Quantification de dépôts de protéines amyloïdes par microscopie de fluorescence à feuillets de lumière

PF.24-AM

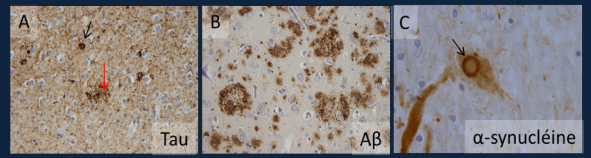
Romain Perbet[1, 2, 3] (romain.perbet@inserm.fr), Jean-Baptiste Gibier[1], Per Hammarström[5] , Antonino Bongiovanni[4] , Raphaëlle Caillerez[3] ,Luc Buée[2, 3]

[1] *Institut de Pathologie, CHU, LILLE, France;* [2] *Université de Lille, Lille, France;* [3] *Lille Neurosciences et cognition, INSERM, Lille, France;* [4] *Plateforme d'Imagerie Cellulaire, Université de Lille, Lille, France ;* [5] *Department of Chemistry, Linköping University, Linköping, Suède*

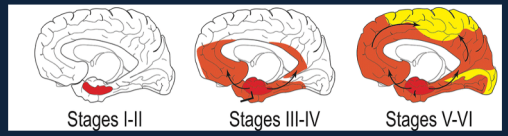
INTRODUCTION

La majorité des maladies neurodégénératives est caractérisée par un dépôt de protéines anormales sous forme de feuillets β-plissés. Il s'agit par exemple de la protéine tau et β-amyloïde pour la maladie d'Alzheimer ou de la protéine α-synucléine pour la maladie de Parkinson. Sur les coupes de cerveaux autopsiques, ces agrégats protéiques peuvent être mis en évidence par différentes méthodes : imprégnation argentique de Gallyas, Rouge Congo, immunohistochimie avec utilisation d'un anticorps primaire dirigé contre le constituant majeur de l'agrégat.

L'extension dans les différentes aires cérébrales et l'abondance de ces agrégats sont parfois corrélées à la sévérité clinique.



A/B : Aire de Brodmann n°39 , Maladie d'Alzheimer. A : dégénérescence neurofibrillaire (flèche noire); plaques (flèche rouge) ; B : plaques diffuses C : Mésencéphale, Maladie de Parkinson. Corps de Levy (flèche noire)



Au cours de l'évolution de ces maladies, les agrégats protéiques sont de plus en plus nombreux et affectent de plus en plus de zones cérébrales. Il a ainsi été décrit différents stades évolutifs spécifiques de chaque maladie.

PROBLÉMATIQUE

Depuis plusieurs années, de nombreux modèles animaux reproduisant ces dépôts ont été créés. Ces modèles ont permis d'étudier la physiopathologie de la maladie mais également l'efficacité de potentiels traitements comme les immunothérapies passives.

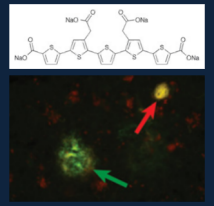
Le contrôle de l'efficacité de ces thérapeutiques nécessite souvent l'étude du cerveau en coupes flottantes après réalisation de techniques immunohistochimiques. Les dépôts sont ensuite quantifiés sur chaque coupe.

L'objectif de ce travail était de développer une technique rapide de quantification des lésions, réalisable sur cerveau entier.

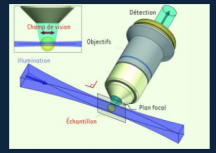
MÉTHODES

1/ Transparisation : Dissolution des lipides

2/ Marquage Fluorescent : HFTAA

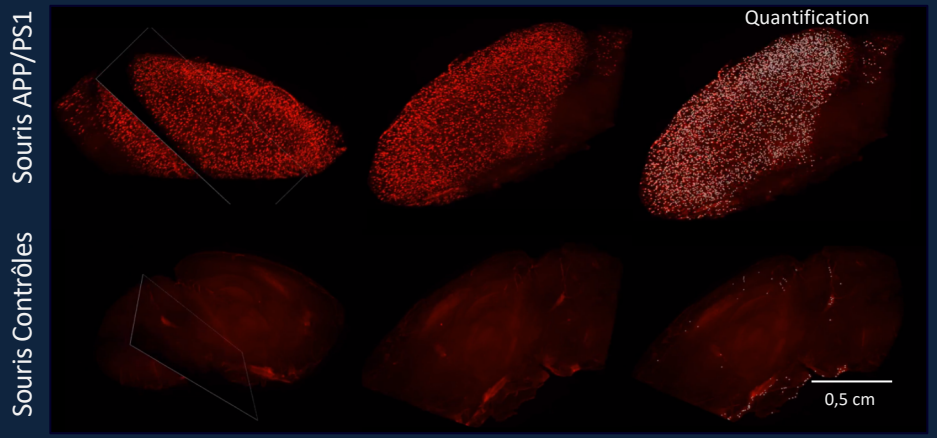


3/ Acquisition de l'image + reconstruction 3D : microscope de fluorescence à feuillets de lumière



RÉSULTATS :

Images après reconstruction 3D et quantification des dépôts amyloïdes



Conclusion : la microscopie de fluorescence à feuillets de lumière semble être une méthode efficace pour la quantification des dépôts amyloïdes sur organes entiers.