

PROGRAMME DE STAGES D'ÉTÉ
Initiation à la recherche biomédicale
au Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
Été 2021

Impact de l'inflammation systémique sur un cerveau en développement

Numéro de l'offre de stage : No. 10

Équipe de recherche

[Sophie Tremblay M.D., FRCPC, Ph.D.](#)

Axe Pathologies foetomaternelles et néonatales

Coordonnées

Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
3175 Chemin de la Côte-Ste-Catherine
Montréal, Qc, H3T 1C5

Responsable de la supervision du stagiaire

Roqaya Imane
Assistante de recherche

Programmes d'études ciblés

Science biomédicales, neuroscience.

Description du projet

Contexte: En collaboration avec l'Université de Sherbrooke et l'équipe du Dr Étienne Fortin-Pellerin et Dr Jean-Paul Praud, nous étudions l'impact de l'inflammation systémique sur un cerveau en développement dans deux contextes différents : soit dans un modèle de ventilation alternative, la ventilation liquidienne totale, à la ventilation standard afin de diminuer le dommage pulmonaire tissulaire induit par la ventilation gazeuse diminuant ainsi l'inflammation pulmonaire chronique et systémique ; soit dans un modèle mesurant l'instabilité cardiorespiratoire induite par le sepsis afin de déterminer des biomarqueurs précoces pour développer des algorithmes plus précoces de traitement.

Ces deux projets ont pour but d'étudier l'effet de ces différents types de ventilation sur le cerveau des prématurés et de mieux définir l'effet précoce d'une infection bactérienne ou virale sur les paramètres cardiorespiratoires chez l'agneau à terme (prématuré dans un second temps) pour pouvoir intervenir plus tôt en clinique.

Voici nos deux hypothèses de travail :

1. La ventilation liquidienne totale serait moins délétère pour le tissu pulmonaire en développement que la ventilation gazeuse, permettant une réduction de l'inflammation pulmonaire, systémique, et cérébrale protégeant ainsi le cerveau en développement.

PROGRAMME DE STAGES D'ÉTÉ
 Initiation à la recherche biomédicale
 au Centre de recherche du CHU Sainte-Justine
 Été 2021

2. L'inflammation induite par les infections bactériennes et/ou virales altère les contrôles centraux de la respiration en affectant les noyaux du tronc cérébral expliquant les altérations cardiorespiratoires associées aux sepsis tardif.

Approche expérimentale: Deux modèles d'agneau ont été développés par l'Université de Sherbrooke qui collecte les cerveaux afin que nous puissions mesurer les impacts de ces modèles sur leur développement. Trois groupes d'agneaux prématurés (119-120 jours de gestation au lieu de 148 jours) mâles et femelles sont utilisés : témoins sans ventilation, animaux ventilés en liquidation totale (VLT) pendant 2h puis en gazeux pendant 6h et animaux ventilés en gazeux (VG) pendant 8h dans le projet ventilation. Pour le projet sepsis, deux groupes d'animaux sont étudiés par rapport aux agneaux contrôles : LPS et Poly-IC. Les cerveaux seront perfusés et fixés à Sherbrooke puis analysés par nous. Des techniques de fixation, préparation des tissus, coupe de tissus congelés et immunofluorescence seront faites afin d'identifier des marqueurs cellulaires exprimés et quantifier les changements tissulaires au niveau de la morphologie microgliale, la prolifération, l'apoptose et du recrutement de cellules inflammatoires par microscopie à fluorescence et confocale. Une partie des cerveaux conservés seront placés dans l'azote liquide afin d'étudier l'expression de différents marqueurs inflammatoires précoces comme IL-6, IL-8, TNF- α ainsi que les marqueurs apoptotiques dans différentes régions du cerveau (cervelet, tronc cérébral, hippocampe et cortex) en RT-qPCR.

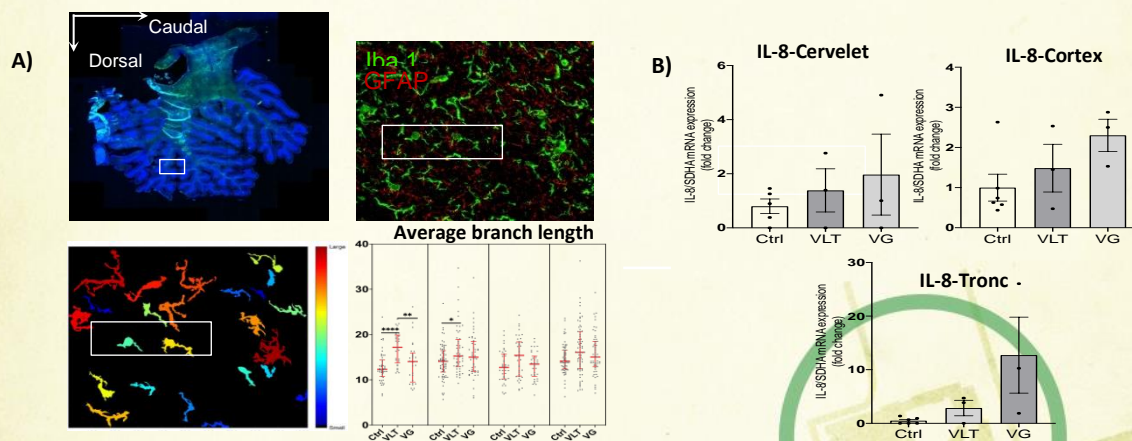


Figure 1. Activation microgliale après la ventilation gazeuse. (A) Exemple d'analyse de morphologie microgliale à partir d'image confocale par le biais de 3DMorph. L'analyse quantitative des microglies suggère une augmentation de la longueur des branches suite à l'initiation de la VLT. (B) Diminution de l'expression du marqueur d'inflammation précoce IL-8 chez les agneaux ventilés par la VLT par rapport aux témoins et à la VG.



Centre de recherche
CHU Sainte-Justine
Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant

Université
de Montréal

PROGRAMME DE STAGES D'ÉTÉ

Initiation à la recherche biomédicale au Centre de recherche du CHU Sainte-Justine Été 2021

Rôle du stagiaire

Le stagiaire réalisera des coupes de différentes parties du cerveau d'agneau (cervelet, hippocampe, cortex et tronc cérébral) au cryostat, effectuera des marquages en immunofluorescence et prendra des photos au microscope confocale. Il évaluera ainsi l'activation microgliale avec le marqueur Iba1, afin d'analyser et de quantifier l'activation microgliale par 3DMorph, un programme basé sur MATLAB permettant une analyse semi-automatique de la morphologie microgliale afin de quantifier des paramètres d'activation tels que le volume cellulaire, la longueur des embranchements et le nombre de terminaisons. Les protocoles seront déjà mis en place et optimisés. L'étudiant sera également en mesure d'effectuer des extractions d'ARN et de la RT-qPCR.

Mots clés

Ventilation liquidienne, prématurés, Microglies, Inflammation cérébrale.

