

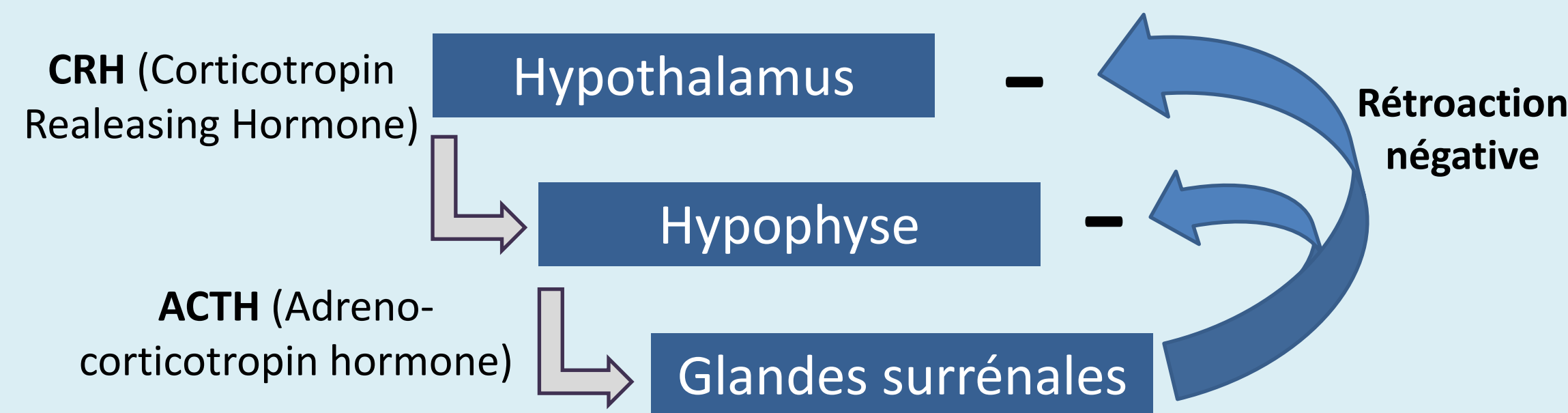
L'impact de l'Antalarmine sur la mort neuronale dans l'hippocampe à la suite d'une ischémie cérébrale globale

Marie-Ève Martineau-Dussault, Patricia B. de la Tremblaye, Hélène Plamondon Ph.D
 Université d'Ottawa, École de Psychologie, Département des Neurosciences Comportementales

Introduction

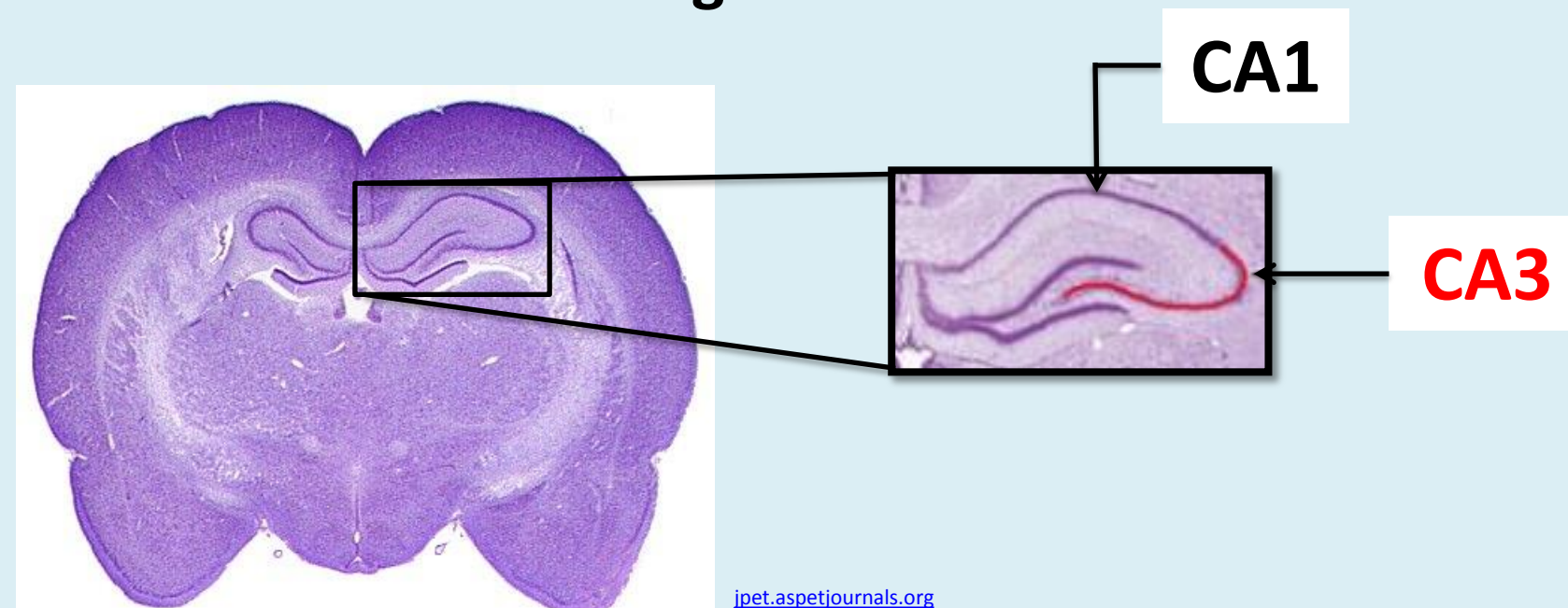
L'accident vasculaire cérébral (AVC) représente la troisième cause de décès la plus répandue au Canada. L'ischémie cérébrale dans sa forme la plus fréquente d'AVC survient lorsqu'un vaisseau sanguin cérébral est obstrué, ce qui empêche le bon fonctionnement de la circulation sanguine dans la portion du cerveau touchée.¹ Le plus souvent, une ischémie cérébrale provoque de la mort neuronale au niveau de l'hippocampe, une structure critique pour la mémoire déclarative.² À l'aide d'études antérieures, il fut possible de déterminer qu'une ischémie globale cérébrale pouvait provoquer une activation accrue de l'axe HPA, qui joue un rôle important dans la sécrétion d'hormones de stress, les glucocorticoïdes.³

Axe HPA – Hypothalamo-Pituaire-Adrénales⁴



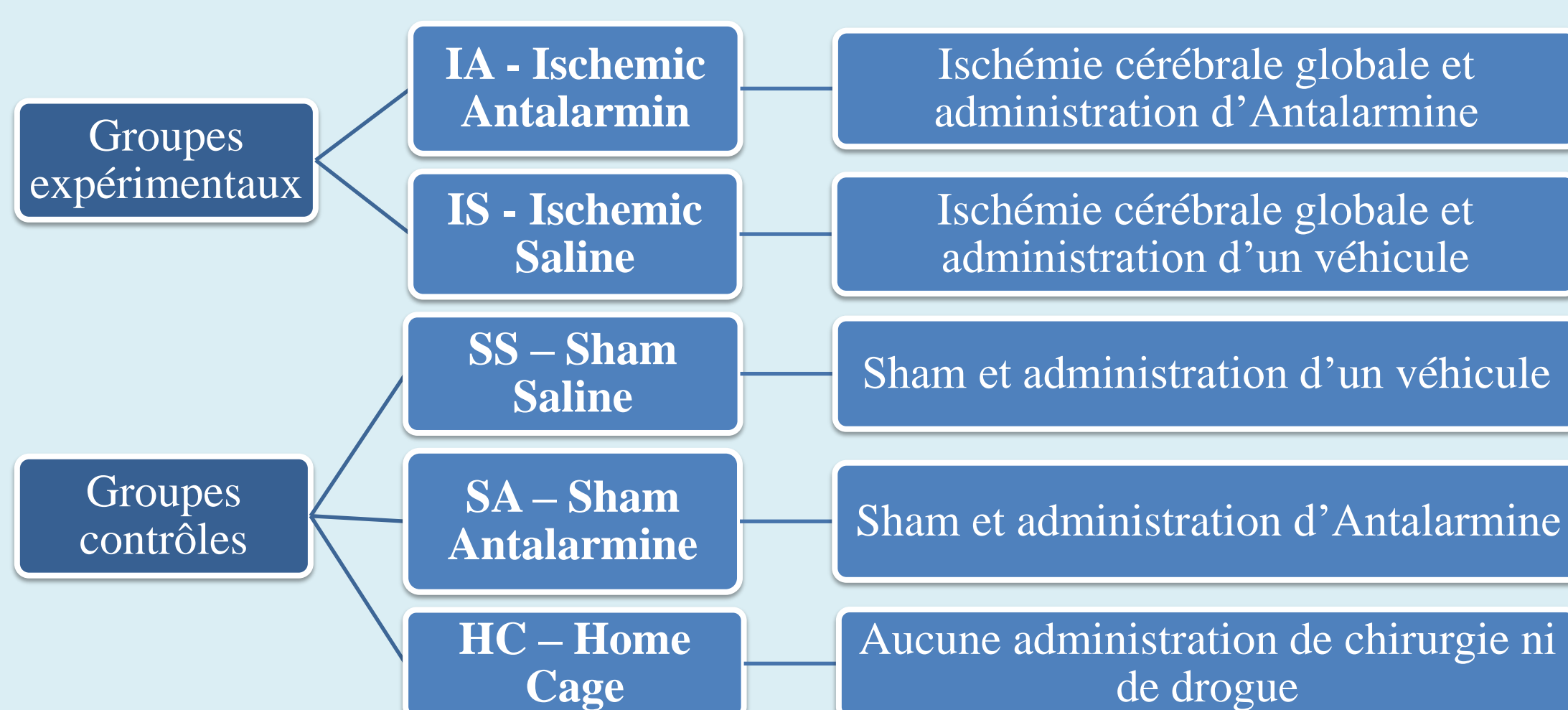
Glucocorticoïdes

L'Antalarmine est une drogue antagoniste du récepteur de type 1 du CRH, une neurohormone coordonnatrice de l'axe HPA. Ainsi, cette drogue permet d'inhiber la réponse de stress chez l'organisme.³ **L'objectif de cette recherche est de déterminer l'impact de l'Antalarmine sur la mort neuronale au niveau de deux sous-régions de l'hippocampe (CA1, CA3) à la suite d'une ischémie cérébrale globale.**

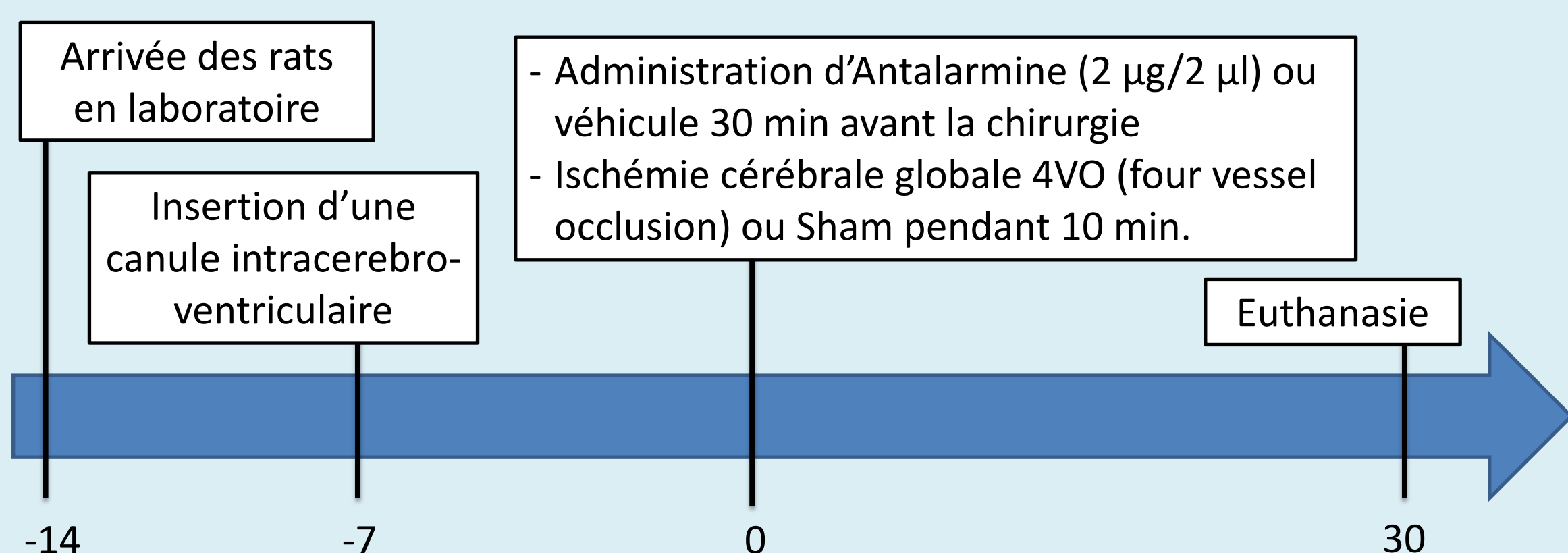


Méthode

Des rats adultes mâles Wistar (n=50) furent répartis en 5 groupes (n=10) :



Ligne du temps de l'expérience (en jours)



HISTOLOGIE

À l'aide d'un Cryostat, des coupes coronales d'une épaisseur de 14 µm furent sectionnées et placées sur des lamelles

COLORATION À LA THIONINE

À l'aide d'une coloration à la thionine, une évaluation histologique du tissu a été réalisée. Par la suite, une quantification manuelle de la densité cellulaire a été effectuée au niveau des régions du CA1 et CA3.

IMMUNOHISTOCHEMIE

De plus, une analyse plus précise de la densité neuronale a été effectuée au niveau du CA1 et CA3 également par la quantification de la densité optique (% de la région impliquée) de l'expression immunohistochemie du NeuN.

CO-LOCALISATION BDNF ET NeuN

Finalement, pour vérifier si les neurones restants exprimaient des facteurs de croissance (neurotrophines), la co-localisation du NeuN et du BDNF a été évaluée par un microscope confocal.

Immunohistochimie - Protocole

Histologie
 Fixer, couper et monter le tissu sur des plaquettes (3 coupes par lamelle)

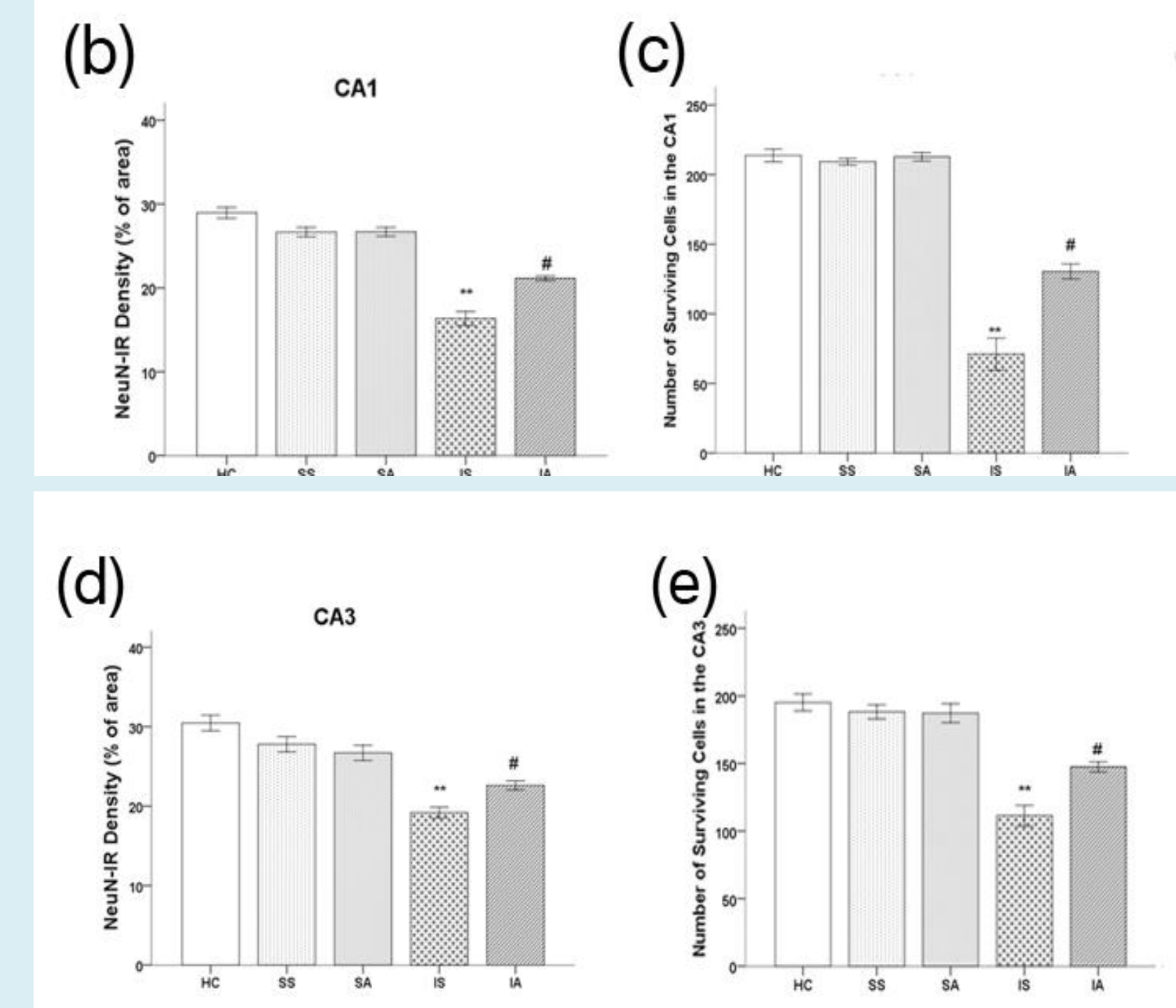
Techniques d'immunohistochimie:
 application d'anticorps primaires sur le tissu, soit le anti-NeuN et le anti-BDNF, puis application d'anticorps secondaires (Alexa 488 et 549). Finalement, application de Hoesht et d'une solution antifade (glycérol)

Observation des sous-régions de l'hippocampe (CA1 & CA3) à l'aide d'un microscope à fluorescence

- NeuN – Vert = Marqueur de neurones matures, plus spécifiquement de noyaux neuronaux.
- BDNF – Rouge = Marqueur de neuroplasticité cérébrale.
- Hoesht – Bleu = Marqueur de noyaux cellulaires.



Densité du NeuN et quantification manuelle des cellules dans le CA1 et CA3



Co-localisation du BDNF et du NeuN au niveau du CA1

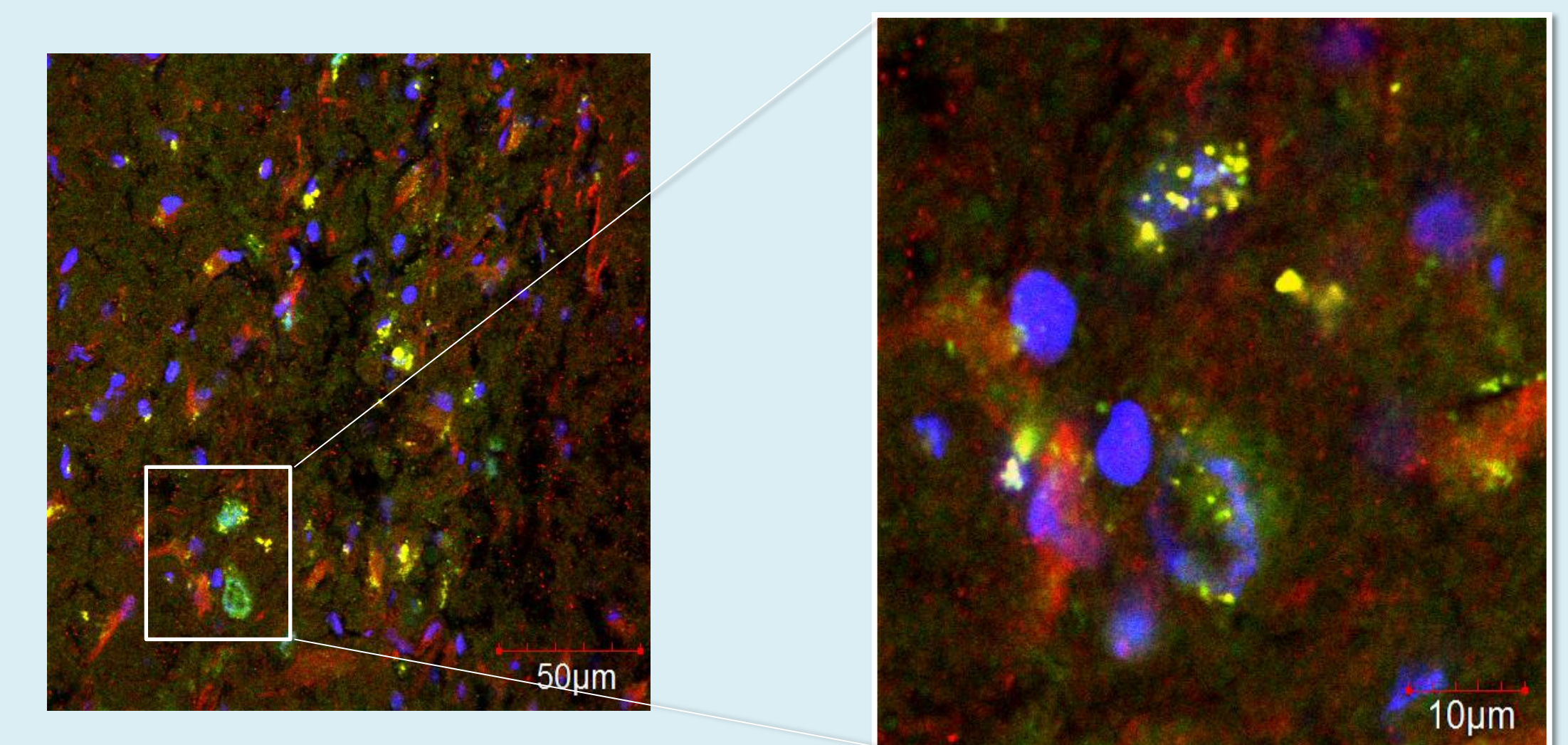


Figure 3: Représentation de la Co-localisation du BDNF (rouge) et du NeuN (vert) en jaune.

Résultats

Expression du marqueur NeuN et représentation des cellules survivantes par coloration à la thionine 30 jours après l'ischémie cérébrale au niveau du CA1 et CA3

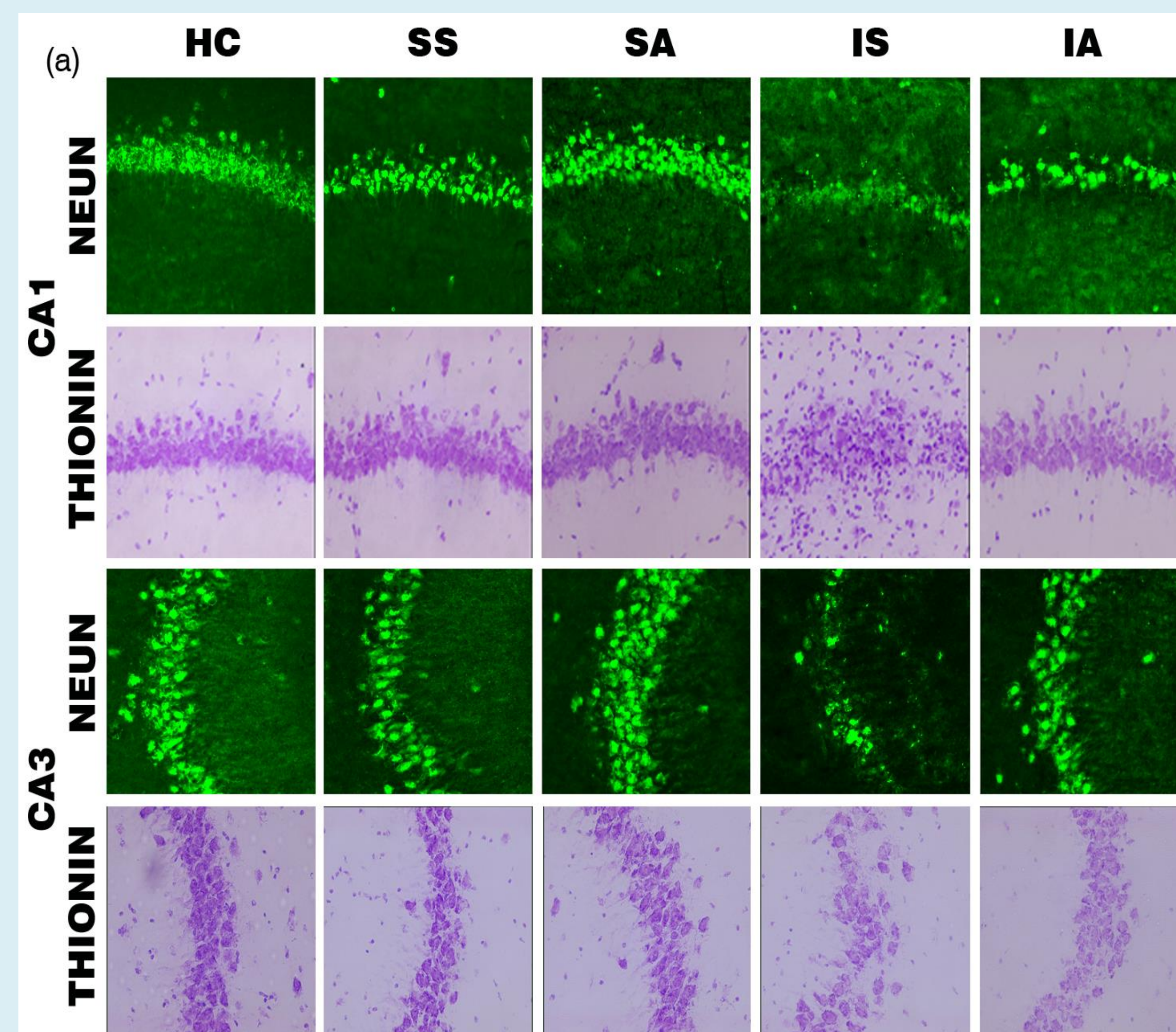


Figure 1: Représentation de l'expression du NeuN (vert) par photographie microscopique fluorescente au niveau du CA1 et CA3 à un zoom de 20X. Cellules colorées à la Thionine (mauve) au niveau des deux mêmes régions par photographie microscopique à un zoom de 20X. Répartition des images dans les 5 groupes: HC (Home Cage), SS (Sham Saline), SA (Sham Antalarmin), IS (Ischemic Saline) et IA (ischemic Antalarmin).

Discussion

Les résultats démontrent une réduction significative de l'expression du NeuN et de la quantité de neurones présente à la suite d'une ischémie cérébrale, au niveau du CA1 et du CA3. Cependant, l'inhibition de la réponse de stress occasionnée par l'axe HPA lors de l'ischémie, par l'usage d'une drogue antagoniste des récepteurs CRHR1, permet une diminution de la mort cellulaire et une plus grande densité neuronale post-ischémie. Ainsi, on note un effet protecteur significatif de l'Antalarmine au niveau de ces deux régions hippocampiques. Finalement, on observe une co-localisation partielle du NeuN et du BDNF dans le CA1 des rats ischémiques soumis à l'Antalarmine, ce qui pourrait indiquer un processus de récupération encore actif, et ce même 30 jours après l'AVC.

Références & Remerciements

Références:

- Public Health Agency of Canada (2009). Tracking Heart Disease and Stroke in Canada. Retrieved from <http://www.phac-aspc.gc.ca/cd-mc/cvd-mcv/sh-fs-2011/index-eng.php>
- Onwuekwe, I., & Ezeala-Adikaibe, B. (2012). Ischemic stroke and neuroprotection. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 2(2), 186. <http://doi.org/10.4103/2141-9248.105669>
- de la Tremblaye, P. B., Raymond, J., Milot, M. R., Merali, Z., & Plamondon, H. (2014). Evidence of lasting dysregulation of neuroendocrine and HPA axis function following global cerebral ischemia in male rats and the effect of Antalarmin on plasma corticosterone level. *Hormones and Behavior*, 65(3), 273-284. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.01.003>
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 434-445. <http://doi.org/10.1038/nrn2639>

Remerciements: Merci au PIRPC (Programme d'Initiation à la Recherche au Premier Cycle) pour cette opportunité. Un remerciement particulier à ma superviseuse, Dr. Hélène Plamondon, ainsi qu'à Patricia B. de la Tremblaye pour leur support, expertise et implication dans ce projet.

Coordonnées: mmart190@uottawa.ca