

Imagerie IRTF de haute résolution des interactions cellules-fibres pour l'étude des effets pathogènes des amiantes.



Yao Seydou
CBMN

Il est assez bien accepté que des maladies pulmonaires tel que l'amiantose ou le mésothéliome, dont la sévérité dépend du phénotype cellulaire impliqué, proviennent de l'interaction entre les fibres d'amiantes et les cellules humaines. Du fait de l'hétérogénéité morphologique et chimique des fibres et l'obligation de disposer de moyens analytiques capables d'analyser l'interaction entre espèces organiques et inorganiques, les détails du processus pathologique restent largement méconnus. En effet, la toxicité des fibres d'amiante ne dépend pas seulement de leurs dimensions mais aussi de leur chimie. Cela implique qu'il existe de nombreux types d'interaction fibre - cellule, rendant difficile l'interprétation du phénomène. Grâce à leur non invasivité, la possibilité d'étudier des cellules individuelles et l'obtention d'informations moléculaires ou chimiques globales, les techniques spectroscopiques, telles que l'infrarouge et le Raman, sont appropriées pour évaluer les interactions fibres - cellules. Cependant, il existe certaines limites analytiques, telles que la perte de sensibilité des détecteurs lorsque l'on analyse des échantillons très petits (cellules individuelles), une faible résolution latérale et l'impossibilité d'étudier des échantillons riches en eau (IR), ou encore un effet ionisant de la source (laser) sur un échantillon biologique vivant en Raman. Des études préliminaires dans notre laboratoire ont permis de développer l'imagerie infrarouge couplée à une source synchrotron afin de surpasser certaines de ces limites (amélioration du rapport S/B permettant d'utiliser une résolution latérale à la limite de diffraction ou mieux). Durant ce travail de doctorat, les travaux réalisés ont permis de déterminer les substrats les plus appropriés pour effectuer une culture cellulaire et pour obtenir une image IR de bonne qualité spectrale. Nous avons mis en évidence que les substrats les plus adéquats pour l'imagerie infrarouge de cellules cryofixées sont Si, Ge et Si₃N₄. Nous avons ensuite étudié les effets de la présence de fibres d'amiantes lors de la culture de cellules pulmonaires. En comparant les résultats obtenus à partir de différents types de fibres et pour différentes concentrations, nous avons observé des changements moléculaires permettant d'établir le seuil de toxicité des espèces

d'amiante selon leur concentration. Nous avons aussi développé l'imagerie infrarouge *in vitro* sur un nouveau concept d'optique ATR, cependant sans pouvoir exploiter cette méthodologie en routine pour étudier l'interaction cellule - fibres d'amiante. Par contre, nous avons pu développer la microscopie confocale Raman pour l'étude *in vitro* du comportement des cellules selon la morphologie des fibres en présence. A l'aide de techniques de reconstruction des images spectrales 3D, telles que l'analyse en composante principal ou l'analyse de classes, nous avons pu démontrer que les fibres d'une longueur inférieure à 5µm sont internalisés par la cellule au sein de vésicules lipidiques alors que pour des fibres plus longues, et jusqu'à 15µm, elles sont totalement isolées dans la matrice extracellulaire. Au-delà de cette longueur, les fibres sont incomplètement isolées par la cellule, devenant donc potentiellement plus pathogénique au plan mécanique. Ainsi, l'utilisation des techniques spectroscopiques Raman et infrarouge nous ont permis d'obtenir des informations morphologiques et chimiques complémentaires, apportant une meilleure compréhension des mécanismes de défense des cellules en interaction avec les fibres d'amiantes.