

Spectroscopie multimodale combinant ToF-SIMS, synchrotron-FTIR et -UV sur une coupe unique de foie cirrhotique

V. Petit(1) • M. Réfrégiers(2) • C. Guettier(3,4,5) • A. Brunelle(1) • O. Laprèvote(1,6) • P. Dumas(2) • F. Le Naour (3,4)

(1)Centre de Recherche de Gif, Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Gif-sur-Yvette • (2)Synchrotron Soleil, Gif-sur-Yvette

(3)INSERM U785, Villejuif • (4)Faculté de médecine Paris-Sud, Kremlin-Bicêtre • (5)Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital P. Brousse, Villejuif

(6)Chimie Toxicologie Analytique et Cellulaire, EA 4463, Fac. des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Univ. Paris Descartes, Paris.

La spectrométrie de masse et les autres méthodes spectroscopiques permettent d'analyser la composition chimique d'un tissu. Avoir accès aux distributions moléculaires est un atout majeur pour étudier les modifications biochimiques associées aux processus biologiques. La spectroscopie FTIR [1] permet d'avoir une vision globale de la composition chimique du tissu, la spectrométrie de masse ToF-SIMS [2] donne accès à la composition moléculaire, en particulier les petites molécules et les lipides, et la spectroscopie UV [3] peut donner des informations sur les molécules fluorescentes. L'avantage principal de ces trois techniques réside dans le fait qu'il ne faut aucun traitement de l'échantillon avant d'effectuer l'analyse et qu'elles permettent d'atteindre des résolutions spatiales à l'échelle cellulaire. Dans cette étude, trois méthodes spectroscopiques différentes, la spectrométrie de masse ToF-SIMS, les rayonnements synchrotron-FTIR et UV, ont été utilisées sur une coupe unique de tissu. Jusqu'à présent, peu d'études ont été faites sur le couplage de la spectrométrie de masse ToF-SIMS avec la spectroscopie FTIR, et aucune utilisant aussi la spectroscopie UV. Récemment, nous avons utilisé l'IR et la spectrométrie de masse pour étudier la composition chimique in situ d'une coupe de foie stéatosique. Cependant ces études avaient été réalisées sur des coupes sériées car des supports différents avaient été utilisés [4].

Notre étude a porté sur une coupe de foie cirrhotique. Les coupes ont été effectuées à -20°C puis déposées sur une lame de verre recouverte d'or et sur une plaque de silicium. Les deux supports ont été utilisés pour l'imagerie ToF-SIMS. Les analyses ToF-SIMS sont réalisées avec une source d'agrégats Bi3+ avec une résolution spatiale de 2 µm. Pour la spectroscopie synchrotron-FTIR, les spectres ont été obtenus avec une taille de pixel de 10x10 µm². La spectroscopie synchrotron-UV a été effectuée avec un monochromateur UV entre 270 et 330 nm avec pour cette étude une résolution spatiale de 2 µm.

L'intérêt de notre étude réside dans le couplage des trois méthodes spectroscopiques en utilisant un même support. Les coupes ont été tout d'abord déposées sur une lame de verre recouverte d'or pour effectuer les analyses par spectroscopie FTIR. Les images montrent la distribution des lipides, protéines, sucres et des acides

nucléiques au niveau du tissu. Les acquisitions suivantes ont été effectuées par imagerie ToF-SIMS. La résolution et la sensibilité du signal obtenues sur la lame de verre recouverte d'or sont similaires aux résultats obtenus sur le support qui est le plus souvent utilisé en imagerie ToF-SIMS, une plaque de silicium.

La cirrhose est une maladie chronique du foie caractérisée par la destruction des hépatocytes suivie de lésions de fibrose avec une apparition de nodules. La spectroscopie FTIR montre que la fibrose est enrichie en protéines et en particulier en collagène par la présence d'une bande spécifique. L'imagerie par spectrométrie de masse permet de voir que le tissu est enrichi en lipides, montrant par exemple la présence de sphingomyélines, de cholestérol et de vitamine E. En effet les sphingomyélines apparaissent co-localisées avec le collagène au niveau de la zone fibreuse. La spectroscopie UV montre l'autofluorescence du tryptophane et du collagène, confirmant la localisation de cette glycoprotéine dans la fibrose. Ces résultats montrent que le couplage des trois techniques peut être effectué sur une même coupe et apportent des informations complémentaires sur la composition cellulaire du tissu. Pour conclure, le couplage des spectroscopies multimodales ToF-SIMS, synchrotron-FTIR et UV appliquées sur des tissus sains et pathologiques permet de connaître plus facilement les modifications chimiques dues à la maladie, et ouvre de nouvelles perspectives pour la découverte de nouveaux biomarqueurs.

1.P. Dumas, G.D. Sockalingum, J. Salé-Suso, *Trends Biotechnol.* 2007, 25, 40-44.

2.A. Brunelle, O. Laprèvote, *Curr. Pharm. Design* 2007, 13, 3335-3343.

3.A. Giuliani, F. Jamme, V. Rouam, F. Wien, J.L. Giorgetta, B. Lagarde, O. Chubar, S. Bac, I. Yao, S. Rey, C. Herbeaux, J.L. Marlats, D. Zerbib, F. Polack, M Réfrégiers, - *J. Synchrotron Rad.* 2009, 16, 835-841.

4.F. Le Naour, M.P. Brulet, D. Debois, C. Sandt, C. Guettier, P. Dumas, A. Brunelle, O. Laprèvote, *PLoS ONE*, 2009, 4:e7408.