphère, nous devons maintenant les confirmer dans le contexte <i>in vivo</i> . Par conséquent il est nécessaire d'utiliser des modèles murin présentant une neuro-inflammation au cours de la différenciation astrocytaire c'est à dire entre P0 et P21. Les résultats obtenus permettront d'identifier des cibles permettant de restaurer des conditions physiologiques de différenciation de ces cellules et par conséquent pourront aider par exemple au développement de stratégies thérapeutiques dans les cas des encéphalopathies périnatales de l'enfant.		
Quelles espèces seront utilisées ?	Mus musculus		
Quel est le nombre approximatif d'animaux prévus ?	72 nouveau-nés. 6 femelles gestantes.		
Dans le contexte des techniques mises en œuvre sur les animaux : quels sont les éventuels effets néfastes attendus ? quel est le niveau probable / attendu de gravité ? quel est le sort final des animaux ?	Cannibalisme par les mères après injection de LPS chez les nouveau-nés. Niveau de gravité modérée, mais présence d'une inflammation générale suite à l'injection de LPS (aigue ou chronique). Les animaux seront sacrifiés à P1, P2 et P3.		
Application des trois R			
<b>1. Remplacement</b> Indiquer pourquoi le recours à des animaux est nécessaire et pourquoi l'objectif poursuivi ne peut être atteint par des méthodes alternatives et pourquoi l'expérimentation sur l'animal ne peut pas être évité	La méthode alternative consiste à utiliser un modèle <i>in vitro</i> en l'occurrence l'utilisation de cellules souches neurales pour étudier la différenciation astrocytaire. Notre laboratoire utilise couramment ce modèle avec des résultats significatifs. Pourtant il est nécessaire de valider ces résultats par des observations sur l'animal. D'ailleurs les résultats obtenus <i>in vivo</i> seront comparés aux résultats <i>in vitro</i> (modèle Neurosphère), ce qui permettra par la suite de valider ou non le modèle alternatif <i>in vitro</i> dans le cadre de ce type d'étude sur la différenciation astrocytaire.		
<b>2. Réduction</b> Expliquer comment le nombre d'animaux utilisés est réduit au stricte minimum indispensable (biostatistiques)	Nous prévoyons un nombre de 6 souris/groupe. Celui-ci est nécessaire et suffisant à l'obtention de résultats statistiquement exploitables suite à l'analyse PCR. Ce type d'analyse nous donnant le niveau d'expression des gènes dans les animaux (avec des différences d'expression importantes), l'évaluation bio-statistique du nombre d'animaux n'est pas nécessaire.		
<b>3. Raffinement</b> Expliquer le choix des espèces et pourquoi le modèle animal utilisé (s) est/sont le plus raffiné(s). Expliquer les mesures générales mises en œuvre pour minimiser les répercussions négatives sur le bien-être des animaux.	La souris constitue un modèle classique pour l'étude de la différenciation gliale <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> . Cette étude préliminaire nous permettra de choisir le modèle inflammatoire permettant d'utiliser le moins d'animaux possible pour l'étude générale qui suivra et de choisir le modèle générant le moins de répercussions négatives sur les animaux. Aussi, les animaux seront suivis quotidiennement et leur bien-être sera évalué à l'aide d'une fiche avec score, afin de reconnaître douleur/stress et de déterminer les points limites humains.		