



Lames virtuelles, analyses bio-informatiques et phénotypage musculaire

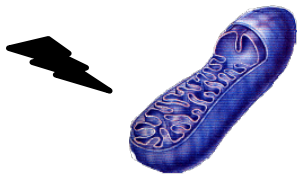
François Casas - Laurence Pessemesse

DYNAMIQUE MUSCULAIRE ET METABOLISME

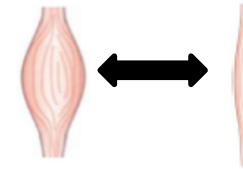
Métabolisme musculaire
et activité mitochondriale



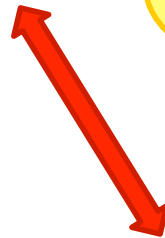
Nutrition



Régulation de l'homéostasie
musculaire: signalisation
atrophie/hypertrophie



Plasticité
musculaire



Caractérisation fonctionnelle



Muscle



Voies de signalisation

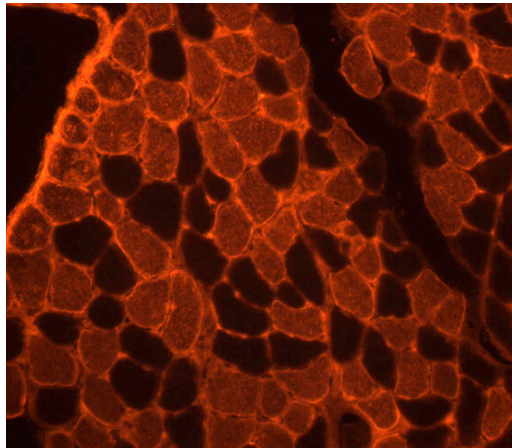
Syndrome Métabolique

Masse musculaire

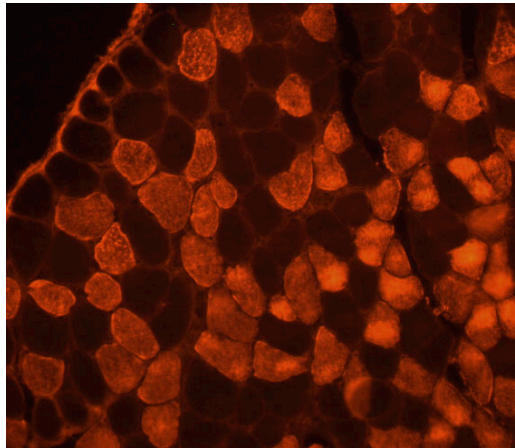
Activités fonctionnelles

Caractéristiques
métaboliques et contractiles

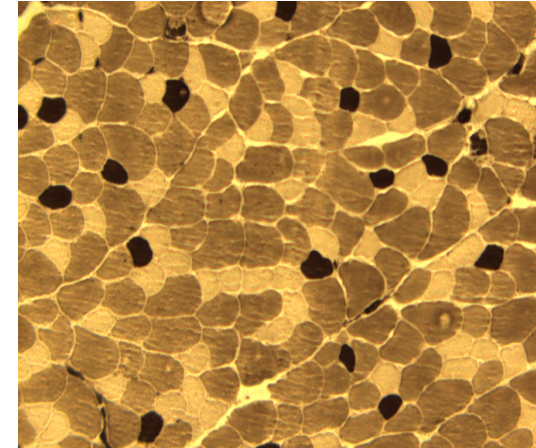
Détermination du type de fibres



MHCI



MHCIIa

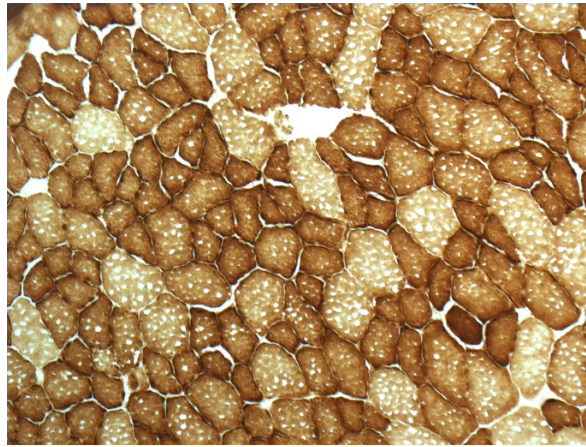


ATPase

Histo-immunofluorescences réalisées sur le soleus de souris avec des anticorps dirigés contre les isoformes de chaînes lourdes de mysosines de type I ou IIa.

Coloration ATPase.

Détermination du nombre de fibres et de leur surface



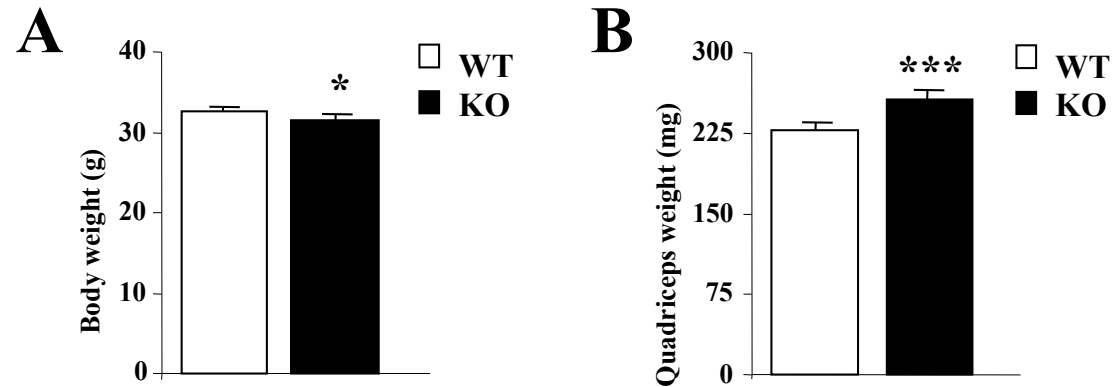
COX

Problème: -Choix de champs représentatifs...
-Comptages longs et très fastidieux



Conséquence: -un échantillonnage limité
-un risque d'erreur non négligeable...
-un manque de motivations...

L'absence de p43 entraîne une augmentation de la masse musculaire?



Questions: -Différence de nombre de fibres?
-Différence dans la surface des fibres?



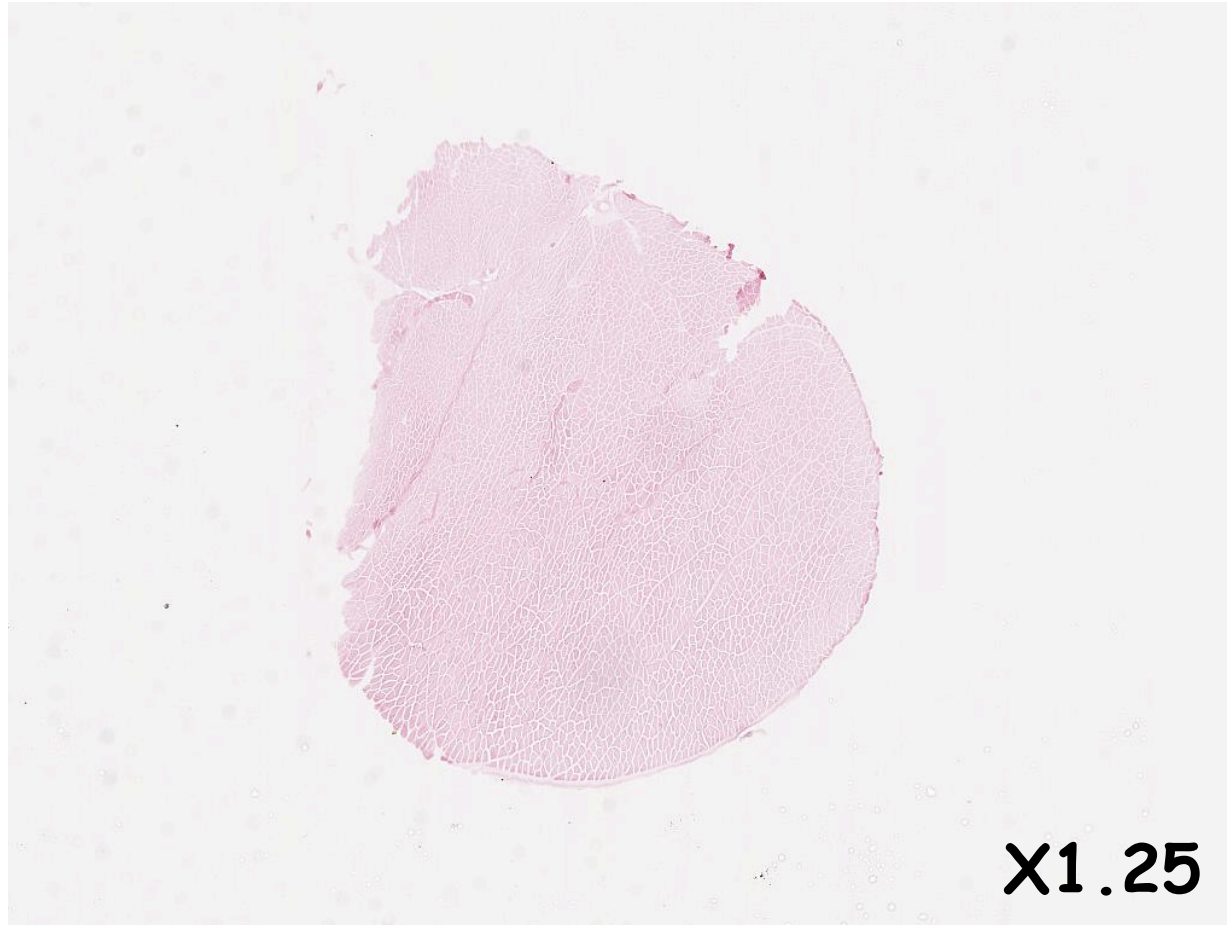
Etudes histologiques

Approche histologique, lame virtuelle et bio-informatique



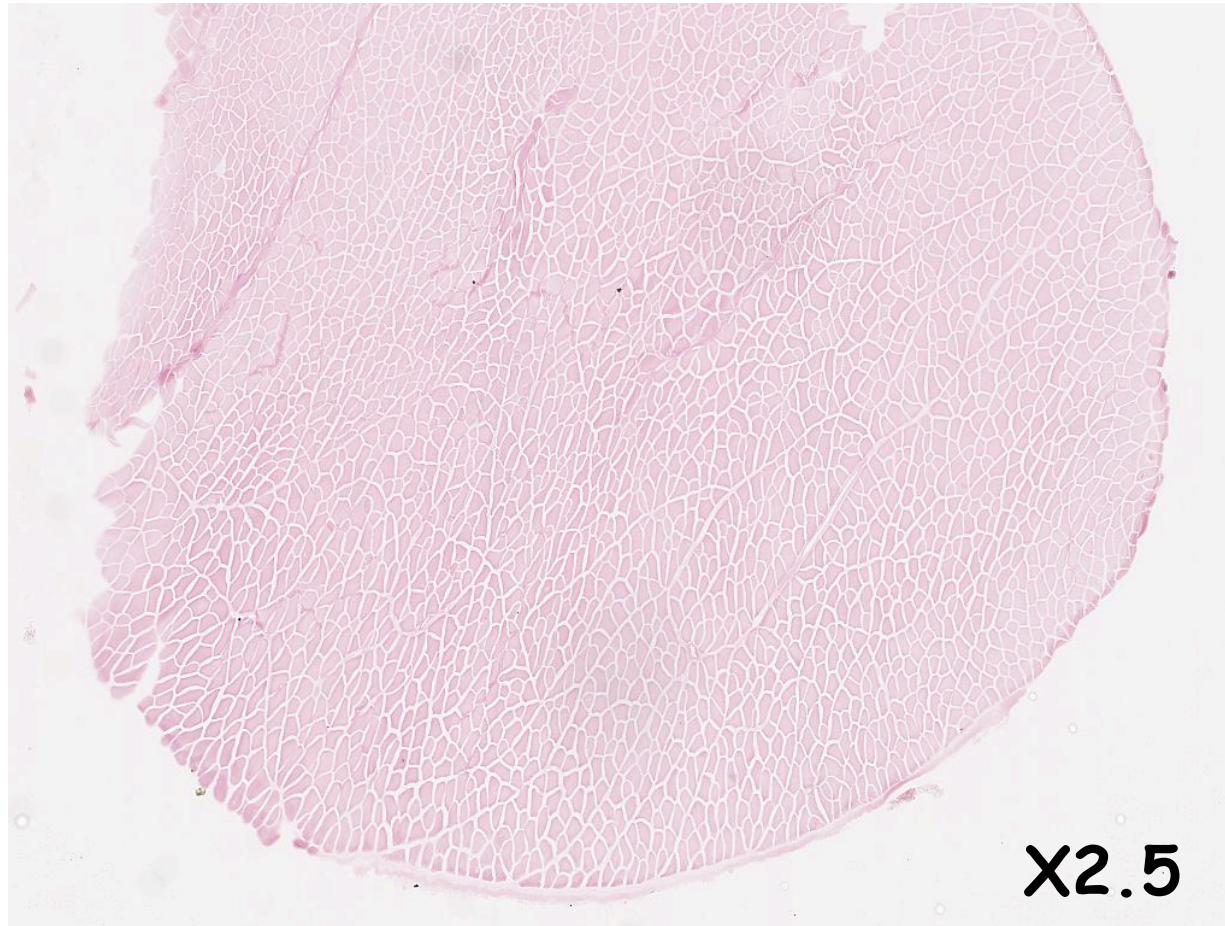
Vers une quantification «exhaustive»

Avantage d'une lame virtuelle



Tibialis de souris

Avantage d'une lame virtuelle



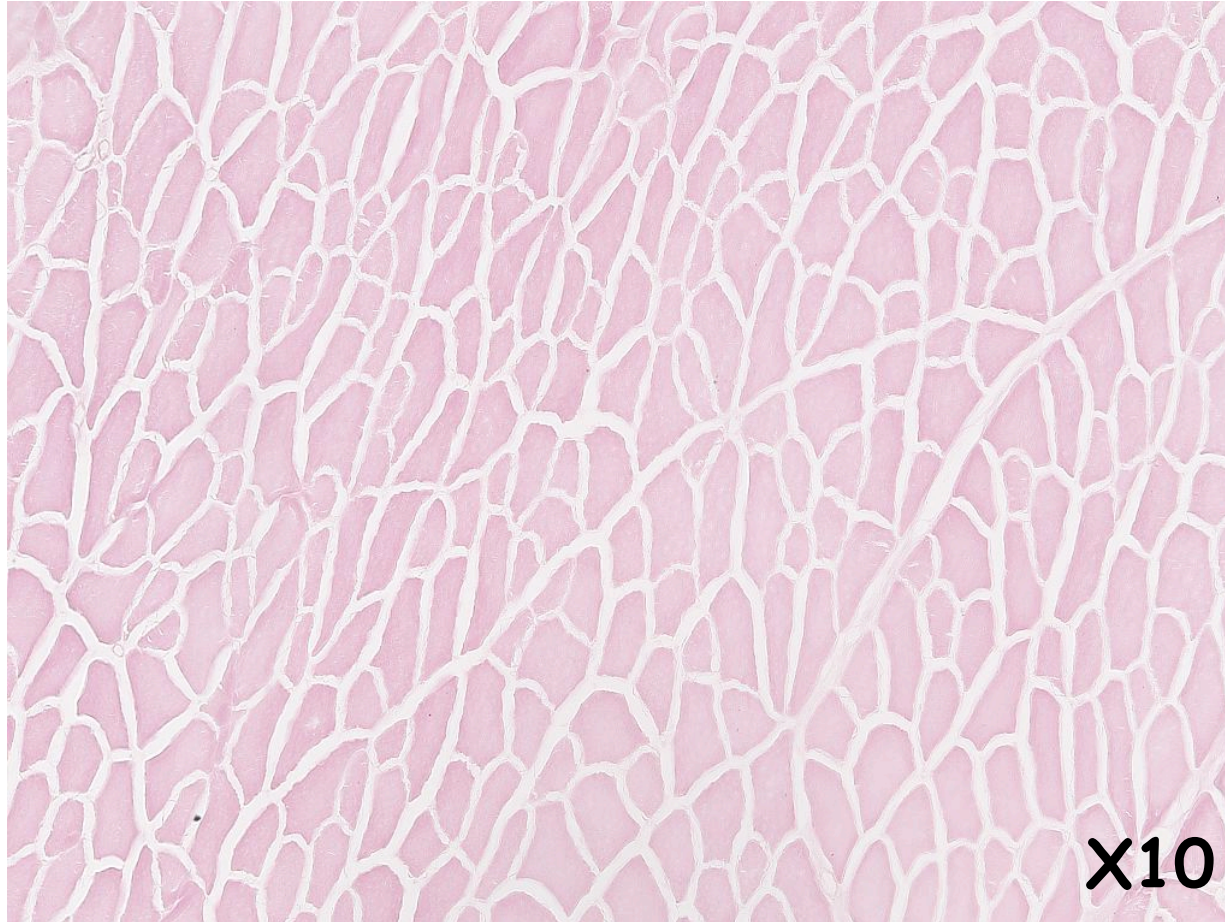
Tibialis de souris

Avantage d'une lame virtuelle



Tibialis de souris

Avantage d'une lame virtuelle



Tibialis de souris

Avantage d'une lame virtuelle



Tibialis de souris

Adapter un marquage compatible avec l'analyse

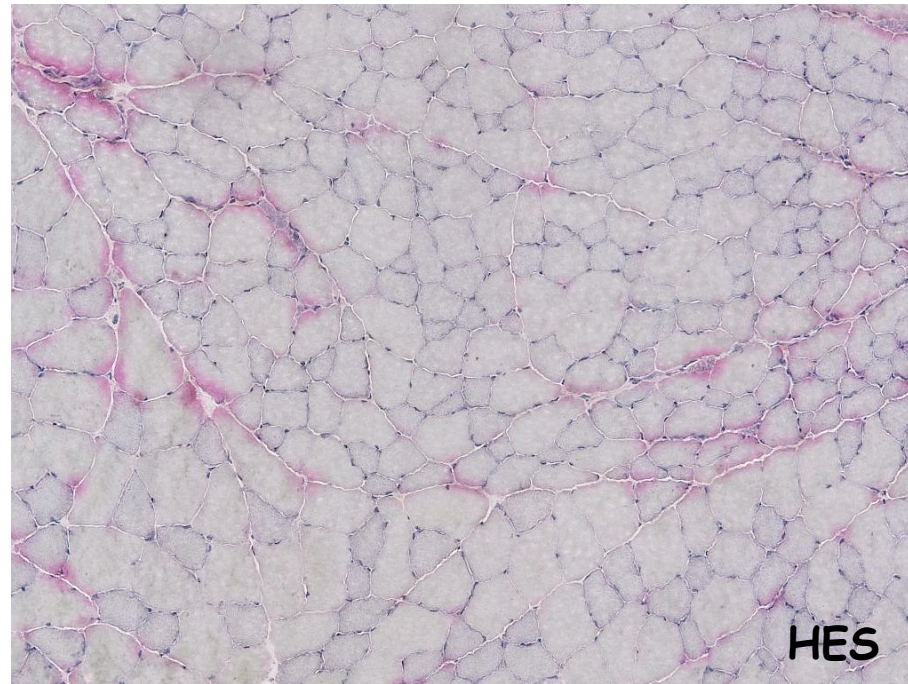
1. Quel type d'analyse on veut?

- Nombre total de fibres.
- Classement des fibres en fonction de leur Surface.
- Densité des capillaires sanguins

2. Comment trouver un marquage adapté?

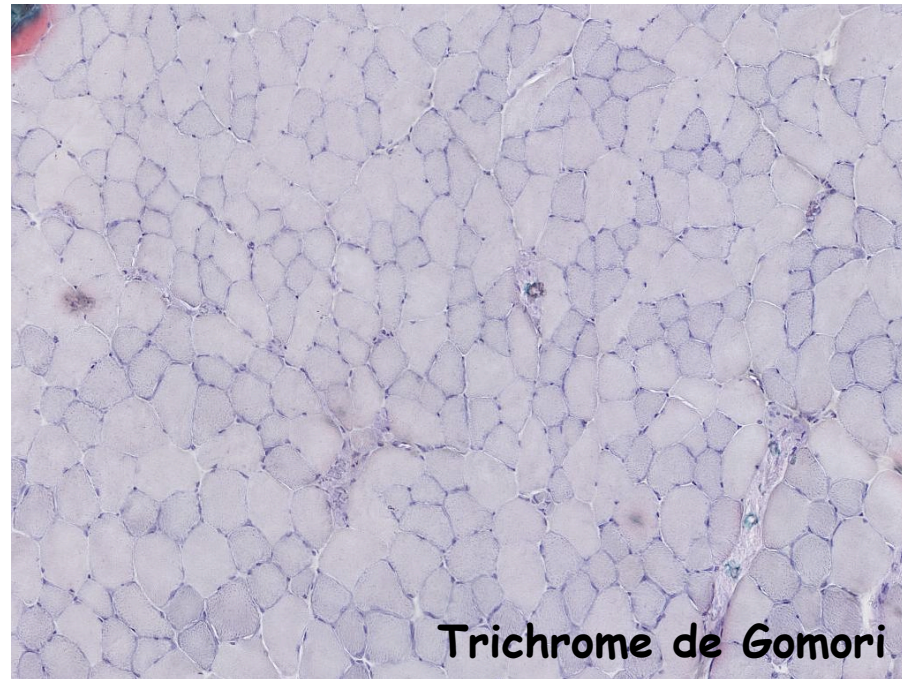
- Quel coloration?
- Quel marquage?
- Comment être bien discriminant?

Adapter un marquage compatible avec l'analyse



C'est joli mais difficilement analysable par une approche bio-informatique...

Adapter un marquage compatible avec l'analyse



C'est joli mais difficilement analysable par une approche bio-informatique...

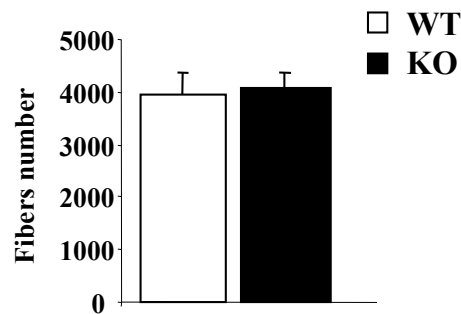
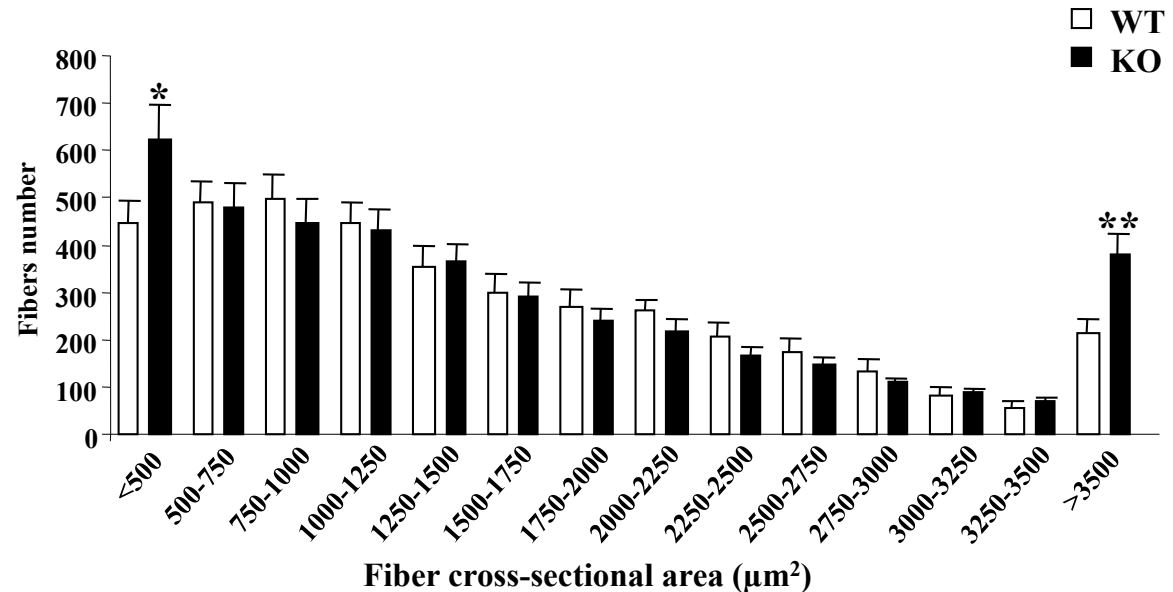
Il faut une coloration plus homogène et des fibres mieux individualisées...

Adapter un marquage compatible avec l'analyse



C'est un peu moins joli mais facilement analysable...

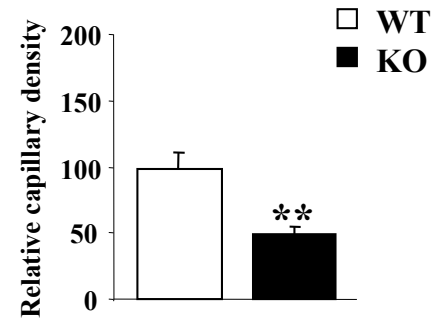
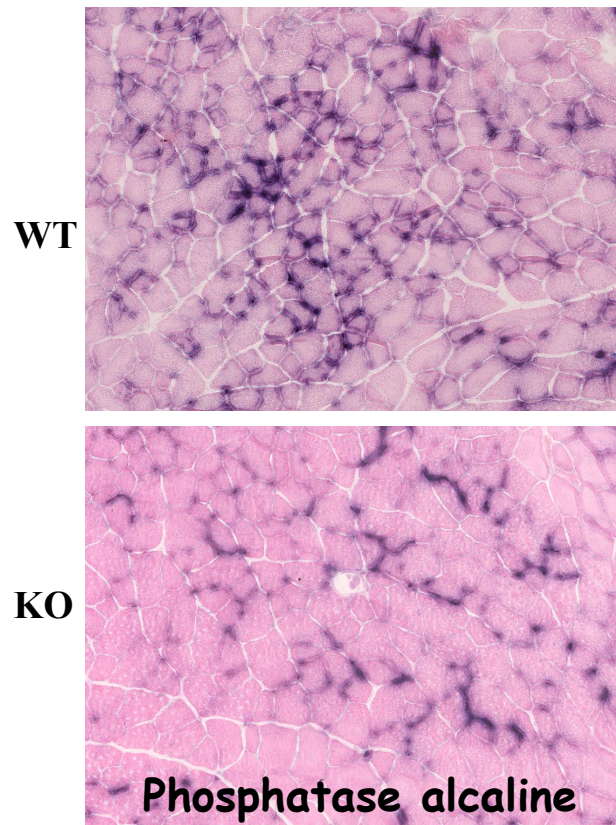
Détermination du nombre de fibres et de leurs surfaces



les souris p43^{-/-} ont un nombre accru de fibres les plus petites et les plus grosses.

Résultats obtenus à partir de tibialis de 7 souris ♂ WT et de 7 souris ♂ p43^{-/-}. Près de 100.000 fibres prises en compte...

Détermination de la densité capillaire



La densité capillaire est plus faible dans les muscles des souris p43-/-

Résultats obtenus à partir de tibialis de 7 souris ♂ WT et de 7 souris ♂ p43-/- après marquage à la Phosphatase Alcaline.
L'ensemble de la coupe prise en compte...

Conclusions

L'utilisation de lames virtuelles couplée à une analyse bio-informatique est un outil très précieux qui permet:

- une quantification « exhaustive » et rapide.
- l'utilisation d'un nombre important d'échantillons.



Conséquences: -la robustesse des résultats
-évite le biais expérimentateur
-gain de temps