

Subvention

■ Dans le cadre de l'appel à Projet « *Soutien de Projets Emergents 2021* », le Cancéropôle Nord-Ouest a sélectionné le projet du Dr **Oana Chever**, Maître de Conférences dans l'équipe Astrocyte et Niche Vasculaire (Chef d'équipe :



Hélène Castel), de l'Unité Inserm 1239 (Directeur : **Youssef Anouar**), intitulé « *Mise en place de la photométrie in vivo pour l'étude des interactions neurones-cellules de gliome* ». Montant de la subvention : 20 000 euros.

Prix

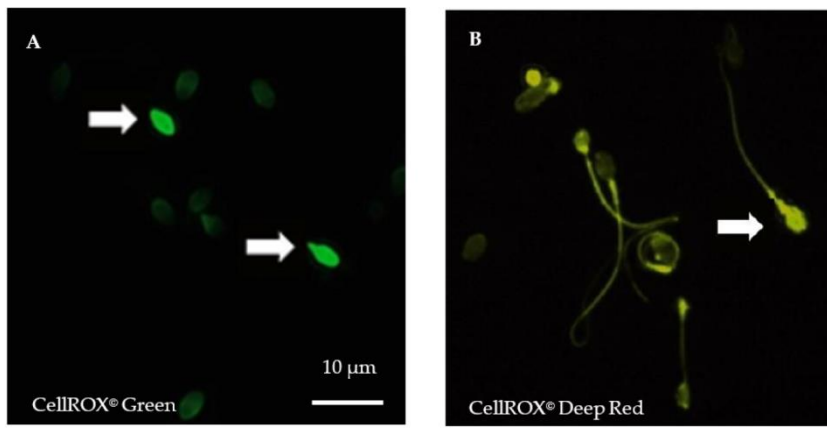
■ Dans le cadre des Doctoriales Vallée de Seine qui se sont déroulées du 12 au 16 avril 2021, proposées par le Collège des Ecoles Doctorales, deux doctorants de l'UMR Inserm 1073, dirigée par le Professeur **Pierre Déchelotte**, ont été récompensés lors du Challenge Innovant. Ces doctorants ont obtenu la 1^{ère} (**Candice Lefebvre**) et la 3^{ème} (**Colin Salaün**) place dans les projets Isobox 2.0 et C-GESNIAL propo-



sés respectivement par Equiways/Labéo et la Métropole de Rouen Normandie. Les Doctoriales, proposées aux étudiants en doctorat toutes disciplines confondues, sont une expérience unique où l'esprit d'équipe et l'ouverture aux autres domaines de recherche valorisent le doctorat pour accompagner des entreprises avec une demande précise.

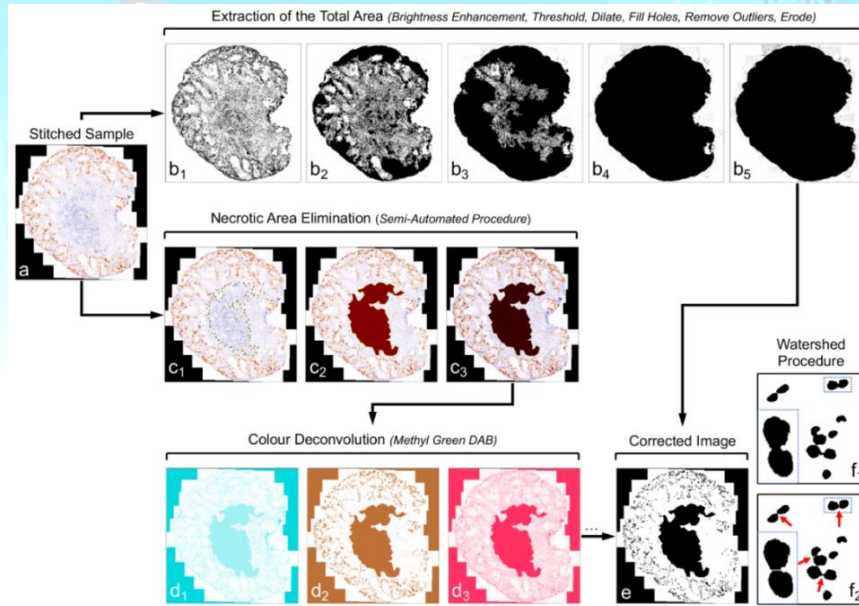
Publications

■ **Berby B., Bichara C., Rives-Feraille A., Jumeau F., Pizio P.D., Sétif V., Sibert L., Dumont L., Rondanino C. and Rives N.** *Oxidative stress is associated with telomere interaction impairment and chromatin condensation defects in spermatozoa of infertile males.* Dans cet article publié dans *Antioxidants* (10.3390/antiox10040593), les chercheurs de l'EA 4308 (directeur : Pr **Nathalie Rives**) ont cherché à déterminer si le stress oxydatif, notamment la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), avait un impact sur les altérations nucléaires des spermatozoïdes, en particulier sur l'organisation de la chromatine et les interactions entre les télomères dans les spermatozoïdes d'hommes infertiles. Cette étude observationnelle et prospective inclue 52 hommes, répartis dans le "groupe de cas" (30 hommes infertiles présentant des altérations des paramètres conventionnels du sperme) et le "groupe de contrôle" (22 hommes avec des paramètres conventionnels normaux du sperme). Les hommes infertiles présentent des niveaux significativement plus élevés de ROS cytoplasmiques et de défauts de condensation de la chromatine, ainsi qu'un nombre moyen plus élevé de signaux télomériques par spermatozoïde par rapport aux témoins. De plus, le nombre moyen de signaux télomériques par spermatozoïde est positivement corrélé avec le pourcentage de spermatozoïdes présentant des défauts de condensation de la chromatine.



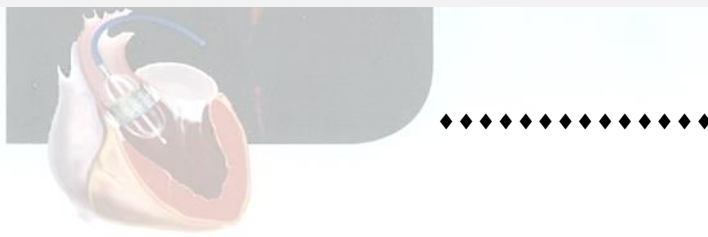
Détection des ROS cytoplasmiques et nucléaires dans les spermatozoïdes. Les spermatozoïdes marqués à l'aide des sondes fluorescentes vitales CellROX® Green (ROS spécifiques de l'ADN des mitochondries, A) et Deep Red (ROS spécifiques du cytoplasme des mitochondries, B). A l'état réduit, les sondes CellROX® sont non fluorescentes mais leur oxydation déclenche une forte fluorescence. Les spermatozoïdes positifs et oxydés présentent une forte tête spermatique marquée (flèches blanches).

■ Dumont L., Levacher N., Schapman D., Rives-Feraille A., Moutard L., Delessard M., Saulnier J., Rondanino C. and Rives N. *IHC_Tool: An open-source Fiji procedure for quantitative evaluation of cross sections of testicular explants*. Dans cet article publié dans *Reproductive Biology* (doi: 10.1016/j.repbio.2021.100507), les chercheurs de l'EA 4308 (directeur: Pr **Nathalie Rives**) ont développé un outil d'analyse d'image d'immunohistochimie numérique automatisé et abordable permettant une évaluation quantitative et impartiale de coupes de tissus testiculaires. En effet, l'analyse immunohistochimique est une procédure de routine pour les études cliniques et de recherche sur la fertilité masculine mais la plupart des interprétations subissent une certaine subjectivité. De plus, il a été démontré qu'une variabilité intra- et inter-observateurs était présente, notamment entre différents centres. La procédure classique de comptage manuel a été évaluée. Le bruit de fond a été réduit sur les images prises en fond clair. Les images ont été rassemblées (*Background_Elimination_Stitching*) afin de générer des images de haute qualité. La procédure *IHC_Tool* avec des images enregistrées en TIFF à un grossissement $\times 200$ couplée à *Necrotic_Area_Elimination* (retirant la zone nécrotique de l'analyse) a permis une quantification des noyaux immunomarqués de façon rigoureuse. Les scripts Fiji développés pour cette analyse peuvent être utilisés pour différents types de tissus afin de minimiser les variations entre les laboratoires.

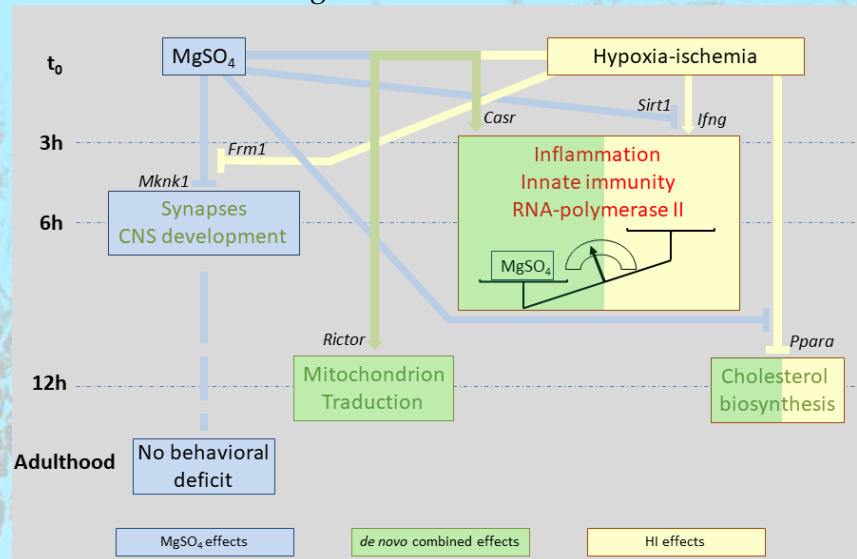


Évaluation de l'expression par immunofluorescence de CB₂ sur des explants testiculaires. La représentation schématique de la procédure automatisée de comptage *IHC_Tool*. À partir de l'échantillon corrigé et combiné (a), la surface totale de la section de tissu testiculaire est extraite par une succession de processus : *Mask, Dilate, Fill Holes, Remove Outliers* et *Erode* (b₁-b₅). Par une procédure semi-automatique, la zone nécrotique induite lors des cultures *in vitro* a été délimitée, quantifiée et éliminée de l'analyse (c₁-c₃). Les résultats des images sont enregistrés en 16 bits [255] afin de respecter le concept d'image binaire. L'image couleur originale (en RVB) a été déconvoluée selon la procédure DAB du *Methyl Green*, permettant

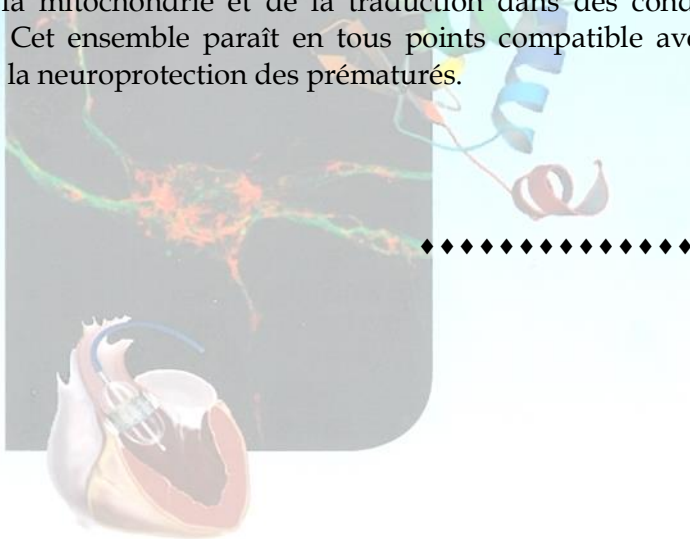
l'extraction de 3 images correspondant aux 3 couleurs d'intérêt (d₁-d₃). Après correction de l'image brune (d₂) et transformation en image binaire (e), un traitement de type *Watershed* a été appliqué (f₁-2), permettant la séparation des noyaux contigus (flèches rouges).



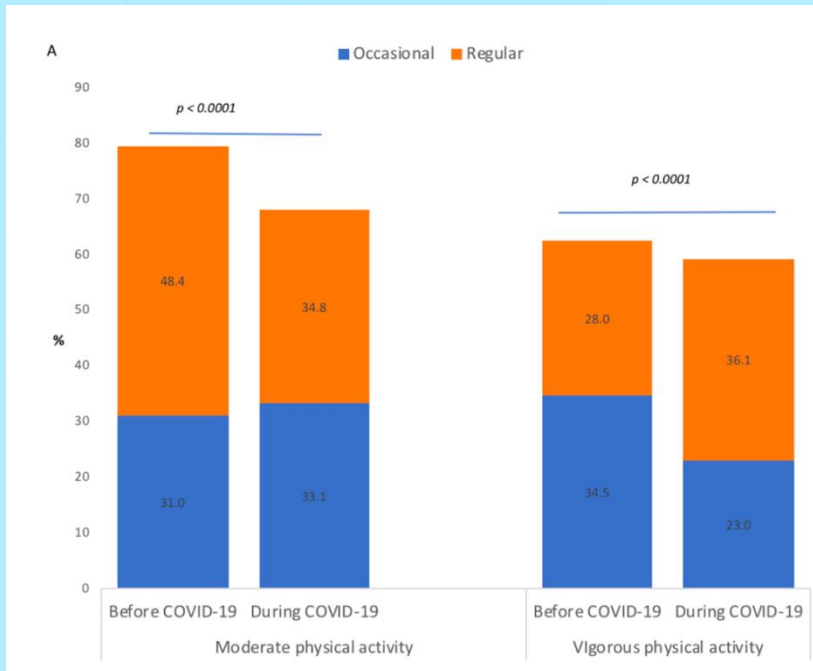
■ **Le Dieu-Lugon B., Dupré N., Derambure C., Janin F., Gonzalez B.J., Marret S., Arabo A. and Leroux P.** *Effect of neuroprotective magnesium sulfate treatment on brain transcription response to hypoxia ischemia in neonate mice.* Le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) est l'un des rares outils de prévention des handicaps neurologiques acquis des prématurés, mais son mode d'action reste largement incertain. Dans cet article publié récemment dans *International Journal of Molecular Sciences* (2021, 22, 4253. <https://doi.org/10.3390/ijms22084253>), les chercheurs de l'Equipe 4 (Dr **Bruno Gonzalez**) et de l'Equipe 1 (Pr **Claude Houdayer**) de l'UMR Inserm 1245 (Dr **Gaël Nicolas**), du Service de Pédiatrie Néonatale, Réanimation-Neuropédiatrie du CHU-Charles Nicolle (Pr **Stéphane Marret**) et du Service Ressources Biologiques du CURIB (Dr **Arnaud Arabo**) ont réalisé une étude transcriptomique sur micro-arrays, dans le cerveau de souriceaux de 5 jours, traités par une injection unique de $MgSO_4$ seul ou préalablement à une hypoxie-ischémie (HI). La transcription de centaines de gènes est affectée dans les groupes expérimentaux. L'injection de $MgSO_4$ provoque principalement des répressions, culminant après 6h, dont l'analyse bio-statistique révèle l'inhibition de la synaptogénèse et du développement axonal. Les protéines codées par *Mnk1* et *Frm1* apparaissent comme les cibles moléculaires de $MgSO_4$, à l'origine de ces effets. Des études comportementales à l'âge adulte ne montrent cependant pas d'effets à long terme du $MgSO_4$ administré à 5 jours et excluent une interférence redoutée avec les récepteurs glutamatergiques de type NMDA. Les effets observés après une injection de $MgSO_4$ suivie d'une HI excèdent largement la sommation des effets séparés des traitements. Le pré-traitement par $MgSO_4$ réduit l'inflammation et les réponses immunitaires innées observées après une HI, probablement par la prévention de l'expression de cytokines (*Ccl2*, *Ifng*, interleukines). Des effets observés *de novo* chez des animaux $MgSO_4$ -HI affectent les fonctions mitochondriales *via* la répression de gènes de la phosphorylation oxydative et de nombreuses NAD-déhydrogénases. Le freinage de la traduction protéique apparaît aussi très probable *via* la répression de nombreux gènes codant des protéines ribosomiales, essentiellement localisées à la synapse. Tous ces effets semblent dépendre d'un effet activateur de $MgSO_4$ au niveau de la protéine mTORC2 (codée par *Rictor*). Des effets épigénétiques pourraient aussi être induits par l'interaction de $MgSO_4$ au niveau des gènes *Sirt1* and *Frm1*. Cette étude confirme les effets anti-inflammatoires du $MgSO_4$, montre des effets freinateurs de la dépense énergétique aux niveaux de la mitochondrie et de la traduction dans des conditions d'HI seulement, et l'absence d'effets secondaires. Cet ensemble paraît en tous points compatible avec une utilisation prophylactique sécuritaire du $MgSO_4$ dans la neuroprotection des prématurés.



Shéma simplifié des effets du $MgSO_4$ (en bleu) et de l'HI (en jaune) appliqués séparément ou en association (en vert) sur la transcription génique dans les hémisphères cérébraux de souris de 5 jours. Les gènes illustrés ont été identifiés comme "putative upstream regulators" des effets observés. Les textes en rouge ou en vert indiquent respectivement des activations ou des inhibitions de fonctions.



■ **Tavolacci M.P., Wouters E., de Velde S.V., Buffel V., Déchelotte P., Hal G.V. and Ladner J.** *The impact of COVID-19 lockdown on health behaviors among students of a French university.* Dans cet article publié dans *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2021,18, 4346), les chercheurs de l'UMR Inserm 1073 (Drs **Marie-Pierre Tavolacci** et **Joël Ladner**) se sont intéressés à l'impact du premier confinement (17 mars au 11 mai 2020) sur les comportements en santé des étudiants.

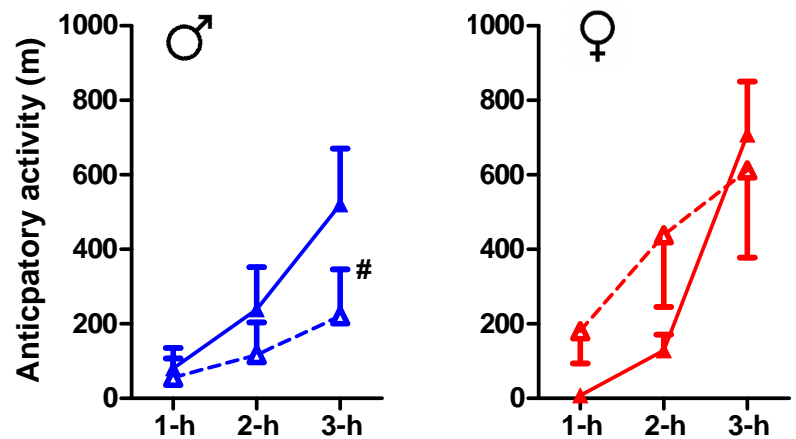


Evolution de l'activité physique entre la période avant la pandémie COVID-19 et pendant le 1^{er} confinement 2020 chez les étudiants de l'Université de Rouen-Normandie (n=3671)

Malgré cette évolution globalement favorable, certains étudiants ont aggravé leurs comportements surtout les étudiants stressés de ne pas pouvoir réussir leur année académique et ceux avec un score de dépression élevé. L'activité physique a aussi diminué comme attendue (figure) même si l'activité physique intense a pu être presque compensée à domicile surtout chez les étudiants les plus stressés par la pandémie COVID-19. La même étude, un an après, vient d'être conduite permettant ainsi de suivre l'évolution des comportements de santé chez les étudiants.

■ **Tirelle P., Breton J., Kauffmann A., Bahlouli W., L'Huillier C., Salameh E., Amamou A., Jarbeau M., Guérin C., Goichon A., do Rego J.-C., Déchelotte P., Ribet D. and Coëffier M.** *Gut microbiota depletion affects nutritional and behavioral responses to activity-based anorexia model in a sex-dependent manner.* Dans cet article publié dans *Clinical Nutrition* (2021, PMID: 33933739 ; DOI: 10.1016/j.clnu.2021.04.014), les chercheurs de l'Unité Inserm 1073 ADEN (directeur : Pr **Pierre Déchelotte**), en collaboration avec la plateforme SCAC de l'IRIB, montrent que la réponse au modèle murin d'anorexie associée à l'activité physique (modèle ABA) est modifiée en absence de microbiote intestinal en terme d'évolution de l'état nutritionnel mais également au niveau comportemental.

De façon intéressante, l'absence de microbiote intestinal induit également des effets différents en fonction du sexe. En effet, l'absence de microbiote intestinal diminue la perte de poids observée en réponse au modèle ABA chez les souris mâles et les souris femelles alors qu'elle ne modifie pas le comportement (activité anticipatoire, comportement anxieux) et les taux d'expression des récepteurs des voies dopaminergique et sérotoninergique chez les souris mâles. Ces données renforcent le rôle de l'axe microbiote-intestin-cerveau dans la physiopathologie de l'anorexie mentale, pathologie à forte prédominance féminine. Ces travaux ont été réalisés dans le cadre de la thèse de **Pauline Tirelle**.

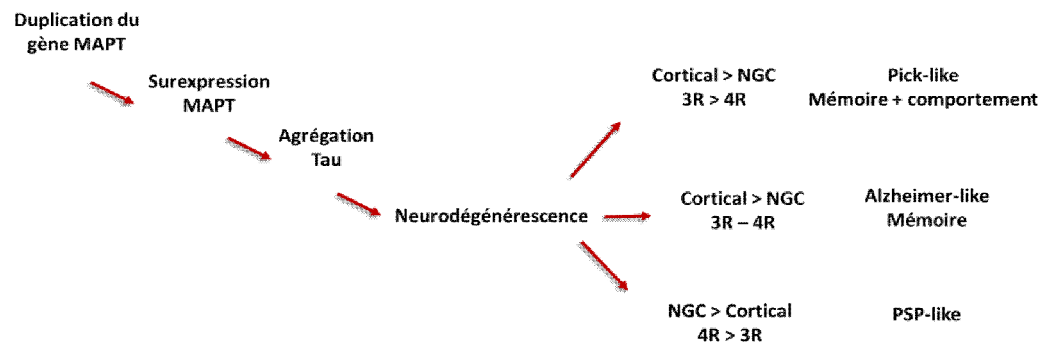


Activité anticipatoire au jour 16 du modèle activity-based anorexia mesurée chez des souris mâles et femelles avec (ligne pleine) ou sans microbiote intestinal (ligne en pointillés), #, $p < 0.05$.

■ Wallon D., Boluda S., Rovelet-Lecrux A., Thierry M., Lagarde J., Miguel L., Lecourtois M., Bonneville A., Sarazin M., Bottlaender M., Mula M., Marty S., Nakamura N., Schramm C., Sellal F., Jonveaux T., Heitz C., Le Ber I., Epelbaum S., Magnin E., Zarea A., Rousseau S., Quenez O., Hannequin D., Clavaguera F., Campion D., Duyckaerts C. and Nicolas G. *Clinical and neuropathological diversity of tauopathy in MAPT duplication carriers*. *Acta Neuropathologica* (2021 Jun 6. doi: 10.1007/s00401-021-02320-4. PMID: 34095977). L'équipe 3 « Genomics for Brain Disorders » de l'UMR Inserm 1245 a rapporté en 2017 des microduplications de la région chromosomique

17q21.31 comportant le gène *MAPT*, qui code pour la protéine Tau, chez de rares patients atteints d'une maladie neuro-dégénérative caractérisée par de graves troubles de la mémoire avec ou sans modifications du comportement et pouvant mimer cliniquement une maladie d'Alzheimer (Le Guennec et al., *Molecular Psychiatry*, 2017). La description neuropathologique d'un unique patient montrait une tauopathie primaire, qui ne correspondait pas à un sous-type connu. Récemment, deux sujets porteurs de la même duplication

ont été rapportés avec un syndrome extrapyramidal atypique évoquant un diagnostic de paralysie supranucléaire progressive (PSP), une autre forme de tauopathie. L'équipe 3 de l'UMR 1245 et le Centre National de Référence Malades Alzheimer Jeunes (CNRMAJ, CHU de Rouen) a mené une collaboration avec le laboratoire de neuropathologie de l'hôpital de la Pitié Salpêtrière, une équipe de recherche de l'Institut du Cerveau (Paris Brain Institute, ICM), et une équipe de l'hôpital Saint-Anne et du CEA à Paris, permettant d'éclaircir et d'étendre la description de cette entité. Les résultats sont rapportés dans la prestigieuse revue *Acta Neuropathologica*. Les auteurs rapportent tout d'abord les résultats concernant le phénotype de 10 porteurs de duplications de *MAPT* issus de 9 familles, dont 2 nouveaux cas index non apparentés, concernant les données cliniques (n=10), des biomarqueurs du liquide céphalorachidien (LCR) (n=6), des données IRM (n=8), Datscan (n=4), d'imagerie fonctionnelle (n=5), PET amyloïde (n=3) et PET Tau (n=2) ainsi que les examens neuropathologiques complets pour 4 d'entre eux. Cette étude a permis de montrer qu'une même duplication génomique peut mener à des trajectoires neurodégénératives différentes, certains patients présentant une agrégation préférentielle de la forme dite 3R de la protéine, d'autres de la forme dite 4R, d'autres avaient une agrégation mixte 3R et 4R. Les localisations des dépôts dans le cerveau, leur morphologie, et leur composition 3R/4R corrélaient très bien avec les présentations cliniques et paracliniques, certains patients présentant une maladie à prédominance corticale (troubles de la mémoire et/ou du comportement) et d'autres patients, situés à une autre extrême du spectre, présentaient une atteinte essentiellement motrice, de type PSP, avec une atteinte prédominante des noyaux gris centraux. L'étude de l'ARN extrait de cerveaux n'a pas permis de mettre en évidence une différence d'épissage de l'exon 10 du gène *MAPT*, qui pourtant détermine l'isoforme 3R *versus* 4R. Les résultats des études cellulaires de modèles biosenseurs HEK suggéraient une agrégation morphologiquement distincte après ensemencement par des extraits de cerveau issus de l'un ou l'autre des patients, suggérant un phénomène de type Prion-like, où la morphologie et la composition des agrégats initialement formés pourraient conditionner l'évolution et la progression des lésions dans les cerveaux selon un type et une route physiopathologique expliquant potentiellement la diversité observée. Ainsi, la surexpression modérée entraînée par la duplication pourrait faire le lit des agrégations rencontrées. Leur nature et les caractéristiques en termes de localisation, d'extension et donc des symptômes associés, pourrait dépendre de seeds, éléments initiateurs de l'agrégation, créés sous l'influence potentielle d'autres facteurs, génétiques ou non, dans ce contexte favorable.



Trajectoires physiopathologiques associées à la duplication du gène *MAPT* et menant à une maladie neurodégénérative caractérisée par une agrégation de la protéine Tau ressemblant à une maladie de Pick (dégénérescence lobaire fronto-temporale, avec des changements comportementaux au premier plan), à des troubles de la mémoire mimant une maladie d'Alzheimer, ou à des troubles extrapyramidaux et cognitifs ressemblant à ceux observés dans les Paralysies Supranucléaires Progressives (PSP). NGC : noyaux gris centraux

Thèse

■ Madame **Justine Saulnier** (EA4308 ; directeur Pr **Nathalie Rives**) a soutenu le 8 juin 2021 une thèse de Sciences intitulée « *Congélation et maturation in vitro de tissu testiculaire de rats prépubères* » (directeur de thèse : Pr **Nathalie Rives**, co-encadrant : Dr **Christine Rondanino**). **Justine Saulnier** a réalisé sa thèse avec le soutien d'une allocation doctorale de l'Université Rouen Normandie.

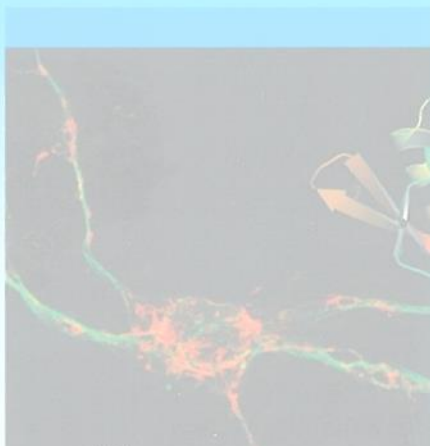
DIU Investigateur en Recherche Clinique

■ Pour celles et ceux qui sont impliqué(e)s ou souhaitent s'impliquer dans la recherche clinique, le **DIU Investigateur en Recherche Clinique** est fait pour vous !

Il vous permettra d'acquérir les bases théoriques et pratiques afin de mener à bien vos futurs projets de recherche chez l'Homme. Il est organisé en 4 sessions (sous format hybride présentiel/distanciel). Il fait intervenir des enseignants d'horizons variés et représentatifs de la diversité de la recherche clinique.

Pour toute information complémentaire, contacter **Maud Nicolai** au Centre d'Investigation Clinique à l'adresse suivante : maud.nicolai@chu-rouen.fr

RECHERCHE & INNOVATION BIOMÉDICALE
EN NORMANDIE



Comité de rédaction : Dr Youssef Anouar (youssef.anouar@univ-rouen.fr) – Pr Pierre Déchelotte (pierre.dechelotte@chu-rouen.fr)
Secrétariat : Laurence Matéo (laurence.mateo@univ-rouen.fr)

