

Titre du Projet	<b>ReSpReProMiA : Profilage région-spécifique de la microglie dans un modèle murin de propagation d'<math>\alpha</math>-synucléine assimilé à la maladie de Parkinson</b>		
Mots Clés (Maximum 5)	Parkinson, modèle murin, $\alpha$ -synucléine, neuroinflammation, microglie		
But du projet	Recherche fondamentale	oui	
	Recherche translationnelle et appliquée	oui	
	Utilisation réglementaire et production de routine		non
	Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien être humain ou animal		non
	Préservation d'espèces		non
	Enseignement supérieur ou formation		non
	Requêtes légales		non
	Entretien des colonies d'animaux génétiquement modifiés, et non utilisées dans d'autres procédures		non
Décrire les objectifs du projet	Le but principal est l'identification des signatures transcriptomiques microglie-spécifiques qui, dans la maladie de Parkinson (MP), accompagnent la neurodégénérescence au cours de la propagation des formes pathologiques d' $\alpha$ synucléine.		
Quels seront les avancées scientifiques qui pourront être tirées de ce projet ? (pour l'humain et pour l'animal)	Les avancées scientifiques attendues sont: i) l'établissement d'une nouvelle méthodologie permettant l'étude des signatures spécifiques à un type cellulaire, ii) la caractérisation longitudinale et en profondeur du plus pertinent modèle de propagation d' $\alpha$ synucléinopathie dans la MP, iii) l'identification de facteurs microgliaux qui pourraient être des modulateurs de la MP dans ces études précliniques, et ciblées ultérieurement pour des approches thérapeutiques.		
Quelles espèces seront utilisées ? Quel est le nombre approximatif d'animaux prévus ?	464 souris C57Bl6/J, réparties en deux études sur une durée de trois ans.		
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?	<p>-En se basant sur l'expérience des expérimentateurs et la littérature disponible, aucun effet sérieux impliquant le bien-être animal n'est attendu. Rarement, et selon les souches de souris, l'anesthésie peut entraîner la mort (1-2% des animaux opérés). Dans nos précédentes études, l'injection intracérébrale d'<math>\alpha</math> synucléine préfabriquée n'a pas induits de déficits fonctionnels notables 3 mois après l'injection.</p> <p>-Un effet pyrogénique est attendu chez les animaux traités au LPS.</p> <p>-Le niveau de sévérité de la procédure chirurgicale est estimée de modérée à moyenne grâce aux précautions opératoires et péri-opératoires établies.</p> <p>-Les animaux seront sacrifiés à la fin des procédures.</p>		
<b>Application des trois R</b>			
<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	Le cerveau est un organe complexe composé d'au moins quatre types cellulaires (neuronal, astroglial, microglial, oligodendroglial) organisés en réseaux intriqués qui constituent autant de régions fonctionnelles et inter-dépendantes. Afin de caractériser le spectre des atteintes pathologiques du système nerveux central, telles que celles observées dans la MP, et d'augmenter la probabilité d'identification des candidats les plus prometteurs pour des approches thérapeutiques, un modèle animal mammifère est nécessaire. Particulièrement ici, l'étude de la propagation des formes pathologiques d' $\alpha$ synucléine et ses effets sur diverses régions du cerveau au cours du temps requièrent un cerveau mammifère comme substrat.		
<b>2. Réduction</b> Expliquer comment le nombre d'animaux utilisés est réduit au stricte minimum indispensable (biostatistiques)	Sur la base de ressources mises en ligne par les Universités d'Harvard et de Münster de calculs d'effectifs pour assurer une puissance statistique de 0.8 au seuil $\alpha=5\%$ , nous avons déterminé que 8 à 14 animaux par groupe étaient nécessaires pour les études histologique et 5 à 7 animaux pour les études transcriptomiques et biochimiques. En pratique, nous avons respectivement réduit le nombre d'animaux par groupe à 10 et 6 pour l'histologie et les -omiques. <i>In fine</i> , le nombre total de 464 animaux a été choisi pour correspondre à ces impératifs et permettra une interprétation statistique des données. Après vérification de leur normalité, les données paramétriques seront analysées par T-test, ou ANOVA suivie d'un post hoc. Les données non-paramétriques, quant-à-elles, seront analysées avec un U de Mann Whithney ou bien un Kruskall-Wallis suivi d'un post hoc. Cette démarche basée sur la distribution des données est la plus formelle en termes d'analyse statistique. Les données -omiques seront analysées par un bioinformaticien, par statistique Bayésienne assortie du calcul de taux de faux positifs (FDR)		
<b>3. Raffinement</b> Expliquer le choix des espèces et pourquoi le modèle animal utilisé (s) est/est le plus raffiné(s). Expliquer les mesures générales mises en œuvre pour minimiser les répercussions négatives sur le bien-être des animaux.	Les souris constituent un modèle de choix en neurosciences de par la similarité avec l'humain de l'architecture et de la complexité de leur système nerveux. Cette espèce est largement utilisée pour modéliser des pathologies, y compris les maladies neurodégénératives. L'élevage et la manipulation de cette espèce, relativement accessibles, associés à une large gamme validée d'outils d'analyses, en fait un modèle de choix pour notre projet. Le bien-être de ces animaux utilisés fera l'objet d'une étroite surveillance préalablement définie et planifiée : leur poids sera relevé régulièrement, leur apparence et comportement évalués et tout animal montrant des signes anormaux (perte de poids, détresse, prostration, lésions inattendues) sera euthanasié et exclu de l'étude.		