

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-08
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Effets des inhibiteurs de la voie de réponse au stress du reticulum endoplasmique sur les dommages cérébraux induits par ischémie
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	30/01/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	02/2020 – 01/2025
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui, à la fin du projet
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	Ischémie, hypoxie, accident vasculaire cérébral, stress, reticulum endoplasmique, voie UPR, PERK, IRE-1a
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : non</p> <p>Test réglementaire et production de routine : non</p> <p>Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : non</p> <p>Conservation des espèces : non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : non</p> <p>Enquête médico-légale : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	<p>L'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique est la troisième cause de mort dans les pays industrialisés et une cause dominante de handicap. De plus, quand l'AVC a lieu à des stades périnataux, les conséquences peuvent être très graves et empêcher sérieusement le développement correct du cerveau après la naissance (Kirton, 2013). Cependant, malgré sa haute prévalence, on observe une absence de stratégies thérapeutiques efficaces pour récupérer les fonctions normales du cerveau après un infarctus cérébral. Une des conséquences principales d'un épisode d'AVC est la génération, au niveau cellulaire, d'un stress intense du réticulum endoplasmique (ER stress), suivi de l'activation d'une voie de signalisation nommé UPR (unfolded protein response). L'inhibition de modulateurs de l'UPR pourrait favoriser la récupération cérébrale après AVC induit dans des modèles murins (Hood et al, 2018). Cependant, une étude systématique et combinée des différents modulateurs de UPR, ainsi qu'une analyse des possibles applications thérapeutiques sont encore manquantes.</p>

Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	Si nos recherches montrent un effet positif de l'administration des inhibiteurs de l'UPR sur la récupération après accident vasculaire cérébral ischémique, cela conduirait au développement potentiel de nouvelles stratégies thérapeutiques, potentiellement applicables à l'homme.
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Souris
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	520
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	La revue de la littérature pour l'utilisation de ce modèle ne révèle pas de douleur (Rice 1981, Doverhag, 2010 ; Svedin, 2007 ; Erkenstam, 2013). Cependant la chirurgie induit un certain niveau de stress, réduit par anesthésie, xylocaïne locale, présence de la mère et surveillance rapprochée quotidienne des animaux. Les animaux sont euthanasiés par euthasol maximum 7 jours après l'induction de l'AVC.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	Aucune méthode alternative ne permet de répondre efficacement à la question posée.
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Actuellement, les souris constituent les animaux de choix pour les études concernant le cerveau. Le modèle que nous envisageons d'appliquer est un des meilleurs modèles pour évaluer l'encéphalopathie hypoxique-ischémique périnatale dans les souris (Vannucci, R.C. et al., (1999); Yager, J.Y. & Ashwal, S. (2009); Rice, J. et al. 1981; Doverhag, C. et al., 2010 ; Svedin, P et al. 2007 ; Erkenstam NH, 2013)
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	De façon à comparer strictement les mêmes stades de développement et les niveaux de dommage après hypoxie dans les mêmes conditions nous devons comparer des animaux issus de la même portée ou des portées contemporaines. Ceci explique le nombre élevé de portées (au moins 32) et de souriceaux (au moins 10 par chaque condition). D'un point de vue statistique, le nombre d'animaux utilisés par groupe et au total a été calculé à l'aide du programme G power. T-tests ou ANOVA suivie de post test ad hoc seront utilisés comme test statistique pour comparer les groupes. Le « coefficient effect size » a été estimé sur base de résultats préliminaires obtenus par collaboration. Les effect size observés sont tous compris entre 0,6 et 0,9 pour chacune des drogues. Nous avons dès lors tablé sur un effect size de 0,6, qui associe à une puissance de 0.8 demande un n=10 animaux pour chacun des trois groupes.
3. Raffinement (1000 caractères maximum)	Actuellement, les souris constituent les animaux de choix pour les études concernant le cerveau. Le modèle que nous envisageons d'appliquer est le

<p>Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques</p>	<p>meilleur modèle pour évaluer l'encéphalopathie hypoxique-ischémique périnatale dans les souris (Vannucci, R.C. et al., (1999) Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. J Neurosci Res, 55, 158-163 ; Yager, J.Y. & Ashwal, S. (2009) Animal models of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. Pediatr Neurol, 40, 156-167 ; Rice, J. et al. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. Ann.Neurol., 1981; Doverhag, C. et al. Galectin-3 contributes to neonatal hypoxic-ischemic brain injury. Neurobiol.Dis, 2010 ; Svedin, P et al., Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia-ischemia. J.Neurosci. 2007 ; Erkenstam NH, https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00286, 2013).</p> <p>Le même but scientifique ne pourrait pas être atteint en utilisant des animaux au système nerveux central moins évolué.</p> <p>La revue de la littérature ne montre pas de douleur (Rice 1981, Doverhag 2010,...)</p>
<p>Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation d'un anesthésique (isoflurane) qui a un effet analgésique pendant les 6h post-opératoires - Utilisation de xylocaine pour douleur locale à l'incision - surveillance stricte post-opératoire des souris: Elles seront examinées 30 minutes après l'intervention puis toutes les heures pendant 6 heures, et deux fois par jour pendant 7 jours. Nous vérifierons l'état général des animaux, plus particulièrement la prise de nourriture (les animaux non sevrés seront pesés), de boisson, l'état d'hydratation (pli de peau) et l'activité des animaux. Tout animal dont l'état général se dégrade ou montrant une activité réduite ou de l'apathie sera euthanasié.