

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-81
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Le lymphœdème : Caractérisation, origine et traitements
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	21/02/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	21 février 2020 – 21 février 2025
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui - à la fin de l'étude
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	Lymphœdème, vaisseaux lymphatiques, cellules endothéliales lymphatiques, biologie vasculaire, uPARAP/endo180, estetrol
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui/non</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : oui/non</p> <p>Test réglementaire et production de routine : oui/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 : oui/non</p> <p>Conservation des espèces : oui/non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : oui/non</p> <p>Enquête médico-légale : oui/non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : oui/non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : oui/non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	<p>Notre projet a pour but de mieux comprendre le lymphœdème et s'articule autour de 3 axes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caractérisation du lymphœdème en présence et absence du récepteur endocytaire du collagène Uparap/Endo180. • Etude de la plasticité et l'hétérogénéité des cellules endothéliales lymphatiques dans le lymphœdème. • Etude de l'estérol dans le traitement du lymphœdème

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)	Le lymphœdème n'est pas rare, en effet, cette pathologie survient chez 20 à 30% des patients atteints d'un cancer et traités par curage ganglionnaire et/ou une radiothérapie. Ce déficit de drainage lymphatique se traduit par des douleurs, gonflement des membres, fibrose tissulaire, perte de mobilité, vulnérabilité face aux infections de la peau... Les symptômes sont atténués temporairement grâce au port de bas de contention ou de massage par exemple mais à ce jour, il n'existe pas de traitement efficace pour le lymphoedème. Ici, nous cherchons à comprendre le lymphoedème dans l'espoir de trouver le traitement le plus adapté.
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	- Souris (Souches : Souris Fvb/N - Souris Fvb/N uPARAP ^{-/-} - Souris C57/Bl6 - Souris C57/Bl6 uPARAP ^{-/-} - Souris C57/Bl6 uPARAP ^{-/-} KO conditionnel - Souris (Rosa26) Lox – tdTomato – Lox eGFP x Prox1-Cre-ERT2)
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	1080
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?	Le laboratoire présente une expertise importante dans toutes les procédures chirurgicales proposées dans ce protocole d'éthique et aucune perte d'animaux liée à des constats de souffrance n'a été à déplorer à ce jour. Stress léger dû à l'anesthésie. Un suivi 2 fois/ jour sera réalisée après chirurgie. Les animaux seront euthanasiés 3 semaines après l'induction du lymphoedème, ce qui permettra d'analyser les paramètres liés à la pathologie étudiée.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Le lymphœdème est une pathologie complexe combinant un déficit de lymphangiogénèse et une fibrose tissulaire qui conduit à un déficit de drainage lymphatique et une accumulation de liquide interstitiel au niveau des membres. A ce jour, il n'existe pas de modèle in vitro permettant une analyse complète et systémique de cette pathologie.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Le nombre d'animaux/groupe a été établi en utilisant le logiciel G Power. La valeur du « alpha error P » et du « a priori power » sont fixés à 0,05 et 95% respectivement selon les études de statistiques utilisées habituellement dans la recherche. L'« Effect Size » a été déterminée selon les méthodes présentées dans les articles suivants : (Festing and Altman 2002 , Charan and Kantharia 2013). Ce calcul statistique nous permet d'obtenir des résultats suffisamment robustes d'un point de vue statistique sans pour autant utiliser plus d'animaux que nécessaire.
3. Raffinement (1000 caractères maximum) 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	Les modèles murins ont montré le meilleur rapport coût-efficacité dans l'étude de la fonction lymphatique (Frueh et al, 2016). En accord avec la littérature nous avons choisi un modèle animal de longue durée associant irradiation et chirurgie pour induire le lymphœdème (Oashi et al, 2012). Ce modèle a l'avantage d'être robuste, reproductible et persistant (3 semaines).

Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).

Les animaux seront examinés quotidiennement et euthanasiés en cas d'altération importante de l'état général (évalué selon un tableau de scoring). Si d'éventuels signes de souffrance modérée mais perceptibles surviennent après les chirurgies sous anesthésie générale réalisées et durant la suite du protocole, un analgésique sera administré dans l'eau de boisson des animaux. Une attention toute particulière sera portée aux signes de souffrance modérée mais perceptibles tels que le poil hérissé, l'absence de toilettage, la léthargie, le refus de se déplacer ou de se mêler au groupe. Plus spécifiquement, toutes les procédures chirurgicales (ovariectomie, opération du lymphœdème, insertion de mini pompe Alzet ou d'implant) ainsi que l'irradiation aux rayons gamma seront réalisées sous anesthésie à l'isoflurane 2,5 %.