

Projets de thèse

Caractérisation biologique de la sonde Sulforhodamine-101-NaphtNH₂-Hyp-diMe pour l'étude de l'hypoxie cérébrale du nouveau-né et de l'ischémie cérébrale en microscopie intravitale à deux photons (*Delphine Burel / Julien Chuquet, U982*)

Mail : delphine.burel@univ-rouen.fr

Les études en Neurosciences font de plus en plus appel à la microscopie intravitale à 2-photons, qui permet d'observer, en temps réel, les cellules cérébrales directement au travers d'une fenêtre crânienne, chez la souris anesthésiée. Cette technique encore récente nécessite l'utilisation de sondes fluorescentes dont l'une des plus populaires en neurosciences est la Sulforhodamine, très efficace pour marquer sélectivement le réseau astrocytaire et, par contraste, les neurones. Cependant, il n'existe pour l'heure aucune solution commerciale de sondes fluorescentes sensibles à l'oxygénation, utilisable comme rapporteur de la souffrance hypoxique *in vivo*. C'est donc la caractérisation et le développement de l'utilisation en microscopie à 2-photons *in vitro* et *in vivo* de la sonde hypoxique Sulforhodamine-101-NaphtNH₂-Hyp-diMe, synthétisée par le laboratoire COBRA, que ce programme de recherche propose. Ce développement facilitera grandement l'étude de la physiopathologie des événements cellulaires qui interviennent lors d'une hypoxie cérébrale (en cas d'ischémie ou d'hypoxie périnatale par exemple). De plus, l'intérêt de ce travail pour la recherche scientifique fondamentale s'étend bien au delà des neurosciences: la biologie du développement et la biologie des tumeurs bénéficieront également à terme de la caractérisation d'une telle sonde.

Effet des stimulations magnétiques répétitives trans-médullaire sur la réactivité des cellules souches endogènes dans le cadre des lésions médullaires (*Nicolas Guérout / Jean Paul Marie, EA3830*)

Mail : Nicolas.grerout@univ-rouen.fr

Chaque année, on évalue l'incidence des lésions médullaires de 9.2 à 246 cas par million d'habitants.

Depuis plusieurs années, des études ont été menées afin de proposer un traitement en se basant sur deux axes thérapeutiques : la neuroprotection et la neurorégénération.

De récentes études tirant avantage du système Cre-LoxP ont été menées et ont permis de mettre en évidence que dans la moelle chez l'adulte il existe un potentiel souche restreint aux seules cellules épendymaires qui bordent le canal central. Ainsi, la caractérisation et la réactivité de ces cellules souches endogènes lors d'une lésion médullaire a pu être mise en évidence ; ce qui a permis de proposer ces cellules comme une nouvelle piste thérapeutique prometteuse. Cependant, on ignore toujours comment moduler cette réactivité.

Nous émettons donc l'hypothèse que la réponse des cellules souches médullaires peut être modulée après lésion et serait différentielle en fonction du traitement utilisé. Nous nous proposons de tester cette hypothèse par le biais d'un traitement non-invasif ; la stimulation magnétique répétitive.

La stimulation magnétique répétitive module la neurotransmission, la myélinisation, et a des effets neuroprotecteurs, anti-apoptotiques et neurotrophiques. De ce fait, cette méthode est utilisée dans le traitement de certaines pathologies neurologiques. C'est pourquoi nous nous

proposons de mesurer la réactivité des cellules épendymaires, cellules souches médullaires, après stimulations magnétiques répétitives Trans-médullaire (rTSMS) dans un cadre lésionnel.

Rôle de l'époxyde hydroxylase soluble dans le développement de l'hypertension pulmonaire associée à l'insuffisance cardiaque (*Jeremy Bellien, U1096*)

Mail : Jeremy.bellien@chu-rouen.fr

Il n'existe actuellement pas de traitement de l'hypertension pulmonaire (HTP) et de la dysfonction ventriculaire droite (VD) secondaires à l'insuffisance cardiaque (IC). Ce projet évaluera si la modulation des activités hydrolase et phosphatase de l'époxyde hydrolase soluble par transgénèse (Plateforme de Transgénèse, Nantes) ou inhibition pharmacologique (Université de Californie) prévient le développement de l'HTP et la dysfonction VD chez des rats en présence (U1096) ou en l'absence (U999) d'IC. Les explorations incluront des IRM, des échocardiographies, de l'hémodynamique invasive, de la réactivité vasculaire et des approches de type "omique". Parallèlement, une étude clinique évaluera l'association entre des polymorphismes génétique de la sEH, modifiant ses activités hydrolase et/ou phosphatase, et les caractéristiques cliniques de patients IC, notamment la présence d'HTP (cathétérisme, échographie), afin de confirmer l'intérêt de moduler ces activités chez l'homme (CHU de Rouen)

Interactions entre l'obésité et syndrome de l'intestin irritable : étude des mécanismes au niveau intestinal (*Moïse Coëffier, U1073*)

Mail : Moise.coeffier@univ-rouen.fr

L'obésité et le syndrome de l'intestin irritable (SII) sont deux problèmes de santé publique majeurs, leur prévalence étant, respectivement, de 15 et 4,7% en France. De plus, la prévalence du SII est fortement augmentée chez des sujets obèses, de 15 à 30%. L'obésité et le SII sont des pathologies d'origine multifactorielle ayant cependant des mécanismes physiopathologiques communs comme des facteurs psychologiques (stress), des troubles de la motricité et de la sensibilité intestinale, des modifications de la fonction de barrière et de l'environnement luminal (alimentation, microbiote intestinal). L'objectif de ce projet de thèse est de mieux comprendre les interactions entre l'obésité et les symptômes du SII chez la souris. Deux modèles d'obésité, souris génétiquement obèses ou rendues obèses par une alimentation riche en lipides, et deux modèles mimant le SII, un modèle post-inflammatoire et un modèle de stress (stress d'évitement de l'eau), seront utilisés et combinés. La sensibilité viscérale, la motricité intestinale, la fonction de barrière, ainsi que les voies de signalisation impliquées dans ces processus et le microbiote intestinal, seront étudiées au niveau de l'iléon et du colon. La réponse centrale sera également étudiée en particulier les aires impliquées dans la régulation du stress et de la fonction intestinale (hypothalamus et noyau du tractus solitaire). Enfin, nous étudierons le système ubiquitine protéasome, car des données récentes obtenues par l'utilisation de souris invalidées pour la sous-unité MECL1 suggèrent son implication. Ce projet permettra de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques expliquant les liens entre l'obésité et le SII.

Rôle du neuropeptide 26RFa dans le contrôle de l'homéostasie glucidique par l'hypothalamus (Nicolas Chartrel / Marie Picot, U982)

Mail : Nicolas.chartrel@univ-rouen.fr

Le 26RFa et son récepteur, le GPR103, constituent un système peptidergique hypothalamique dont l'activation stimule fortement la prise alimentaire. Des travaux récents menés au sein de l'équipe 4 de l'Unité INSERM 982 ont révélé qu'au niveau périphérique, le 26RFa joue un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie glucidique en agissant en tant qu'incrétine. Parallèlement, plusieurs études ont démontré l'existence, au sein de l'hypothalamus, d'un système gluco-régulateur capable de moduler l'homéostasie glucidique en coordination avec les îlots pancréatiques. Compte tenu de ces éléments, l'objectif de ce projet de thèse est de rechercher un rôle éventuel du 26RFa dans la régulation centrale de l'homéostasie glucidique. Pour ce faire nous répondrons à 4 questions : 1/ Les neurones exprimant le 26RFa font-ils partie du système neuronal gluco-régulateur de l'hypothalamus ? 2/ quels sont les effets centraux du 26RFa sur la glycémie? 3/ La régulation centrale de l'homéostasie glucidique par le 26RFa est-elle un mécanisme insulino-dépendant ou insulino-indépendant ? 4/ Quels circuits neuronaux hypothalamiques sont recrutés par le 26RFa pour réguler la glycémie ?

Nous pensons que notre projet permettra d'identifier un nouvel acteur de la régulation centrale de l'homéostasie glucidique, contribuant ainsi à mieux comprendre les mécanismes fondamentaux régissant ce processus physiologique et la pathologie qui lui est associée à savoir le diabète.

Analyse protéomique, propriétés de ré-épithélisation et preuve de principe de l'utilisation clinique des membranes amniotiques humaines lyophilisées en vue d'une greffe de la surface oculaire (Marc Muraine / Aurélie Bisson, EA 3829)

Mail : Marc.muraine@chu-rouen.fr

Analyse protéomique, propriétés de ré-épithélialisation et preuve de principe de l'utilisation clinique des membranes amniotiques humaines lyophilisées en vue d'une greffe de la surface oculaire

La greffe de membrane amniotique humaine (MAH), en raison de sa capacité à réduire l'inflammation et promouvoir une ré-épithélialisation rapide, permet la cicatrisation des ulcères pré-perforants de la cornée et ainsi de sauver un nombre significatif d'yeux victimes de brûlures chimiques. Pour son utilisation en clinique, la MAH stérile doit être facile à transporter du centre préleveur au centre greffeur, et stockable longtemps et facilement. Le mode de conservation le plus fréquemment utilisé est la cryopréservation à -80, compliquant l'acheminement des membranes. Par conséquent, la Banque de Cornées de Rouen souhaite développer la lyophilisation des MAH pour faciliter son utilisation et sa distribution. Le premier objectif de ce projet est de mettre au point la lyophilisation des MAH et d'évaluer les propriétés physico-chimiques et biologiques après conservation. Pour cela, une étude protéomique sera réalisée par comparaison des MAH lyophilisées (MAHL) aux cryoconservées (MAHC) et fraîches par une approche ciblée et globale (label free au sein de la plateforme PISSARO). L'analyse histologique permettra de s'assurer de l'intégrité des MAHL. Le second objectif consistera à évaluer *in vitro* et *in vivo* la capacité de ré-épithélialisation des MAHL dénudées par les cellules épithéliales de cornées humaines. À terme, l'objectif principal est de développer l'utilisation clinique des MAHL, inédite en France, répondant notamment à des besoins humanitaires (Cameroun).