

Caractéristiques des souris mutantes spontanées

Mellie Poliquin, Catherine St-Louis et Nadine Wiper-Bergeron
Département de médecine cellulaire et moléculaire, Université d'Ottawa

Introduction

Cette recherche se concentre sur des souris victimes de mutation spontanée qui a entraînée une obésité massive adulte. L'obésité est une condition pouvant affecter différentes structures anatomiques et fonctions physiologiques du corps et c'est pour cette principale raison que beaucoup de chercheurs se penchent sur ce sujet. Selon Santé Canada, l'obésité peut causer de l'hypertension artérielle, des maladies coronariennes, le diabète de type 2, des ACV, de l'arthrose, des problèmes respiratoires et même certains cancers.¹ De ces faits, il est possible de stipuler que les souris obèses auront plus de tissus adipeux que les souris contrôles, seront diabétiques ce qui peut entraîner un foie gras, auront de l'hypercholestérolémie, ce qui peut entraîner de l'athérosclérose, et auront peut-être de l'hypertrophie ventriculaire, dû au fait que le cœur doit travailler beaucoup plus intensément. Tout ceci peut alors être vérifié par la présente recherche puisque son objectif principal est de caractériser les souris mutantes spontanées afin de bien comprendre l'impact de cette mutation sur l'anatomie et la physiologie de celles-ci.

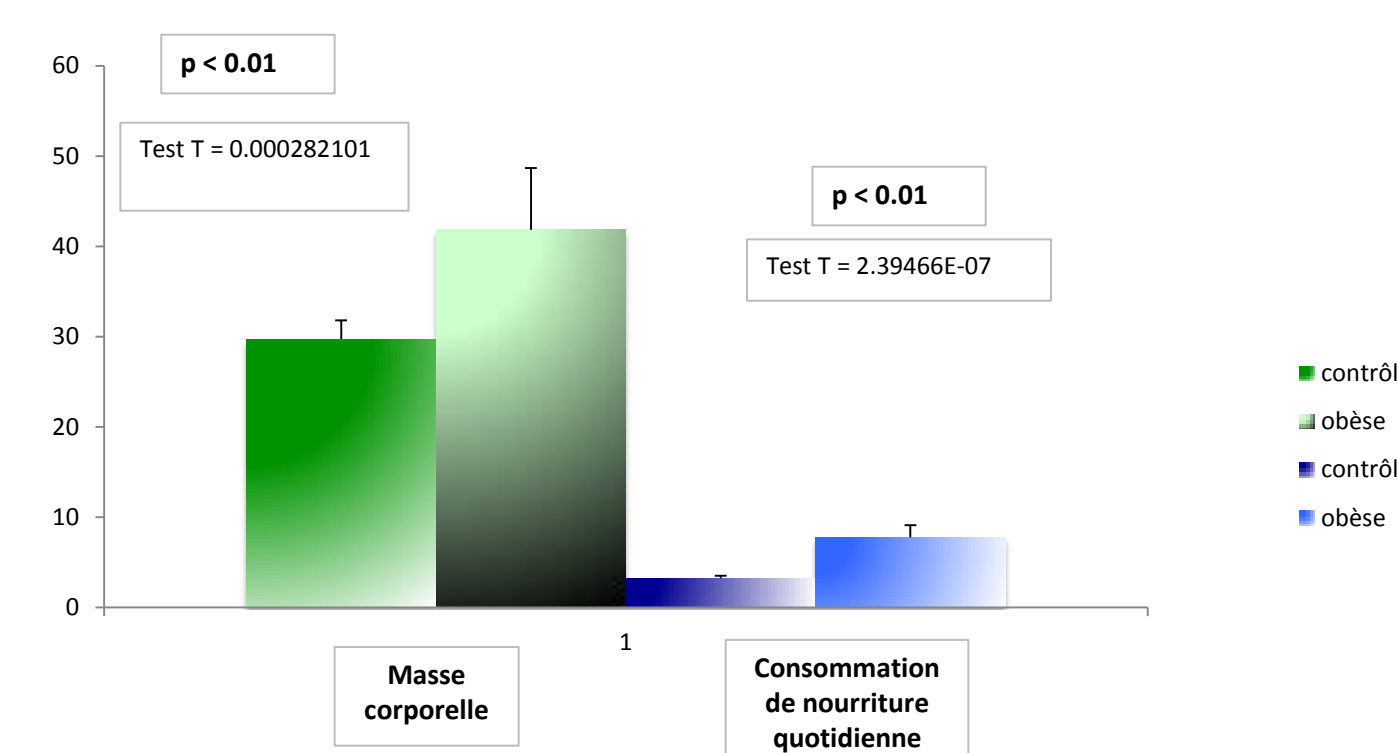
Méthode

Tout d'abord, il était essentiel de faire une étude de nourriture sur la consommation quotidienne et la masse corporelle de chaque souris. Deux génotypes de souris ont été utilisés, l'un représentant les souris contrôles (n = 8) et l'autre désignant les souris mutantes spontanées (n = 8). Avant le sacrifice, un test de glucose sanguin a été fait et ensuite, la souris a été drainée complètement de son sang, qui a été mis de côté pour 1 heure afin de s'assurer que la coagulation est complète. Pour commencer, plusieurs photos ont été prises pour bien comparer les souris contrôles et obèses. Lors de la dissection, les différences physiques et anatomiques des souris contrôles à comparer aux souris obèses ont vraiment été constatées. Plusieurs prélèvements ont été effectués pour isoler les différents tissus et les congelés ensuite pour une future analyse. Les tissus qui ont été récoltés sont : les tissus adipeux blancs (« fat pads »), le foie, la peau, le muscle de la patte (TA), le tibia, la partie inférieure du cœur, donc les ventricules, et les tissus adipeux bruns, qui sont localisés au niveau des omoplates de la souris. Finalement, le sang a été mis dans la centrifugeuse pour en récolter que le sérum. Ensuite, un test de triglycérides totaux¹, des glycérols et des triglycérides (mg/mL) a été effectué. Avec le reste du sérum restant, les tests d'insuline²(ng/mL) et de cholestérol³(μ M) ont été effectués.

Références

¹SANTÉ CANADA et AGENCE DE SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA (2006). « Obésité – Votre santé et vous », Santé Canada, Retiré du site : < <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/lyh-vsv/life-vie/obes-fra.php> > (page consultée le 8 mars 2012).
²SIGMA, Serum Triglyceride Determination Kit, Catalog #TR0100, Storage Temperature : 2-8°C, Technical Bulletin
³MILLIPORE, Elisa Kit, Rat/Mouse Insulin, 96 Well Plate Assay, Cat. #EZRMI-13K
⁴CELL TECHNOLOGY, INC., Product Data Sheet, Fluoro Cholestérol, Catalog #FLCHOL100-2

Résultats



Graphique 1 : Étude de nourriture – Elle a été effectuée pendant les deux semaines précédant la dissection. Celle-ci a permis de récolter les masses en grammes de la consommation de nourriture quotidienne de chaque souris, qui représentent les deux colonnes à droite, en plus de la masse corporelle des souris, qui désigne les deux colonnes à gauche du graphique.



Figure 2 : Anatomie interne – Prise d'une photo d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite), l'un à côté de l'autre, afin de bien comparer la vue intérieure de chaque souris. Ceci permet de mettre en contraste leur masse de tissus adipeux blancs (« fat pads ») en plus du gras sous-cutané. Une règle a été mise pour bien établir les dimensions.



Figure 3 : Structure du foie – Prise d'une photo d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite), l'un à côté de l'autre, afin de bien comparer l'apparence et les dimensions de chaque foie. Le même contenant a été utilisé pour bien définir les proportions.

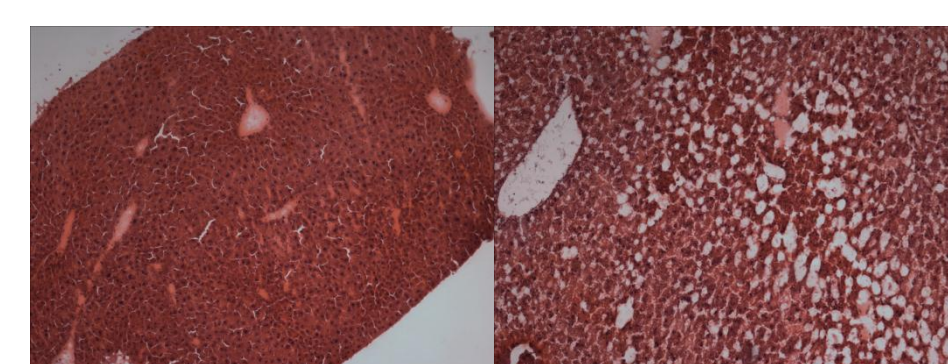


Figure 5 : Histologie du foie – Une prise de photo au microscope d'une coupe de foie d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite). Les foies ont été tranchés en coupes de 10 μ m et ont été colorés à l'aide de la méthode H&E pour ensuite être analysés au microscope avec un objectif 10X.

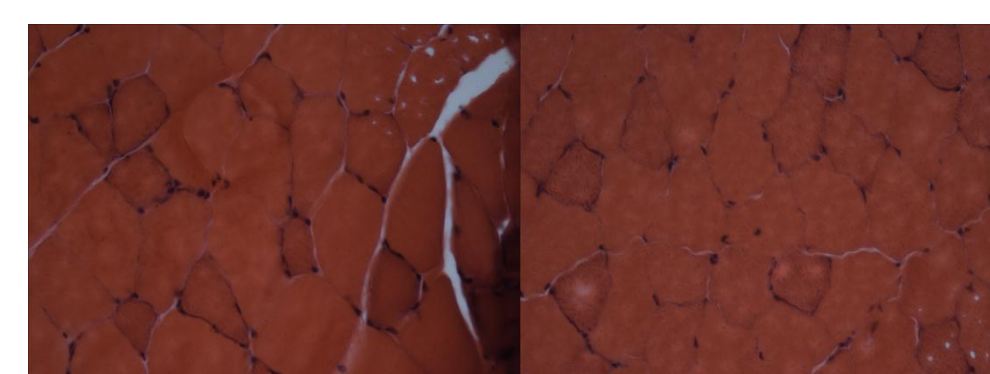
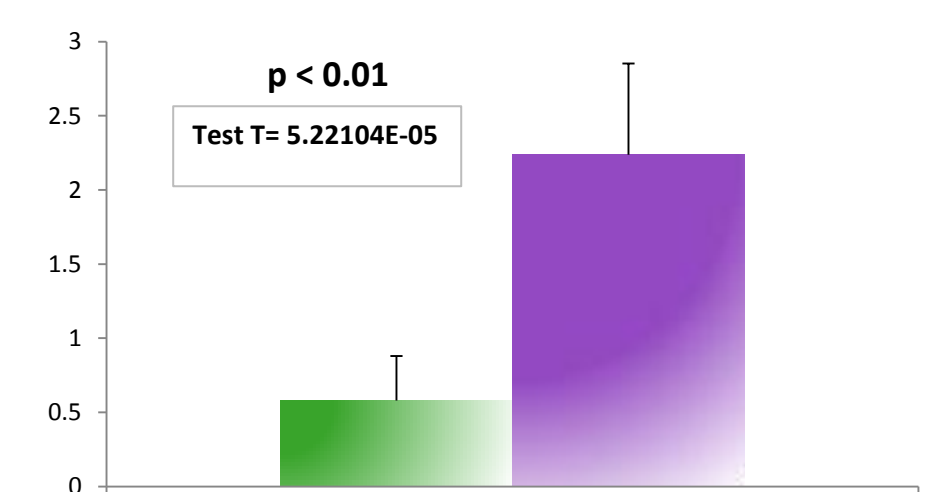
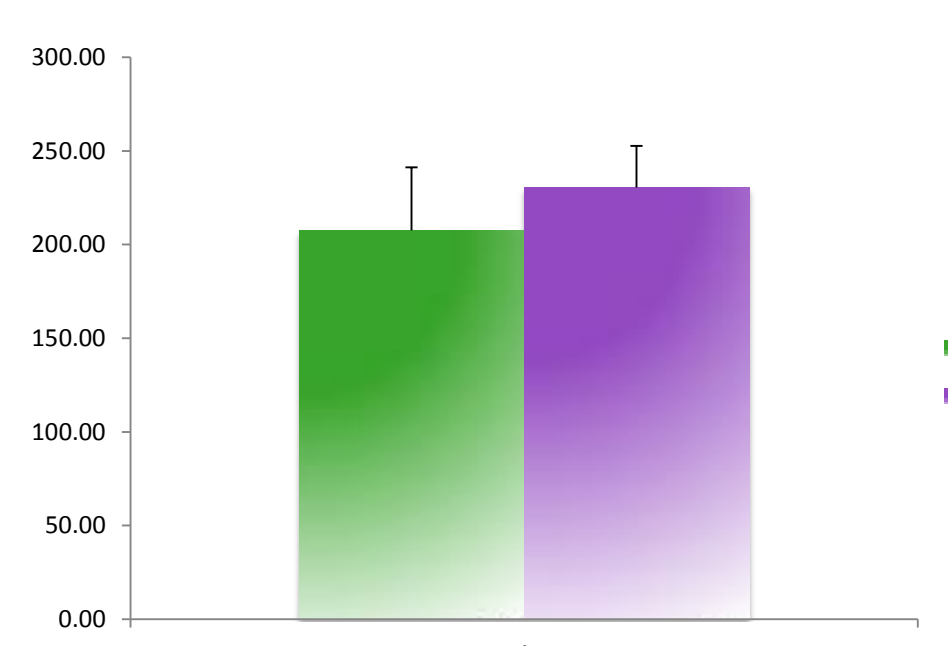


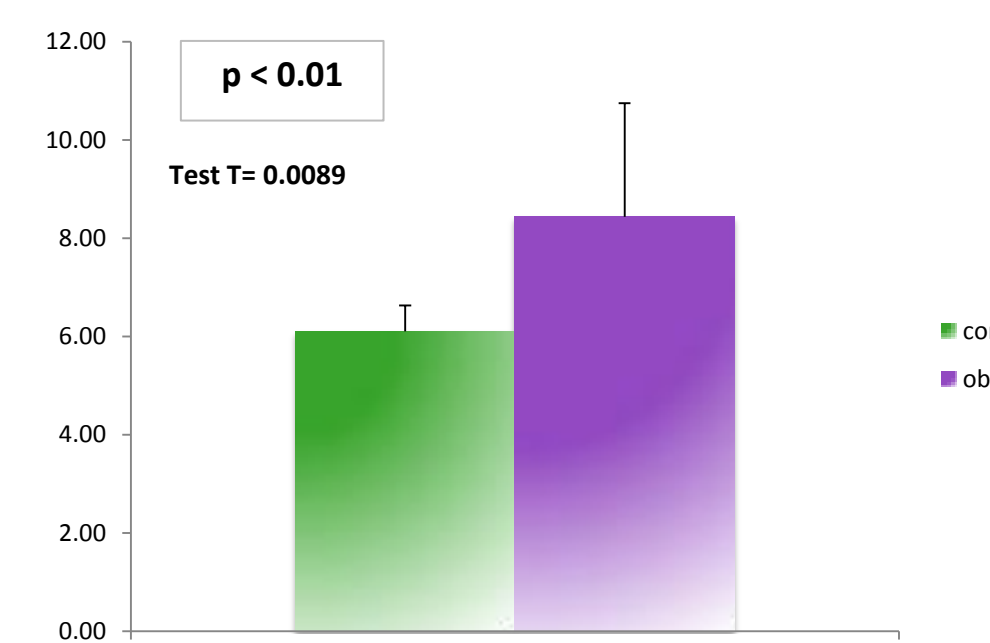
Figure 6 : Histologie du muscle (TA) – Une prise de photo au microscope d'une coupe de foie d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite). Les muscles de la patte ont été tranchés en coupes de 10 μ m et ont été colorés à l'aide de la méthode H&E pour ensuite être analysés au microscope avec un objectif 10X.



Graphique 3 : Masse du tissu adipeux blanc (« fat pads ») – La masse (en grammes) des tissus gras blancs a été effectuée lors de la dissection. Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.



Graphique 6 : Cholestérol – Le cholestérol a été calculé à partir de plusieurs étapes. Avant le sacrifice des souris, leur sang a été drainé complètement et ensuite mis à la centrifugeuse pour en récolter que le sérum. Ensuite, le test de cholestérol a été effectué en plus de différents calculs et équations pour donner les résultats finaux de cholestérol (en μ M). Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.



Graphique 4 : Glycémie – La glycémie a été prise par un test de glucose sanguin juste avant le sacrifice des souris. Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.

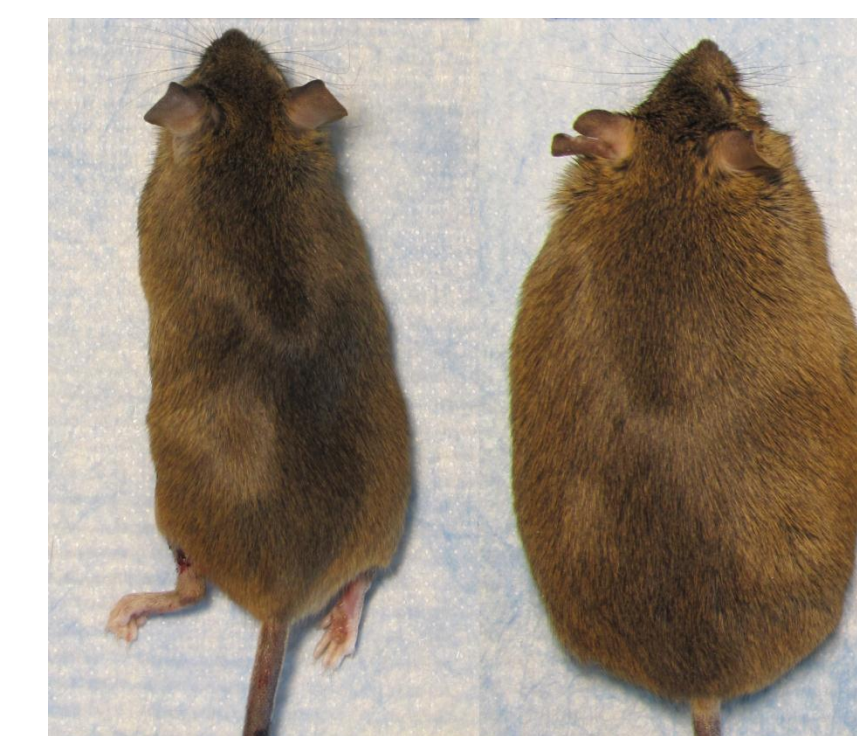


Figure 1 : Apparence corporelle – Prise d'une photo d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite), l'une à côté de l'autre afin de pouvoir comparer adéquatement la vue extérieure de chaque souris. Une règle a été placée pour bien établir les dimensions.

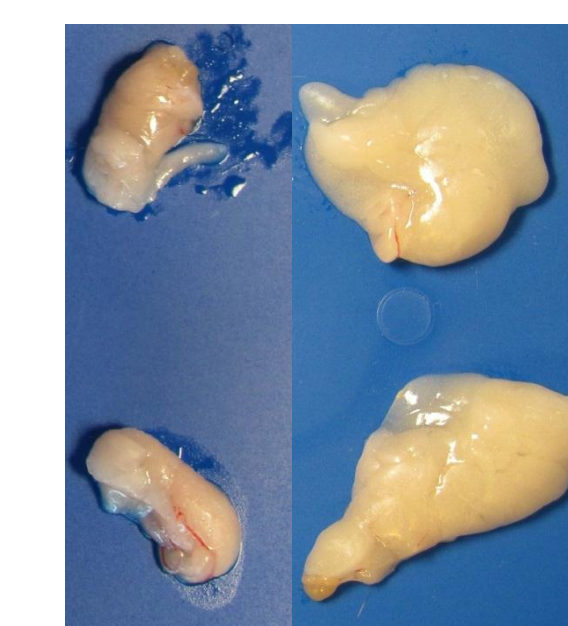
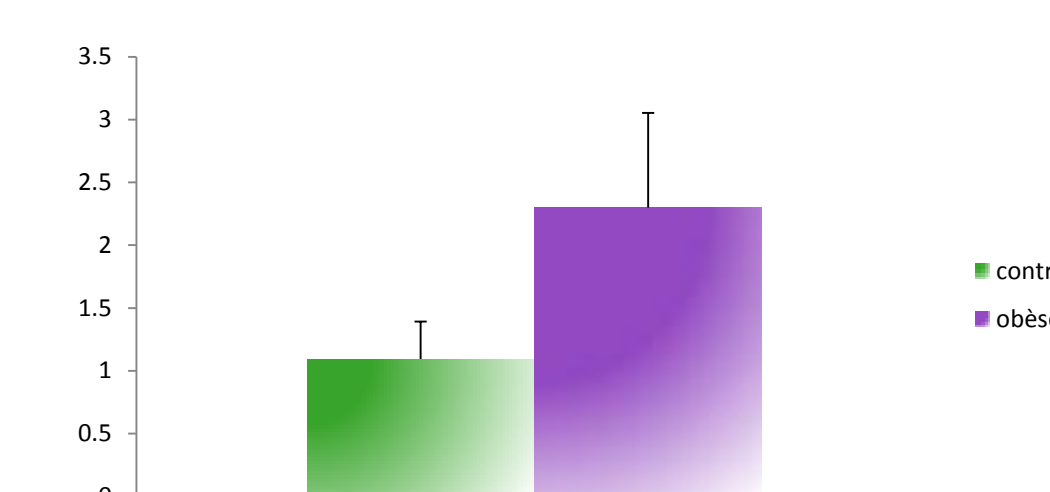
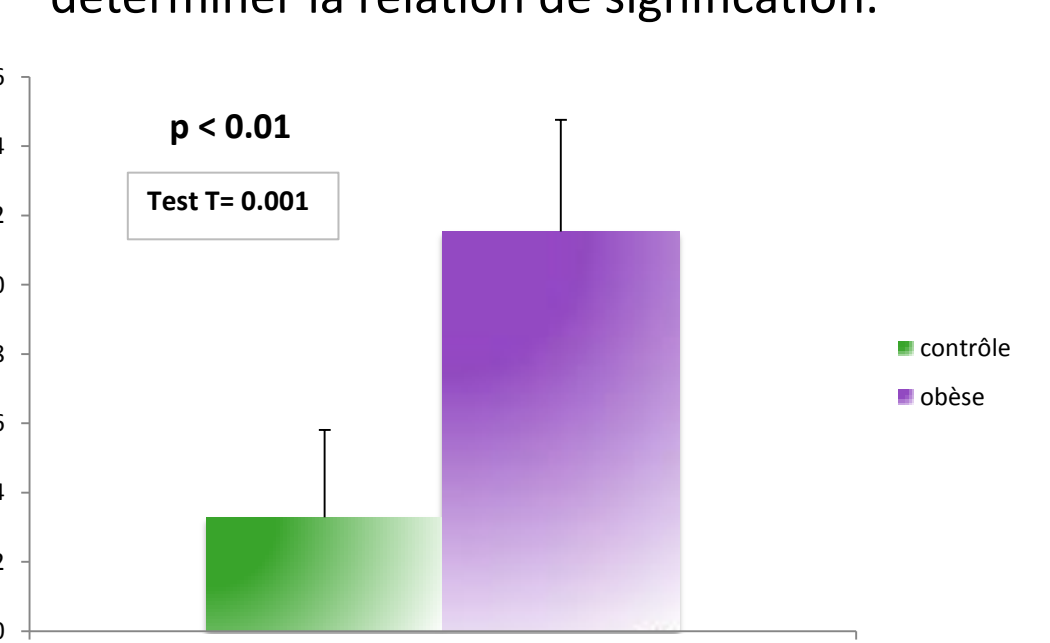


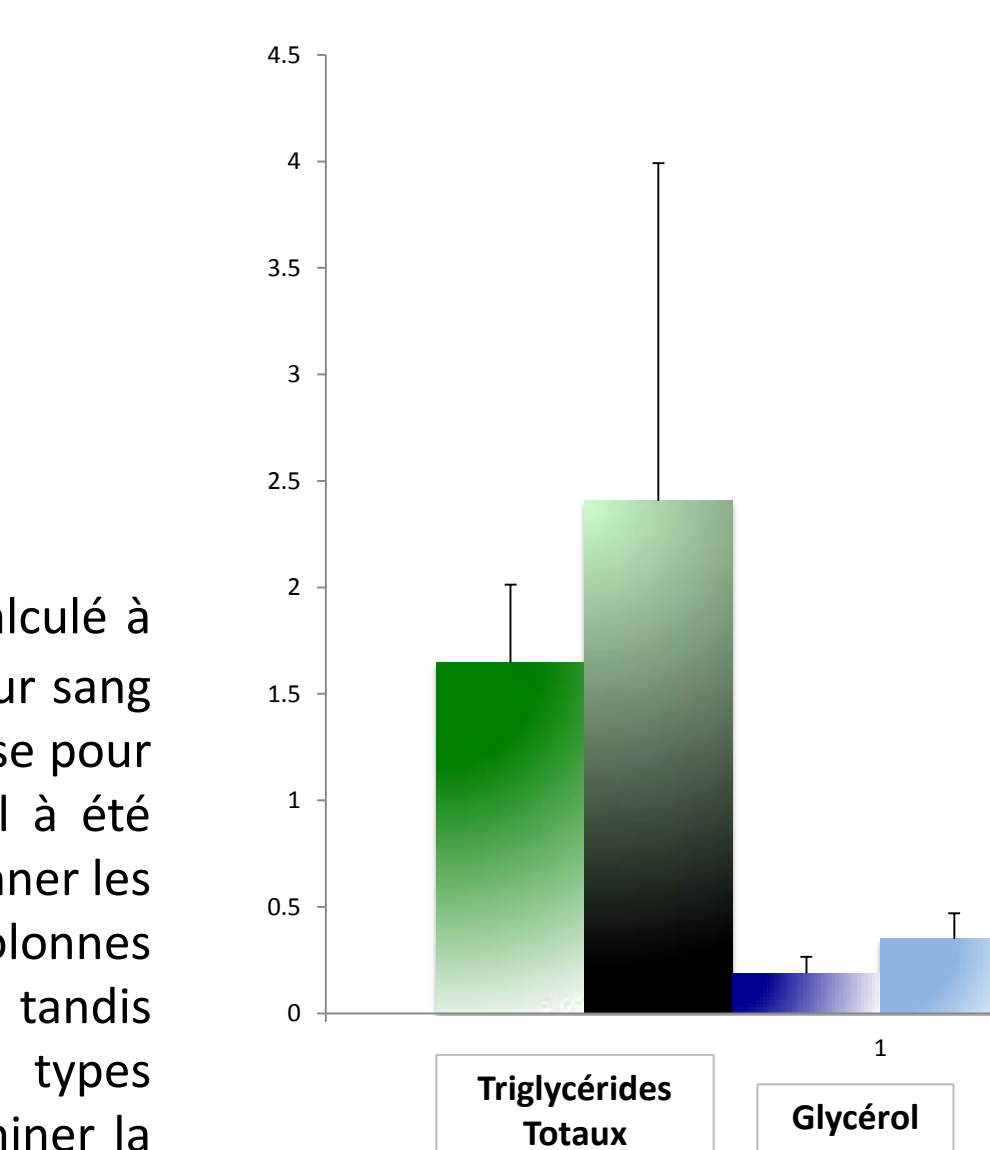
Figure 4 : Structure des tissus adipeux blancs (« fat pads ») – Prise d'une photo d'une souris contrôlée (à gauche) et d'une souris obèse (à droite), l'un à côté de l'autre, afin de mettre en contraste l'apparence et les dimensions de chaque tissu de graisse blancs. Le même contenant a été utilisé pour bien délimiter les proportions.



Graphique 2 : Masse du foie – La masse (en grammes) des foies a été effectuée lors de la dissection. Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.



Graphique 5 : Insuline – L'insuline a été calculée à partir de plusieurs étapes. Avant le sacrifice des souris, leur sang a été drainé complètement et ensuite mis à la centrifugeuse pour en récolter que le sérum. Ensuite, le test de l'insuline a été effectué en plus de différents calculs et équations pour donner les résultats finaux d'insuline (en ng/mL). Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.



Graphique 7 : Triglycérides totaux (Glycérol et Triglycérides) – Les triglycérides totaux ont été calculés à partir de plusieurs étapes. Avant le sacrifice des souris, le sang a été drainé complètement et ensuite mis à la centrifugeuse pour en récolter que le sérum. Ensuite, le test de détermination des triglycérides a été effectué en plus de différents calculs et équations pour donner les résultats finaux des trois catégories de données (en mg/mL). Les colonnes représentent la moyenne des souris contrôles et obèses tandis que la barre d'erreur constitue la valeur des écart types respectifs. Pour finir, le test T a été fait pour bien déterminer la relation de signification.

Discussion

L'étude de nourriture possède des tests T très petits ce que signifie que les souris obèses ont consommé davantage de nourriture que les souris contrôles et que cela démontre le fait qu'elles ont une masse corporelle plus élevée, et ce, de façon significative. Avec les photos des vues extérieures et intérieures et de la structure des tissus adipeux, l'évidence est établie que les souris obèses sont beaucoup plus massives dû au fait qu'elles ont davantage de tissus adipeux blancs au niveau de l'abdomen, et même, de tissu de graisse sous-cutanée à comparer aux souris contrôles. D'ailleurs, la différence entre les souris contrôles et obèses est très significative et qu'elle n'est donc pas dû simplement au hasard. Pour ce qui est du foie, la photo démontre clairement que le foie des souris obèses est beaucoup plus gras que celui des souris contrôles. De ce fait, l'histologie du foie a permis de confirmer vraiment cette constatation. En ce qui concerne la taille et la masse du foie, les souris obèses ont tendance à avoir des foies plus gros. Par contre, le graphique démontre que la relation de signification n'est pas totale et donc généralement dû à une population trop restreinte ou au hasard. Ensuite, l'histologie du muscle de la patte, démontre aucune différence qui soit assez significative entre les deux types de souris. En ce qui a trait à la glycémie et à l'insuline, leurs graphiques démontrent une certaine signification (p < 0.01) qui pourrait laisser sous-entendre que les souris obèses ont tendance à être aussi diabétiques. Par contre, pour ce qui est des triglycérides totaux, simples et des glycérols, la relation n'est pas assez significative, ce qui laisse certains doutes. Finalement, le test de cholestérol a conclu que la signification est loin d'être assez grande pour prouver une différence quelconque.

Conclusion

Cette présente recherche a permis de bien caractériser les souris mutantes spontanées qui sont davantage obèses, très probablement diabétiques, et ont des foies gras. Par contre, il serait intéressant de découvrir si le taux de cholestérol augmentera avec l'âge des souris obèses et causera ainsi un jour l'athérosclérose. Finalement, ceci a été une première recherche qui pourrait constituer une base de données préliminaires pour de futures enquêtes permettant de trouver le gène responsable de la mutation de l'obésité massive adulte chez les souris.

Remerciements

Sincères remerciements à Nadine Wiper-Bergeron (superviseuse principale), Catherine St-Louis (superviseure directe), François Marchildon (aide technique) et au Comité de la bourse du PIRPC pour l'opportunité et les subventions.

Coordonnées

Adresse courriel : Nadine.WiperBergeron@uottawa.ca
Site Web : <http://www.med.uottawa.ca/research/wiper-bergeronlab/>
Téléphone : 1-613-562-5800 EXT. 8176