



**HAL**  
open science

# Apport de la méthode ICP-MS couplée à l'ablation laser pour l'étude des pathologies neurologiques

Maxime Polard

► **To cite this version:**

Maxime Polard. Apport de la méthode ICP-MS couplée à l'ablation laser pour l'étude des pathologies neurologiques. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03528116

**HAL Id: dumas-03528116**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03528116>**

Submitted on 17 Jan 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre :



ANNÉE 2020

**UNIVERSITÉ  
BRETAGNE  
LOIRE**

**THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

Thèse en vue du

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

présentée par

**Maxime POLARD**

Né le 30 mars 1993 à MORLAIX (29)

---

**Apport de la méthode  
ICP-MS couplée à  
l'ablation laser pour  
l'étude des  
pathologies  
neurologiques.**

**Thèse soutenue à Rennes  
Le 15 octobre 2020**

devant le jury composé de :

**Claude BENDAVID**

PU-PH — CHU de Rennes / *Président du jury*

**Yves GANDON**

PU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Isabelle MOREL**

PU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Bruno TURLIN**

MCU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Pierre-Jean LE RESTE**

PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Olivier LOREAL**

Directeur de recherche — Inserm UMR1241 / *examinateur*

**Martine ROPERT-BOUCHET**

PH — CHU de Rennes / *directeur de thèse*



**THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

Thèse en vue du

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

présentée par

**Maxime POLARD**

Né le 30 mars 1993 à MORLAIX (29)

---

**Apport de la méthode  
ICP-MS couplée à  
l'ablation laser pour  
l'étude des  
pathologies  
neurologiques.**

**Thèse soutenue à Rennes  
Le 15 octobre 2020**

devant le jury composé de :

**Claude BENDAVID**

PU-PH — CHU de Rennes / *Président du jury*

**Yves GANDON**

PU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Isabelle MOREL**

PU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Bruno TURLIN**

MCU-PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Pierre-Jean LE RESTE**

PH — CHU de Rennes / *examinateur*

**Olivier LOREAL**

Directeur de recherche — Inserm UMR1241 / *examinateur*

**Martine ROPERT-BOUCHET**

PH — CHU de Rennes / *directeur de thèse*

## Professeurs des universités-praticiens hospitaliers

ANNE-GALIBERT	Marie-Dominique	PU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
BARDOU-JACQUET	Edouard	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
BELAUD-ROTUREAU	Marc-Antoine	PU-PH	<i>Histologie, embryologie et cytogénétique</i>
BELLISSANT	Eric	PU-PH	<i>Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie</i>
BELOEIL	Hélène	PU-PH	<i>Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire</i>
BENDAVID	Claude	PU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
BENSALAH	Karim	PU-PH	<i>Urologie</i>
BEUCHEE	Alain	PU-PH	<i>Pédiatrie</i>
BONAN	Isabelle	PU-PH	<i>Médecine physique et de réadaptation</i>
BONNET	Fabrice	PU-PH	<i>Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale</i>
BOUDJEMA	Karim	PU-PH	<i>Chirurgie viscérale et digestive</i>
BOUGET	Jacques	Professeur Emérite	<i>Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie</i>
BOUGUEN	Guillaume	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
BRASSIER	Gilles	PU-PH	<i>Neurochirurgie</i>
BRETAGNE	Jean-François	Professeur Emérite	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
BRISSOT	Pierre	Professeur Emérite	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
CARRE	François	PU-PH	<i>Physiologie</i>
CATROS	Véronique	PU-PH	<i>Biologie cellulaire</i>
CATTOIR	Vincent	PU-PH	<i>Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière</i>
CHALES	Gérard	Professeur Emérite	<i>Rhumatologie</i>
CORBINEAU	Hervé	PU-PH	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>
CUGGIA	Marc	PU-PH	<i>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</i>
DARNAULT	Pierre	PU-PH	<i>Anatomie</i>

DAUBERT	Claude	Professeur Emérite	<i>Cardiologie</i>
DAVID	Véronique	PU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
DAYAN	Jacques	Professeur Emérite	<i>Pédopsychiatrie ; addictologie</i>
DE CREVOISIER	Renaud	PU-PH	<i>Cancérologie ; radiothérapie</i>
DECAUX	Olivier	PU-PH	<i>Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie</i>
DESRUES	Benoît	PU-PH	<i>Pneumologie ; addictologie</i>
DEUGNIER	Yves	Professeur Emérite	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
DONAL	Erwan	PU-PH	<i>Cardiologie</i>
DRAPIER	Dominique	PU-PH	<i>Psychiatrie d'adultes ; addictologie</i>
DUPUY	Alain	PU-PH	<i>Dermato-vénérologie</i>
ECOFFEY	Claude	PU-PH	<i>Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire</i>
EDAN	Gilles	Professeur en surnombre	<i>Neurologie</i>
FERRE	Jean-Christophe	PU-PH	<i>Radiologie et imagerie médicale</i>
FEST	Thierry	PU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
FLECHER	Erwan	PU-PH	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>
GANDEMER	Virginie	PU-PH	<i>Pédiatrie</i>
GANDON	Yves	PU-PH	<i>Radiologie et imagerie médicale</i>
GANGNEUX	Jean-Pierre	PU-PH	<i>Parasitologie et mycologie</i>
GARIN	Etienne	PU-PH	<i>Biophysique et médecine nucléaire</i>
GAUVRIT	Jean-Yves	PU-PH	<i>Radiologie et imagerie médicale</i>
GODEY	Benoît	PU-PH	<i>Oto-rhino-laryngologie</i>
GUGGENBUHL	Pascal	PU-PH	<i>Rhumatologie</i>
GUILLE	François	PU-PH	<i>Urologie</i>
GUYADER	Dominique	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
HAEGELEN	Claire	PU-PH	<i>Anatomie</i>

HOUOT	Roch	PU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
HUSSON	Jean Louis	Professeur Emérite	<i>Chirurgie orthopédique et traumatologique</i>
HUTEN	Denis	Professeur Emérite	<i>Chirurgie orthopédique et traumatologique</i>
JEGO	Patrick	PU-PH	<i>Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie</i>
JEGOUX	Franck	PU-PH	<i>Oto-rhino-laryngologie</i>
JOUNEAU	Stéphane	PU-PH	<i>Pneumologie ; addictologie</i>
KAYAL	Samer	PU-PH	<i>Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière</i>
LAMY DE LA CHAPELLE	Thierry	PU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
LAVIOLLE	Bruno	PU-PH	<i>Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie</i>
LAVOUE	Vincent	PU-PH	<i>Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale</i>
LE BRETON	Hervé	PU-PH	<i>Cardiologie</i>
LE TULZO	Yves	PU-PH	<i>Médecine intensive-réanimation</i>
LECLERCQ	Christophe	PU-PH	<i>Cardiologie</i>
LEDERLIN	Mathieu	PU-PH	<i>Radiologie et imagerie médicale</i>
LEGUERRIER	Alain	Professeur Emérite	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>
LEJEUNE	Florence	PU-PH	<i>Biophysique et médecine nucléaire</i>
LEVEQUE	Jean	PU-PH	<i>Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale</i>
LIEVRE	Astrid	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
MABO	Philippe	PU-PH	<i>Cardiologie</i>
MAHE	Guillaume	PU-PH	<i>Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire</i>
MALLEDANT	Yannick	Professeur Emérite	<i>Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire</i>
MATHIEU-SANQUER	Romain	PU-PH	<i>Urologie</i>
MENER	Eric	Professeur associé	<i>Médecine générale</i>
MEUNIER	Bernard	PU-PH	<i>Chirurgie viscérale et digestive</i>

MICHELET	Christian	Professeur Emérite	<i>Maladies infectieuses ; maladies tropicales</i>
MOIRAND	Romain	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>
MORANDI	Xavier	PU-PH	<i>Anatomie</i>
MOREL	Vincent	Professeur associé	<i>Médecine palliative</i>
MOSSER	Jean	PU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
MOURIAUX	Frédéric	PU-PH	<i>Ophthalmologie</i>
MYHIE	Didier	Professeur associé	<i>Médecine générale</i>
NAUDET	Florian	PU-PH	<i>Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie</i>
ODENT	Sylvie	PU-PH	<i>Génétique</i>
OGER	Emmanuel	PU-PH	<i>Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie</i>
PARIS	Christophe	PU-PH	<i>Médecine et santé au travail</i>
PERDRIGER	Aleth	PU-PH	<i>Rhumatologie</i>
PLADYS	Patrick	PU-PH	<i>Pédiatrie</i>
RAVEL	Célia	PU-PH	<i>Histologie, embryologie et cytogénétique</i>
RENAUT	Pierric	Professeur associé	<i>Médecine générale</i>
REVEST	Matthieu	PU-PH	<i>Maladies infectieuses ; maladies tropicales</i>
RIFFAUD	Laurent	PU-PH	<i>Neurochirurgie</i>
RIOUX-LECLERCQ	Nathalie	PU-PH	<i>Anatomie et cytologie pathologiques</i>
ROBERT-GANGNEUX	Florence	PU-PH	<i>Parasitologie et mycologie</i>
ROPARS	Mickaël	PU-PH	<i>Chirurgie orthopédique et traumatologique</i>
SAINT-JAMES	Hervé	PU-PH	<i>Biophysique et médecine nucléaire</i>
SAULEAU	Paul	PU-PH	<i>Physiologie</i>
SEGUIN	Philippe	PU-PH	<i>Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire</i>
SEMANA	Gilbert	PU-PH	<i>Immunologie</i>
SIPROUDHIS	Laurent	PU-PH	<i>Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie</i>

SOMME	Dominique	PU-PH	<i>Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie</i>
SOULAT	Louis	Professeur associé	<i>Médecine d'urgence</i>
SULPICE	Laurent	PU-PH	<i>Chirurgie viscérale et digestive</i>
TADIE	Jean Marc	PU-PH	<i>Médecine intensive-réanimation</i>
TARTE	Karin	PU-PH	<i>Immunologie</i>
TATTEVIN	Pierre	PU-PH	<i>Maladies infectieuses ; maladies tropicales</i>
THIBAULT	Ronan	PU-PH	<i>Nutrition</i>
THIBAULT	Vincent	PU-PH	<i>Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière</i>
THOMAZEAU	Hervé	PU-PH	<i>Chirurgie orthopédique et traumatologique</i>
TORDJMAN	Sylvie	PU-PH	<i>Pédopsychiatrie ; addictologie</i>
VERHOYE	Jean-Philippe	PU-PH	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>
VERIN	Marc	PU-PH	<i>Neurologie</i>
VIEL	Jean-François	PU-PH	<i>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</i>
VIGNEAU	Cécile	PU-PH	<i>Néphrologie</i>
VIOLAS	Philippe	PU-PH	<i>Chirurgie infantile</i>
WATIER	Eric	PU-PH	<i>Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie</i>
WODEY	Eric	PU-PH	<i>Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire</i>

## Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers

ALLORY	Emmanuel	MCF associé	<i>Médecine générale</i>
AME-THOMAS	Patricia	MCU-PH	<i>Immunologie</i>
AMIOT	Laurence	MCU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
ANSELMI	Amédéo	MCU-PH	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>
BANATRE	Agnès	MCF associé	<i>Médecine générale</i>
BEGUE	Jean Marc	MCU-PH	<i>Physiologie</i>
BERTHEUIL	Nicolas	MCU-PH	<i>Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie</i>
BOUSSEMART	Lise	MCU-PH	<i>Dermato-vénéréologie</i>
BROCHARD	Charlène	MCU-PH	<i>Physiologie</i>
CABILLIC	Florian	MCU-PH	<i>Biologie cellulaire</i>
CASTELLI	Joël	MCU-PH	<i>Cancérologie ; radiothérapie</i>
CAUBET	Alain	MCU-PH	<i>Médecine et santé au travail</i>
CHAPRON	Anthony	MCF	<i>Médecine générale</i>
CHHOR-QUENIART	Sidonie	MCF associé	<i>Médecine générale</i>
CORVOL	Aline	MCU-PH	<i>Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie</i>
DAMERON	Olivier	MCF	<i>Informatique</i>
DE TAYRAC	Marie	MCU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
DEGEILH	Brigitte	MCU-PH	<i>Parasitologie et mycologie</i>
DROITCOURT	Catherine	MCU-PH	<i>Dermato-vénéréologie</i>
DUBOURG	Christèle	MCU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
DUGAY	Frédéric	MCU-PH	<i>Histologie, embryologie et cytogénétique</i>
EDELIN	Julien	MCU-PH	<i>Cancérologie ; radiothérapie</i>

FIQUET	Laure	MCF associé	<i>Médecine générale</i>
GANGLOFF	Cédric	MCF associé	<i>Médecine d'urgence</i>
GARLANTEZEC	Ronan	MCU-PH	<i>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</i>
GOUIN épouse THIBAUT	Isabelle	MCU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
GUILLET	Benoit	MCU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
JAILLARD	Sylvie	MCU-PH	<i>Histologie, embryologie et cytogénétique</i>
KALADJI	Adrien	MCU-PH	<i>Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire</i>
KAMMERER- JACQUET	Solène-Florence	MCU-PH	<i>Anatomie et cytologie pathologiques</i>
LAVENU	Audrey	MCF	<i>Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé</i>
LE GALL	François	MCU-PH	<i>Anatomie et cytologie pathologiques</i>
LEMAITRE	Florian	MCU-PH	<i>Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie</i>
MARTINS	Pédro Raphaël	MCU-PH	<i>Cardiologie</i>
MENARD	Cédric	MCU-PH	<i>Immunologie</i>
MICHEL	Laure	MCU-PH	<i>Neurologie</i>
MOREAU	Caroline	MCU-PH	<i>Biochimie et biologie moléculaire</i>
MOUSSOUNI	Fouzia	MCF	<i>Informatique</i>
PANGAULT	Céline	MCU-PH	<i>Hématologie ; transfusion</i>
ROBERT	Gabriel	MCU-PH	<i>Psychiatrie d'adultes ; addictologie</i>
SCHNELL	Frédéric	MCU-PH	<i>Physiologie</i>
THEAUDIN épouse SALIOU	Marie	MCU-PH	<i>Neurologie</i>
TURLIN	Bruno	MCU-PH	<i>Anatomie et cytologie pathologiques</i>
VERDIER épouse LORNE	Marie-Clémence	MCU-PH	<i>Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie</i>
ZIELINSKI	Agata	MCF	<i>Philosophie</i>

## Remerciements

### **A mon président de jury de thèse Monsieur le Professeur Claude BENDAVID,**

Vous me faites l'honneur de présider ma soutenance de thèse, je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération.

### **A Monsieur le Professeur Yves GANDON,**

Vous me faites l'honneur de participer à mon jury de thèse, je vous prie de trouver ici l'expression de mes meilleurs sentiments.

### **A Madame le Professeur Isabelle MOREL,**

Vous me faites l'honneur de participer à mon jury de thèse, je vous prie de trouver ici l'expression de mon profond respect.

### **A Monsieur le Docteur Bruno TURLIN,**

Vous me faites l'honneur de participer à mon jury de thèse, je vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

### **A Monsieur le Docteur Pierre-Jean LE RESTE,**

Vous me faites l'honneur de participer à mon jury de thèse, je vous en remercie vivement.

### **A Monsieur le Docteur Olivier LOREAL**

Vous me faites l'honneur de participer à mon jury de thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

### **A mon directeur de thèse Madame le Docteur Martine ROPERT-BOUCHET,**

Un très grand merci d'avoir accepté de m'accompagner pour ce travail de thèse. Je te remercie pour tes précieux conseils dans ce travail de revue de littérature et j'ai hâte de pouvoir poursuivre ce travail avec la partie pratique sur cet outil nouvellement installé au laboratoire. Merci pour ta disponibilité et ta gentillesse.

### **A ma famille,**

Merci à tous pour votre soutien et encouragement pendant toutes ces années, je vous aime fort.

**A mes co-internes rennais et aux amis,** je vous salue chaleureusement.

## **Table des matières**

<b>Professeurs des universités-praticiens hospitaliers .....</b>	<b>2</b>
<b>Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers .....</b>	<b>7</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>9</b>
<b>Table des illustrations .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>13</b>
1.1 Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS).....	13
1.2 Limites de l'analyse par ICP-MS .....	14
1.3 Intérêt de l'ablation laser pour l'analyse multiélémentaire d'une matrice solide .....	15
<b>2. Aspects méthodologiques et techniques de l'analyse par LA-ICP-MS .....</b>	<b>17</b>
2.1 Mode de préparation des échantillons biologiques.....	17
2.2 Déroulement d'une analyse de bioimagerie élémentaire par LA-ICP-MS.....	18
2.3 Difficultés de la quantification en LA-ICP-MS .....	21
2.4 Influence du laser sur l'analyse par LA-ICP-MS.....	22
<b>3. Applications de la LA-ICP-MS pour l'étude des pathologies neurologiques .....</b>	<b>23</b>
3.1 Maladie de Parkinson.....	23
3.2 Maladie d'Alzheimer.....	25
3.3 Sclérose latérale amyotrophique.....	26
3.4 Maladie de Wilson .....	28
3.5 Maladie de Menkes.....	30
3.6 Toxicologie et métaux lourds .....	31
3.7 Etat de stress post-traumatique.....	32
3.8 Traumatisme crânien.....	33
3.9 Glioblastome .....	34
3.10 Dépôts tissulaires de gadolinium.....	35
<b>Conclusion .....</b>	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>37</b>
<b>Glossaire .....</b>	<b>43</b>

## **Table des illustrations**

### **Figure 1. Schéma des étapes successives d'une analyse par ICP-MS.**

*D'après Aceto M. [5].....*13

### **Figure 2. Applications principales de l'ablation laser couplée à l'ICP-MS.**

*D'après Konz et al. [13].....*16

### **Figure 3. Schéma d'un couplage entre un système d'ablation laser et un ICP-MS.**

*D'après Abduriyim Aet al. [22].....*18

### **Figure 4. Schéma des différentes étapes d'une analyse par LA-ICP-MS.**

*D'après Weiskirchen et al. [23].....*19

### **Figure 5. Aspect macroscopique d'une coupe de cerveau de souris avant (a) et après (b) ablation laser.**

*D'après Weiskirchen et al. [23].....*20

### **Figure 6. Schéma du protocole de réalisation d'étalons dopés pour calibration externe en LA-ICP-MS.**

*D'après Becker JS et al. [29].....*21

### **Figure 7. Comparaison de la distribution par LA-ICP-MS du manganèse, fer, cuivre et zinc sur des coupes de cerveau d'un modèle murin 6-OHDA de la maladie de Parkinson avec ou sans traitement par L-DOPA.**

*D'après Sussulini et al. [38].....*24

### **Figure 8. Coupe de cerveau d'un modèle murin de la maladie d'Alzheimer après marquage par anticorps du peptide bêta amyloïde. Aspect microphotographique (haut) après coloration au DAB-Ni (plaques séniles colorées en brun) et imagerie LA-ICP-MS pour le nickel (bas).**

*D'après Hutchinson et al. [45].....*26

### **Figure 9. Distribution du cuivre chez des embryons de souris. Souris contrôles (C), surexprimant la protéine SOD1 non mutée (G) et SOD1 mutée (K).**

*D'après Kysenius et al. [51].....*27

**Figure 10. Comparaison de la distribution cérébrale par LA-ICP-MS du zinc, magnésium et manganèse chez un modèle murin de SLA et chez des souris contrôles.**

*D'après Figueroa-Romero et al. [52].....27*

**Figure 11. Bioimagerie cérébrale du cuivre (LA-ICP-MS) chez une souris ATP7B -/- et chez une souris WT.**

*D'après Boaru et al. [56].....28*

**Figure 12. Evaluation par LA-ICP-MS de l'effet sur la surcharge cérébrale en cuivre d'une thérapie génique chez des souris ATP7B -/- . Souris contrôles=WT**

*D'après Uerlings et al. [58].....29*

**Figure 13. Distribution du cuivre (LA-ICP-MS) chez des embryons sauvages (WT) et Calamity<sup>Gw71</sup> (modèle de maladie de Menkes) de poisson zèbre.**

*D'après Ackerman et al. [61].....30*

**Figure 14. Distribution du zinc (LA-ICP-MS) au niveau de l'hippocampe. Rats contrôles (a, e) ; avec forte atteinte comportementale (b) ; avec faible atteinte comportementale (c) ; Photographie d'hippocampe de rat (d).**

*D'après Sela et al. [67].....32*

**Figure 15. Distribution du fer, cuivre et zinc sur des coupes de cerveau de souris 24h, 72h, 7j, 14j et 28j post lésion cérébrale.**

*D'après Portbury et al. [71].....33*

**Figure 16. Distribution d'A<sub>1</sub>AR (a) et pBR (b) par autoradiographie d'une coupe de glioblastome humain. Cartographie élémentaire du cuivre et du zinc par LA-ICP-MS sur le même échantillon (c et d).**

*D'après Zoriy et al. [73] .....34*

**Figure 17. Coupes de cerveau après autopsie d'un patient ayant eu une IRM injectée 2 ans avant. Localisations : ganglions de la base (a, b), lobe frontal (d, e) et pont (g, h). Images au microscope (a, d et g) et distributions par LA-ICP-MS (b, e et h) du gadolinium correspondantes.**

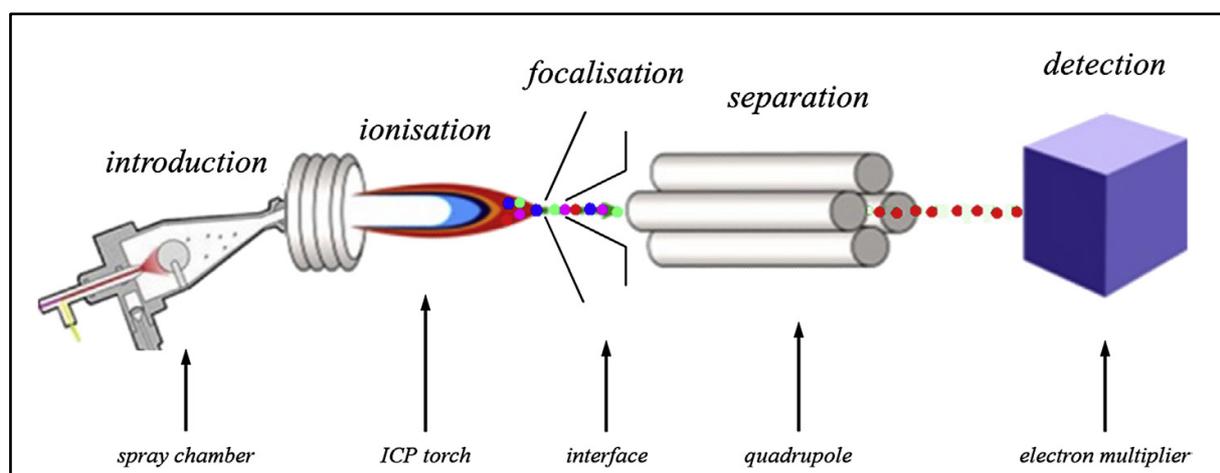
*D'après Fingerhut et al. [76].....35*

## 1. Introduction

### 1.1 Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)

Depuis son apparition au début des années 1980, la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) a connu un développement important et s'est imposée comme une des techniques de référence dans le domaine de l'analyse multiélémentaire (métaux, métalloïdes et non métaux) et isotopique (1). L'ICP-MS permet la détection séquentielle ou simultanée de la plupart des éléments du tableau périodique des éléments (du lithium à l'uranium). Son excellente sensibilité permet de mesurer des concentrations élémentaires allant jusqu'au nanogramme par litre ou partie par trillion (ppt) ce qui rend possible la détection d'éléments présents à l'état de trace ou d'ultratrace dans les échantillons (2)(3). Du fait d'une cadence d'analyse élevée, il est possible de réaliser des dosages d'échantillons en grande série. Les champs d'applications de l'ICP-MS sont nombreux et concernent les domaines de l'environnement, des géosciences, de l'industrie, de l'agro-alimentaire et ceux de la biologie et de la santé. Bien implantée dans les laboratoires spécialisés de biologie médicale, l'ICP-MS a désormais une utilisation en routine pour les dosages élémentaires des échantillons biologiques (4).

La technologie ICP-MS est basée sur le couplage entre une source d'ions constituée par une torche à plasma à couplage inductif (ICP) et un spectromètre de masse qui filtre et sépare les ions en fonction de leur masse et de leur charge. Le processus analytique comporte plusieurs étapes successives depuis l'introduction de l'échantillon jusqu'à la détection des ions (**Figure 1. [5]**). L'échantillon mis en solution est d'abord introduit par une pompe péristaltique dans un nébuliseur pneumatique. Le passage du liquide dans un capillaire de faible diamètre à l'intérieur duquel circule un flux de gaz inerte (de l'argon le plus souvent) permet la production d'un aérosol formé de gouttelettes de taille micrométrique. Afin d'assurer une meilleure stabilité du plasma, les gouttelettes sont triées selon leur taille au niveau d'une chambre de nébulisation. Celles dont la dimension excède



**Figure 1. Schéma des étapes successives d'une analyse par ICP-MS.**

D'après Aceto M. [5]

dix micromètres sont éliminées tandis que les autres sont introduites dans la torche à plasma. Le plasma est formé grâce à l'ionisation d'un gaz inerte (argon, hélium, etc.) sous l'action d'un champ électrique. Il atteint une très haute température (jusqu'à 8000°C)(2) qui assure la désolvatation des gouttelettes introduites, puis leur vaporisation, atomisation et ionisation. Les ions formés sont ensuite prélevés au sein du plasma au niveau d'une zone dite d'interface située entre la torche à plasma (très haute température, pression  $10^5$  Pa) et le spectromètre de masse (température ambiante, pression  $< 10^{-3}$  Pa)(6). Après leur focalisation par un système d'optiques ioniques, les ions sont introduits dans le spectromètre de masse. Ce dernier agit comme un filtre ionique en séparant les ions selon leur rapport masse/charge (ou  $m/z$ ). Selon le type de spectromètre de masse utilisé (simple quadripôle, à haute résolution, etc.), la capacité à distinguer deux ions ayant des rapports  $m/z$  proches aussi appelée pouvoir de résolution est plus ou moins importante. Enfin, au niveau du détecteur, le plus souvent un électromultiplicateur, les ions sont comptés en fonction de leur masse. Un traitement informatique des données brutes collectées par le détecteur permet ensuite de convertir les comptages ioniques en données quantitatives ou semi-quantitatives exploitables par l'utilisateur.

## 1.2 Limites de l'analyse par ICP-MS

Les principales limites de l'analyse par ICP-MS résident dans sa sensibilité aux contaminations, dans la survenue éventuelle d'interférences analytiques (spectrales ou non spectrales)(7) et dans la préparation des échantillons solides (cf. 1.3 pour ce dernier point).

L'analyse par ICP-MS nécessite de prévenir et de maîtriser le risque de contaminations pour obtenir des résultats fiables et interprétables. Ce risque est en lien avec l'omniprésence de certains éléments comme les métaux dans l'environnement, au faible niveau de concentration de ces éléments dans les échantillons analysés et au niveau de sensibilité élevé de l'ICP-MS. Le mode de prélèvement et de conservation des échantillons, ainsi que l'ensemble des manipulations précédant l'analyse sont donc soumises à des procédures rigoureuses pour éviter toute source de contamination extérieure.

Les interférences spectrales comprennent les interférences polyatomiques, isobariques ou liées aux espèces doublement chargées. Les interférences polyatomiques correspondent à des ions possédant la même masse que l'élément d'intérêt. Ils peuvent provenir d'une dissociation incomplète de l'échantillon dans la torche ICP ou de la combinaison d'ions issus du plasma ou de la matrice. Par exemple, la combinaison de l'argon ( $^{40}\text{Ar}$ ) avec l'isotope 16 de l'oxygène ( $^{16}\text{O}$ ) peut interférer avec la mesure de l'isotope 56 du fer ( $^{56}\text{Fe}$ ). Les interférences isobariques sont liées à la présence d'isotopes d'éléments différents mais possédant une masse identique comme l'isotope 58 du fer ( $^{58}\text{Fe}$ ) et l'isotope 58 du nickel ( $^{58}\text{Ni}$ ) par exemple. La formation d'ions doublement chargés modifie le rapport masse/charge qui vaut alors la moitié de la valeur attendue et interfère avec la mesure d'un autre élément ( $^{138}\text{Ba}^{2+}$  peut interférer avec  $^{69}\text{Ga}^+$ )(6).

Les interférences polyatomiques peuvent être prévenues par l'utilisation d'un gaz (de l'hélium par exemple) au sein d'une cellule de collision ou réaction placée après la torche à plasma. Le choix des isotopes étudiés lors de la mise en place de la technique au laboratoire ainsi que l'utilisation de

facteurs de correction sont d'autres moyens pour s'affranchir des interférences isobariques ou liées aux doubles charges (2).

Les interférences non spectrales sont en rapport avec les effets de matrice importants pouvant exister dans certains échantillons dont la composition est complexe (le tissu osseux par exemple). La prévention de ces interférences passe par la dilution des échantillons ou par l'utilisation d'une méthode d'étalonnage particulière comme la méthode des ajouts dosés (6).

### 1.3 [Intérêt de l'ablation laser pour l'analyse multiélémentaire d'une matrice solide](#)

Les échantillons analysés par ICP-MS peuvent être des matrices liquides (sang total, plasma, urine, etc.) ou solides (tissus biologiques, phanères, etc.). Dans le cas d'un échantillon liquide, le processus de préparation avant analyse est simple puisqu'une dilution à l'aide d'une solution acide est en général suffisante.

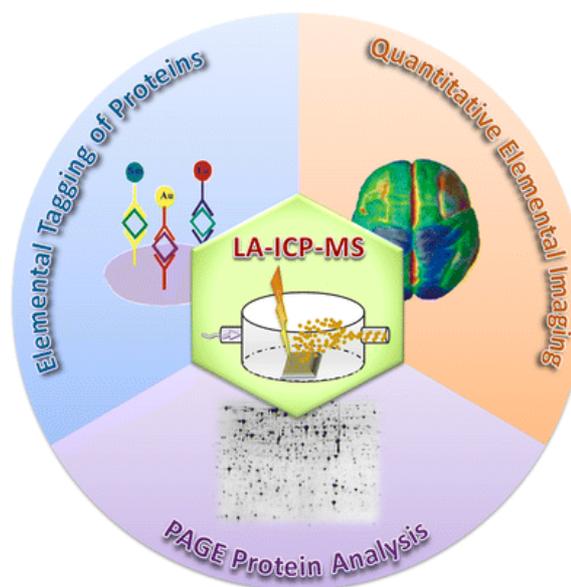
L'analyse d'une matrice solide requiert une mise en solution préalable de l'échantillon. La transformation de la matrice solide en une phase liquide homogène passe par un prétraitement appelé minéralisation qui consiste en une digestion de l'échantillon. La minéralisation peut être réalisée par voie sèche via un processus de fusion à haute température ou par voie humide, à l'aide de solutions acides ou alcalines (8). Pour accélérer le processus, la digestion par attaque acide peut être assistée par micro-ondes. Ce procédé de mise en solution a pour but de s'affranchir des interférences liées aux matières organiques et de concentrer l'échantillon quand cela est nécessaire. Cependant ce mode de préparation des échantillons expose à un risque de pertes par divers mécanismes (volatilisation, adsorption, etc.) et de contaminations pouvant conduire à l'obtention de résultats erronés. De plus, la structure de l'échantillon solide est détruite par la minéralisation ce qui rend impossible l'étude de la distribution spatiale des éléments.

Afin d'éviter les contraintes associées à la minéralisation, des méthodes d'introduction directe des échantillons solides existent. C'est le cas de la méthode d'ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (LA-ICP-MS) où un faisceau laser balayant la surface d'une coupe d'échantillon produit un nuage de particules ensuite analysé par l'ICP-MS. Décrit pour la première fois en 1985 (9), le couplage entre un système d'ablation laser et un ICP-MS a été très utilisé dans le domaine des géosciences (10) avant de s'étendre au domaine biomédical du fait de progrès techniques (11). A la suite de la première application en biologie par Wang et al. en 1994 (12), la LA-ICP-MS est devenue la technique de bioimagerie par spectrométrie de masse de référence pour l'analyse multiélémentaire des matrices biologiques solides du fait de ses multiples applications (**Figure 2. [13]**). En effet, cet outil permet de déterminer simultanément la répartition et la quantité de plusieurs éléments à la surface d'une coupe d'échantillon et d'établir une véritable cartographie élémentaire avec une résolution spatiale proche du micromètre (14). Cet outil offre aussi la possibilité de détecter des protéines sur une coupe de tissu après marquage à l'aide d'anticorps monoclonaux couplés à un élément (atomes d'or ou d'argent par exemple) complétant ainsi les techniques d'immunohistochimie déjà existantes (15). Enfin, cet outil est capable de détecter et de quantifier des

métalloprotéines (sélénoprotéines, protéines phosphorylées, etc.) après leur migration et séparation sur un gel d'électrophorèse. Une analyse par LA-ICP-MS constitue un ensemble de données à l'échelle élémentaire (les métaux en particulier) qui peuvent être combinées avec des données biomoléculaires (protéines par exemple) obtenues par des techniques de spectrométrie de masse à ionisation douce comme la désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI-MS). L'association de ces données permet la réalisation d'études métallomiques et métalloprotéomiques approfondies (16).

Parmi les multiples publications biomédicales en lien avec la LA-ICP-MS, le cerveau et les pathologies s'y rapportant ont été particulièrement étudiés, que ce soit sur du tissu cérébral sain ou pathologique et du tissu d'origine animale ou humaine (17,18). Les échantillons provenant d'animaux et en particulier des modèles murins de pathologies neurologiques sont prédominants dans ces travaux du fait d'une meilleure disponibilité par rapport aux échantillons humains issus d'autopsie. La connaissance de la distribution élémentaire du tissu cérébral présente un intérêt majeur pour la compréhension des mécanismes physiologiques et physiopathologiques : évaluation de l'impact d'une pathologie responsable d'une accumulation ou d'un déficit en un élément donné (cuivre dans la maladie de Wilson et la maladie de Menkes), détermination du rôle potentiel de certains métaux dans le développement de maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer, etc.), évaluation de l'effet d'un traitement au niveau élémentaire, profil élémentaire de tissu tumoral ou encore pour la réalisation d'études toxicologiques.

Dans cette revue de littérature, nous décrivons d'abord les aspects méthodologiques et techniques d'une analyse de bioimagerie élémentaire par LA-ICP-MS avant de présenter dans une seconde partie des applications de cette technologie (de bioimagerie élémentaire et de détection de protéines par anticorps), parmi les plus récentes, utiles à l'étude et à la compréhension de certaines pathologies neurologiques.



**Figure 2. Applications principales de l'ablation laser couplée à l'ICP-MS.**

*D'après Konz et al. [13]*

## **2. Aspects méthodologiques et techniques de l'analyse par LA-ICP-MS**

### **2.1 Mode de préparation des échantillons biologiques**

L'analyse des échantillons solides par LA-ICP-MS nécessite uniquement la réalisation de coupes fines (épaisseur < 100 micromètres) avant analyse. Contrairement aux techniques utilisant le principe de désorption laser comme la technologie MALDI-MS, l'ajout d'une matrice sur l'échantillon avant analyse n'est pas nécessaire (19). Les coupes d'échantillons biologiques analysables par LA-ICP-MS peuvent provenir aussi bien de matériel frais que d'échantillons déjà inclus en paraffine.

A partir de matériel frais, et afin d'obtenir un profil de distribution élémentaire le plus proche de celui retrouvé *in vivo*, la réalisation de coupes en congélation est préférable. Une fixation de l'échantillon au paraformaldéhyde à 4% et une cryoprotection à l'aide d'une solution sucrée de type saccharose sont généralement réalisées. Après ces deux étapes, l'échantillon est placé dans un cryostat où les coupes en congélation d'une épaisseur comprise entre 5 et 30µm sont réalisées à l'aide d'une lame non métallique (par exemple en polytétrafluoroéthylène). Les effets de la fixation et de la cryoprotection au niveau des concentrations élémentaires, décrits par Hare et al. montraient une perte en concentration variable selon la solubilité des éléments (20). La préparation des coupes en congélation nécessite donc une vigilance particulière en fonction de l'élément étudié pour minimiser ces pertes potentielles. L'utilisation d'un échantillon contrôle de concentration connue pour évaluer les pertes avant et après les étapes de fixation et cryoprotection peut être utile.

L'utilisation de coupes incluses en paraffine est possible mais nécessite une procédure préalable de déparaffinage dans des solutions de xylène et d'éthanol de concentrations décroissantes. La comparaison des profils élémentaires obtenus entre des coupes en congélation et des coupes fixées et incluses en paraffine par Bonta et al. (21) a montré une modification de la répartition de certains éléments dans le cas d'une inclusion en paraffine. Les métaux alcalins (Na, K, etc.) étaient en particulier très touchés et dans une moindre mesure les métaux transitionnels. De plus, les auteurs mettaient en avant le risque de la survenue de contaminations élémentaires lors des étapes successives de l'inclusion en paraffine. L'emploi de coupes incluses en paraffine pour la réalisation d'une analyse par LA-ICP-MS est donc déconseillé pour l'étude des métaux alcalins. Pour les autres métaux, les coupes en paraffine permettent d'obtenir des données de distribution et de quantification fiables et comparables aux coupes en congélation, à la condition d'être vigilant aux contaminations pouvant survenir au cours de l'inclusion de l'échantillon.

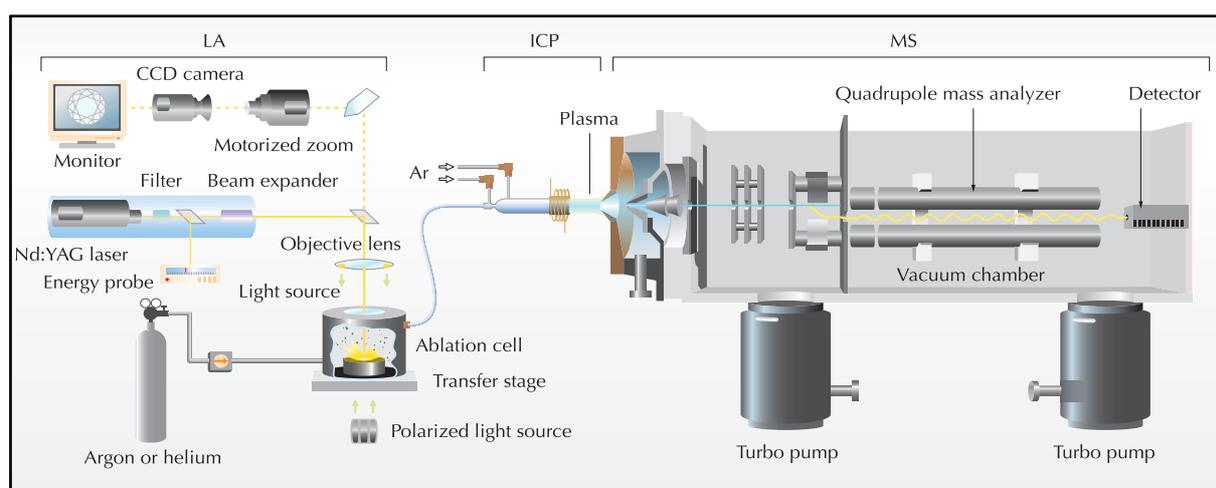
Les coupes sont ensuite montées sur une lame en verre standard quel que soit le mode de préparation utilisé. L'adhérence de la coupe doit être suffisante pour éviter la présence de bulles entre la lame et l'échantillon et prévenir tout bris de la lame lors de l'ablation laser. Après préparation, les lames doivent ensuite sécher à l'air libre ou sur une platine chauffante à 37°C. Leur stockage peut se faire à température ambiante, -20°C ou -80°C si l'on souhaite étudier certaines protéines fragiles.

## 2.2 Déroulement d'une analyse de bioimagerie élémentaire par LA-ICP-MS

La LA-ICP-MS est une technique de bioimagerie élémentaire reposant sur la combinaison d'un système commercial d'ablation laser et un spectromètre de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS). (**Figure 3. [22]**). La fonction du système d'ablation laser est comparable à celle du nébuliseur pneumatique présent sur un système ICP-MS « classique », en l'occurrence d'assurer l'introduction d'un échantillon solide dans la torche à plasma mais sans processus de minéralisation préalable. Une analyse de bioimagerie élémentaire par LA-ICP-MS comprend plusieurs étapes successives (**Figure 4. [23]**) depuis la préparation des coupes d'échantillons jusqu'à l'obtention d'une image représentative de la cartographie élémentaire de la surface de la coupe analysée.

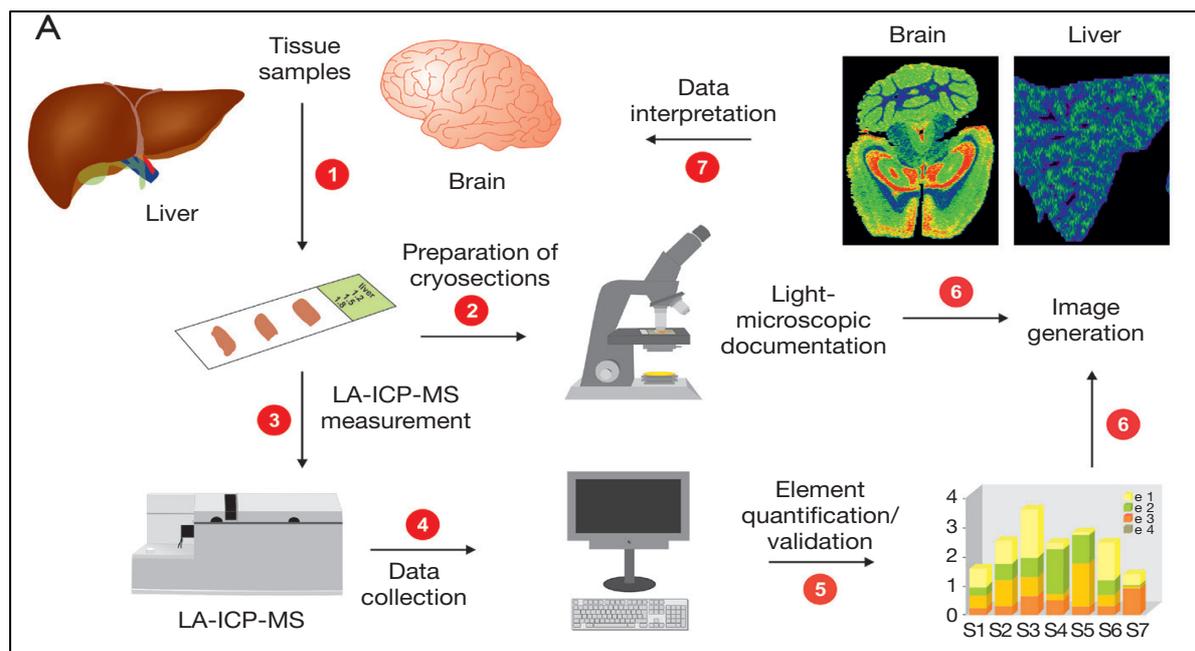
Après préparation de l'échantillon comme précédemment décrit, la lame est disposée dans une chambre d'ablation sur un plateau qui selon le système utilisé est fixe ou mobile dans les trois dimensions de l'espace (axes x, y et z). La chambre d'ablation est un compartiment étanche d'une surface d'approximativement 100 cm<sup>2</sup> pour une hauteur d'1 cm (24). Afin d'assurer son étanchéité au cours du processus d'ablation, une fenêtre disposée à son sommet et constituée d'un matériau particulier permet de laisser passer la longueur d'onde spécifique du laser utilisé. La forme et la configuration de la chambre d'ablation doivent permettre de minimiser les pertes de particules ainsi que d'optimiser leur temps de transport jusqu'à la partie ICP-MS. Le développement de chambres d'ablation ayant un faible niveau de perte a permis des gains en sensibilité rendant possible la production d'images à haute résolution (25).

Le système comprend aussi un équipement optique associant un microscope et un capteur photographique de type CCD. Ce système optique est indispensable pour cibler la zone à analyser, régler les paramètres d'ablation laser et capturer une image de la coupe de tissu avant ablation pour pouvoir y associer plus tard les données élémentaires obtenues.



**Figure 3. Schéma d'un couplage entre un système d'ablation laser et un ICP-MS.**

*D'après Abduriyim et al. [22]*



**Figure 4. Schéma des différentes étapes d'une analyse par LA-ICP-MS.**

*D'après Weiskirchen et al. [23]*

Le laser est disposé à la verticale ou à l'horizontale. Dans ce dernier cas, un miroir orienté à 45° permet de dévier et de focaliser le laser sur l'échantillon. Chaque impulsion laser permet si son énergie est suffisante de produire des fines particules qui sont transportées jusqu'à la torche à plasma par le biais d'un gaz vecteur (argon ou hélium). Le mode d'ablation le plus utilisé consiste en un balayage ligne par ligne de la surface de l'échantillon où chaque ligne correspond à une succession d'impacts du laser. Chaque impact prend la forme d'un cratère à la surface de l'échantillon. Une fois parvenues dans la torche à plasma, les particules sont vaporisées, atomisées et ionisées. Les ions produits sont extraits du plasma, séparés par le spectromètre de masse en fonction de leur rapport masse/charge et comptés au niveau du détecteur.

Le comptage ionique est effectué parallèlement au recueil des coordonnées (x,y) de la région ablatée par le laser. Ces données ioniques permettent d'obtenir des données élémentaires quantitatives ou semi-quantitatives qui sont associées aux coordonnées d'un point à la surface de l'échantillon. A l'aide d'un programme de reconstruction informatique, les données élémentaires sont superposées à leurs positions correspondantes sur l'image initiale. La représentation des données (quantitatives ou semi-quantitatives) se fait sous la forme d'une échelle de couleurs allant du bleu (présence ou concentration nulle/faible) au rouge (présence ou concentration forte). On obtient ainsi une cartographie de la composition élémentaire de la surface de la coupe d'échantillon que l'on peut interpréter.

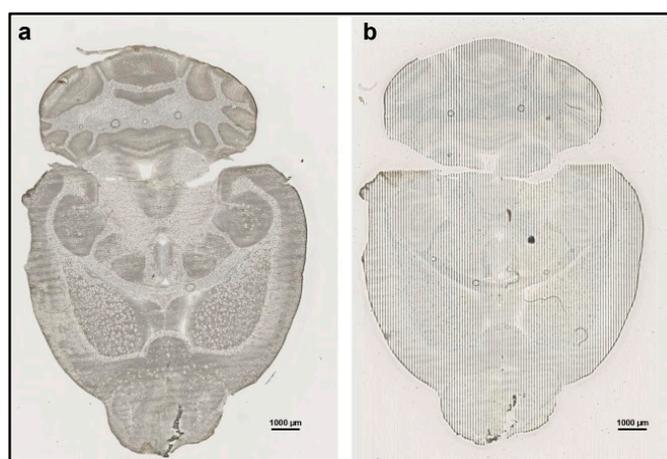
La durée d'une analyse par LA-ICP-MS est variable (de 30 minutes à plusieurs heures) selon la surface de la zone à ablater et les paramètres d'ablation utilisés comme la vitesse d'ablation

appliquée (en  $\mu\text{m/s}$ ), la mesure de l'interligne (0 à 100  $\mu\text{m}$ ) et du niveau souhaité de résolution spatiale (17).

La résolution spatiale est comparable à la résolution d'une image constituée de pixels. Elle détermine la finesse des détails des images obtenues. Comprise entre 10 et 200 micromètres en LA-ICP-MS (26), elle est fonction du diamètre du faisceau laser paramétré et donc de celui de l'impact. Une diminution du diamètre du faisceau laser augmente le niveau de résolution. Cette augmentation du niveau de détail est toutefois limitée techniquement par le niveau de sensibilité du spectromètre de masse couplé au système d'ablation laser. En effet, en réduisant le diamètre de l'impact, la quantité de particules au sein de l'aérosol et arrivant à l'ICP-MS est plus faible. La quantité d'ions produite parvenant finalement au détecteur est également plus faible ce qui peut empêcher la production d'un signal exploitable.

Cela explique que le niveau de résolution spatiale a peu évolué depuis les premiers développements de la technique ne permettant pas d'envisager d'étude à l'échelle d'une seule cellule ou de l'organite. Cependant, une résolution latérale de l'ordre du nanomètre a été obtenue expérimentalement à l'aide d'un spectromètre de masse à secteur magnétique et d'une aiguille en argent placée à proximité du faisceau laser (27).

Enfin, il faut prendre en compte que l'ablation laser est une méthode considérée comme « destructrice » dans le sens où les cratères résultant des impacts du laser rendent impossible la réalisation d'analyses ultérieures par une autre méthode d'imagerie couplée à la spectrométrie de masse (24)(Figure 5. [23]).



**Figure 5. Aspect macroscopique d'une coupe de cerveau de souris avant (a) et après (b) ablation laser.**

*D'après Weiskirchen et al. [23]*

### 2.3 Difficultés de la quantification en LA-ICP-MS

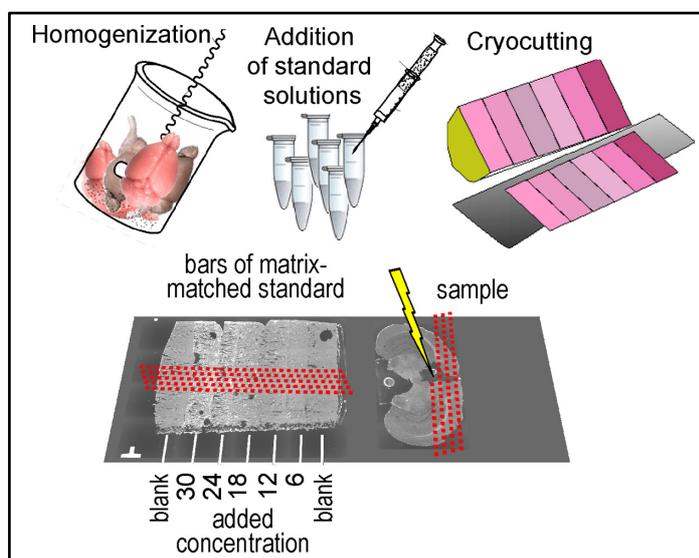
La LA-ICP-MS permet l'étude de la distribution des éléments à la surface d'une coupe d'échantillon de façon qualitative mais aussi quantitative. La quantification représente la principale difficulté de l'analyse par LA-ICP-MS du fait du risque d'effet de matrice. En effet, le « comportement » du matériau au cours de l'ablation par le laser varie selon la nature de la matrice étudiée ce qui peut induire un biais dans les données quantitatives obtenues. Afin de prévenir l'effet de matrice, il est nécessaire de disposer de matériaux de référence ou d'étalons de compositions similaires à l'échantillon analysé (« matrix matching »). Cependant, les matériaux de référence certifiés ou les solutions commerciales de calibration sont peu nombreux. Le développement d'étalons « maisons » est donc la solution la plus souvent privilégiée pour établir une calibration. De nombreuses méthodes de calibration se sont développées à partir de matériaux solides, de solutions liquides, de gélatine ou par technique de dilution isotopique (28).

La méthode la plus commune consiste à produire des étalons dopés (**Figure 6. [29]**) à partir d'une matrice identique à celle que l'on souhaite étudier et dans la mesure du possible qui soit dépourvue de l'élément d'intérêt. La matrice est d'abord finement broyée afin d'obtenir un mélange homogène puis dopée à l'aide de solutions de concentrations élémentaires connues. Un échantillon non dopé est utilisé comme blanc matrice. La concentration élémentaire des différents homogénats obtenus est mesurée par ICP-MS. Après compaction et congélation on obtient les différents étalons sous la forme de blocs ou pastilles solides à partir desquels sont réalisées des coupes fines. Ces différents étalons sont ensuite analysés en même temps que l'échantillon ce qui permet d'établir une courbe de calibration et de déterminer les concentrations élémentaires de l'échantillon.

L'utilisation d'un étalon interne est possible afin de s'affranchir des effets de matrice, de compenser les variations pouvant survenir au cours du processus d'ablation ou encore de prévenir les dérives de l'analyseur (30). Un bon étalon interne doit avoir un comportement identique à l'élément mesuré au cours de l'ablation et doit être réparti de manière homogène dans l'échantillon et dans les

**Figure 6. Schéma du protocole de réalisation d'étalons dopés pour calibration externe en LA-ICP-MS.**

*D'après Becker JS et al. [29]*



étalons. Il ne doit pas être sujet aux interférences analytiques pouvant survenir lors d'une analyse par ICP-MS. Un isotope mineur d'un élément ayant une distribution homogène dans la matrice est en général choisi. L'isotope 13 du carbone est fréquemment employé comme étalon interne du fait de son abondance et de sa répartition équilibrée dans les tissus biologiques.

## 2.4 Influence du laser sur l'analyse par LA-ICP-MS

Depuis le premier développement de la LA-ICP-MS, les caractéristiques techniques des systèmes commerciaux d'ablation laser ont connu des évolutions successives (11). A l'heure actuelle, des lasers de type Nd-YAG (acronyme anglais de neodymium-doped yttrium aluminium garnet) ou à excimère (excimer) équipent le plus souvent les systèmes d'ablation laser. Les évolutions techniques des lasers ont contribué à l'amélioration des performances analytiques des analyseurs LA-ICP-MS et à l'expansion de l'utilisation de cette technique dans le domaine biomédical. En effet, les performances globales d'un système LA-ICP-MS dépendent à la fois des caractéristiques du laser et de l'ICP-MS. Concernant les paramètres du laser, la longueur d'onde, la durée et la fréquence de l'impulsion ainsi que la fluence sont les principaux éléments ayant un impact sur le processus d'ablation laser.

La longueur d'onde du laser influence l'interaction entre le faisceau laser et le solide qui sera variable selon la nature de la matrice étudiée. Une longueur d'onde plus courte produit un aérosol comportant des particules plus fines ce qui contribue à améliorer la qualité du couplage (31). Les longueurs d'ondes utilisées se sont donc progressivement réduites passant du domaine de l'infrarouge à celui du visible puis actuellement au domaine ultraviolet. Les longueurs d'onde 213 et 266 nm sont fréquemment utilisées pour l'imagerie élémentaire d'échantillons biologiques.

La durée de l'impulsion laser détermine les effets thermiques de l'ablation produits sur le matériau ainsi que la profondeur du cratère. Les lasers à impulsion nanoseconde sont les plus répandus mais des lasers à impulsion femtoseconde sont apparus récemment. Ces derniers présentent l'avantage d'une interaction plus courte entre le faisceau laser et la matière causant ainsi moins de dommages au matériau analysé. Cette ablation dite « froide » permet d'obtenir une finesse supérieure de l'aérosol et ainsi d'abaisser les limites de détection (32).

La fluence ou flux d'énergie (en  $W.cm^{-2}$ ) correspond au niveau d'énergie délivré à la surface de l'échantillon au niveau du point d'impact et détermine la quantité de matière ablatée ce qui influence également le niveau de sensibilité (33).

Enfin la fréquence d'impulsion du laser (en Hz) détermine la quantité de matière ablatée par unité de temps et donc la qualité du signal arrivant au détecteur de l'ICP-MS au cours de l'analyse. Une fréquence trop faible induira la production d'un signal instable. Une fréquence plus élevée permet d'obtenir une sensibilité supérieure car l'intensité délivrée est plus forte sur une durée plus courte (33).

### 3. Applications de la LA-ICP-MS pour l'étude des pathologies neurologiques

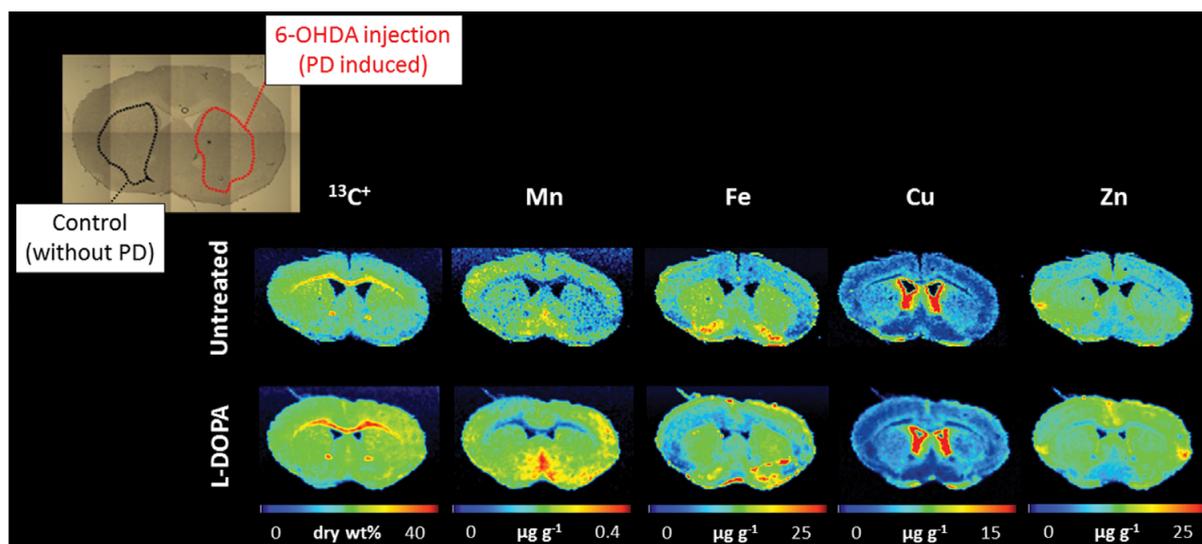
Un certain nombre d'éléments dont des métaux comme le cuivre, le fer et le zinc possèdent un rôle fondamental dans l'homéostasie de l'organisme et du système nerveux. En effet, au niveau cellulaire et neuronal, leur présence est indispensable à de nombreux processus (transmission synaptique, protection contre le stress oxydatif, réactions enzymatiques)(34). Leur quantité est finement régulée par de nombreux mécanismes complexes assurant un équilibre entre les apports et les pertes. Tout dérèglement des mécanismes de régulation peut conduire à un déficit ou un excès de ces éléments qui sont à l'origine de certaines maladies neurodégénératives ou bien suspectés d'en favoriser l'apparition (35).

#### 3.1 Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative chronique en lien avec une destruction progressive des neurones dopaminergiques de la pars compacta du locus niger (« substance noire ») à l'origine d'une symptomatologie hétérogène. Les causes de la maladie de Parkinson ne sont pas connues mais elle semble reliée à un mécanisme multifactorielle (environnement, génétique, etc.)(36). L'implication potentielle de certains métaux en particulier le fer dans la formation de radicaux libres a été décrite dans la littérature (34).

Les études de la maladie de Parkinson par LA-ICP-MS se basent sur différents modèles murins de cette pathologie. Le premier modèle repose sur l'injection directe de la neurotoxine 6-hydroxydopamine (6-OHDA) au niveau du locus niger qui conduit à la mort des neurones dopaminergiques. Le second modèle est basé sur l'administration subchronique de 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) qui entraîne la perte de la sécrétion de dopamine au niveau des neurones. Enfin le modèle L62, qui surexprime l'alpha synucléine, une protéine dont l'accumulation va entraîner une diminution de la sécrétion dopaminergique.

La première application de l'ablation laser couplée à l'ICP-MS sur des souris après injection de 6-OHDA par Hare et al. (37) montrait une concentration en fer significativement supérieure au niveau de la région du locus niger par rapport à des souris n'ayant pas eu d'injection de 6-OHDA. A partir du même modèle murin, Sussulini et al. se sont intéressés à l'effet de l'administration de L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) sur la distribution élémentaire du cuivre, du fer, du manganèse et du zinc (**Figure 7. [38]**). La distribution de ces éléments et leur quantification sur des coupes de cerveau centrées sur le locus niger n'étaient pas significativement différentes entre les souris traitées par L-DOPA et les souris contrôles. Cette absence de différence significative pouvait être en lien avec une étude du tissu cérébral trop tardive après l'injection de 6-OHDA ou d'une dose administrée insuffisante. En revanche, une différence significative était mesurée chez toutes les souris pour le fer au niveau du striatum ventral (-7%) et pour le cuivre au niveau du striatum dorsal (-7%). Chez les souris contrôles, la concentration périventriculaire du cuivre était significativement supérieure par



**Figure 7. Comparaison de la distribution par LA-ICP-MS du manganèse, fer, cuivre et zinc sur des coupes de cerveau d'un modèle murin 6-OHDA de la maladie de Parkinson avec ou sans traitement par L-DOPA.**

*D'après Sussulini et al. [38]*

rapport aux souris traitées. Cette différence pouvait être en lien avec un efflux du cuivre moins important sous l'effet de la L-DOPA chez les souris traitées. De plus cette mise en évidence d'une augmentation du cuivre au niveau périventriculaire pouvait être reliée aux concentrations en cuivre plus élevées retrouvées dans le liquide céphalo-rachidien des patients atteints de la maladie de Parkinson (39).

La distribution élémentaire du cuivre, fer, manganèse et zinc a aussi été étudiée sur des coupes de cerveau de souris du modèle murin MPTP de la maladie de Parkinson (40). Des coupes coronales de cerveau au niveau du locus niger et du striatum étaient comparées chez des souris à différents temps (2 heures, 7 jours et 28 jours après injection de MPTP). Une diminution significative du cuivre au niveau périventriculaire et du fascia dentata de l'hippocampe à 2h et 7 jours était visualisée avant un retour à la normale voire à une surcompensation à 28 jours. Au niveau du cortex, la diminution du cuivre était d'environ 10% à 28 jours. Le fer était significativement augmenté au niveau du noyau interpedonculaire mais pas au niveau du locus niger. Ces données étaient en accord avec d'autres études sur ce modèle murin ; d'une part sur une régulation différentielle du cuivre au niveau cortical et périventriculaire et d'autre part sur l'atteinte préférentielle de certaines régions par la MPTP. Enfin les modifications de la répartition du fer étaient confirmées par les colorations histochimiques (Perls) réalisées en parallèle.

Plus récemment, la détection et la quantification par LA-ICP-MS et immunohistochimie de quatre protéines clés ont été effectuées sur du tissu cérébral de souris L62 et de souris sauvages (41). L'alpha synucléine (toxique pour les neurones à dopamine), l'antigène nucléaire neuronal (NeuN, marqueur de dégénération neuronale), la tyrosine hydroxylase (TH, marqueur de la synthèse de

dopamine) et la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP, marqueur de gliose) étaient marqués à l'aide d'anticorps couplés à un lanthanide avant analyse. Les résultats obtenus par LA-ICP-MS et immunohistochimie étaient cohérents avec les profils de ces protéines déjà connus dans la littérature. L'alpha synucléine et la GFAP étaient augmentées significativement avec une valeur-p plus faible en LA-ICP-MS pour le marqueur de gliose GFAP. L'antigène nucléaire neuronal (NeuN) était abaissé de manière significative ce qui est cohérent avec la perte de neurones dopaminergiques au cours de la maladie de Parkinson. Pour la TH, la LA-ICP-MS montrait une diminution significative en accord avec la baisse de la synthèse de dopamine alors que l'immunohistochimie ne montrait pas de différence significative. La supériorité de la LA-ICP-MS en terme de sensibilité et de gamme dynamique peut expliquer cette différence et démontre sa capacité à détecter des variations trop faibles pour être mises en évidence par les techniques immunohistochimiques.

### 3.2 [Maladie d'Alzheimer](#)

La maladie d'Alzheimer est la principale cause de démence dans le monde. Cette pathologie incurable est caractérisée par l'existence de lésions caractéristiques au niveau cérébral : les plaques séniles constituées de dépôts extracellulaires de peptide bêta amyloïde et des dégénérescences neurofibrillaires formées par l'accumulation de protéine tau phosphorylée. La pathogénèse de la maladie reste mal connue et dépend d'une multitude de facteurs (âge, environnement, etc.) (42). L'influence potentielle des métaux (aluminium, cuivre, fer, zinc, etc.) dans le développement de la maladie a été décrite notamment dans la formation des plaques séniles mais les mécanismes impliqués restent indéterminés (27,33,34).

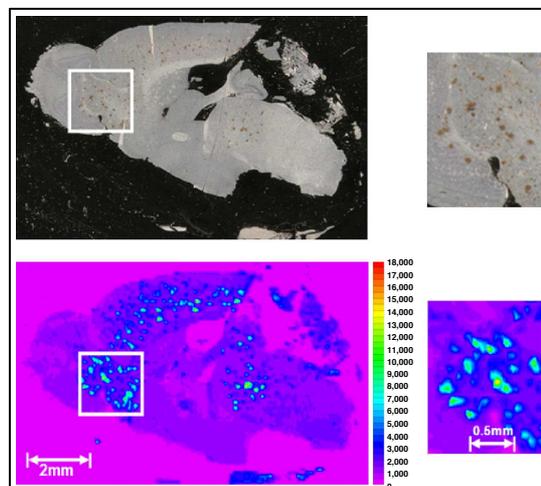
La LA-ICP-MS a permis de déterminer la répartition du peptide bêta amyloïde sur des coupes de cerveau d'un modèle de souris développant des plaques séniles par accumulation de peptide bêta amyloïde dès l'âge de quatre mois. Pour cela, Hutchinson et al (45) ont comparé LA-ICP-MS et techniques immunohistochimiques. Les coupes de cerveau étaient marquées à l'aide d'un d'anticorps monoclonal couplé à du nickel ciblant le peptide bêta amyloïde et son précurseur. Une coloration au DAB-nickel (diaminobenzine) de la coupe permettait de visualiser les zones de dépôt du peptide bêta amyloïde (coloration brune). Les résultats obtenus (**Figure 8. [45]**) montraient une très bonne corrélation entre les zones correspondant aux plaques séniles et les zones où le signal du nickel était le plus fort. L'image obtenue par LA-ICP-MS présentait un niveau de détail supérieur. Ces résultats ouvraient la voie à l'étude de la répartition d'autres protéines au niveau de coupes de tissu et à la recherche d'un lien entre ces protéines et des métaux.

Cruz Alonso et al (46) se sont intéressés à la distribution du fer en parallèle de celle de la ferroportine (transporteur membranaire du fer) sur du tissu cérébral de patients sains et de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (coupes centrées sur le stratum pyramidale de la région CA1 de l'hippocampe). L'analyse de la ferroportine par LA-ICP-MS utilisait un anticorps monoclonal couplé à des particules d'or. Les données obtenues montraient une augmentation de la quantité de fer chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer alors que la ferroportine était en quantité comparable par rapport aux patients sains. La distribution spatiale du fer et de la ferroportine était similaire entre les

deux groupes de patients. Une technique immunohistochimique réalisée en parallèle pour la détection de la ferroportine montrait une distribution similaire à la LA-ICP-MS mais ne permettait pas d'obtenir de données quantitatives. Le niveau de résolution des images obtenues par LA-ICP-MS oriente à l'avenir vers la réalisation d'études simultanées de la distribution de panels de protéines

**Figure 8. Coupe de cerveau d'un modèle murin de la maladie d'Alzheimer après marquage par anticorps du peptide bêta amyloïde. Aspect microphotographique (haut) après coloration au DAB-Ni (plaques séniles colorées en brun) ; imagerie LA-ICP-MS pour le nickel (bas).**

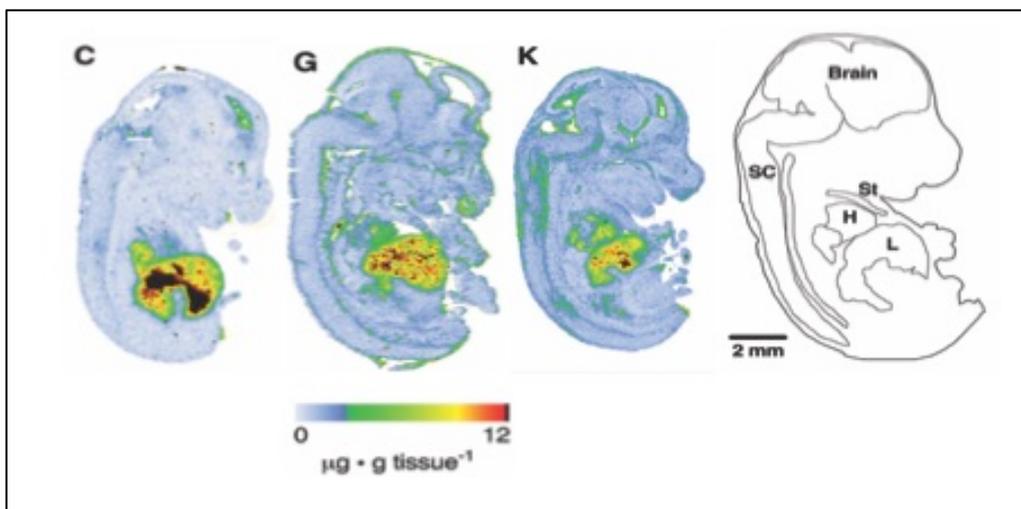
*D'après Hutchinson et al. [45]*



### 3.3 Sclérose latérale amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou maladie de Charcot est une maladie neurodégénérative touchant les motoneurons du système nerveux central. Débutant à l'âge adulte, elle entraîne l'apparition d'une paralysie musculaire progressive conduisant faute de traitement existant au décès du patient. La majorité des cas est sporadique (90%) mais il existe des formes familiales dans 5 à 10% des cas pour lesquelles certaines mutations sont décrites (47). C'est notamment le cas du gène de la superoxyde dismutase à cuivre/zinc de type1 (SOD1) dont la mutation est à l'origine de 10 à 20% des formes familiales (48). Cette métalloprotéine a un rôle antioxydant en participant à la lutte contre les radicaux libres. Un modèle murin (SOD1<sup>G37R</sup>) surexprimant la protéine SOD1 mutée reproduit le phénotype de la SLA chez l'animal. Ce modèle avait déjà permis de montrer l'implication du cuivre dans le mécanisme physiopathologique (49). En effet, la quantité de cuivre indispensable à la bonne maturation de la protéine SOD1 mutée est insuffisante au niveau du système nerveux central des souris surexprimant la protéine SOD1 mutée (50) par rapport aux autres tissus. En revanche pour le zinc, sa quantité était bien corrélée à la surexpression de SOD1.

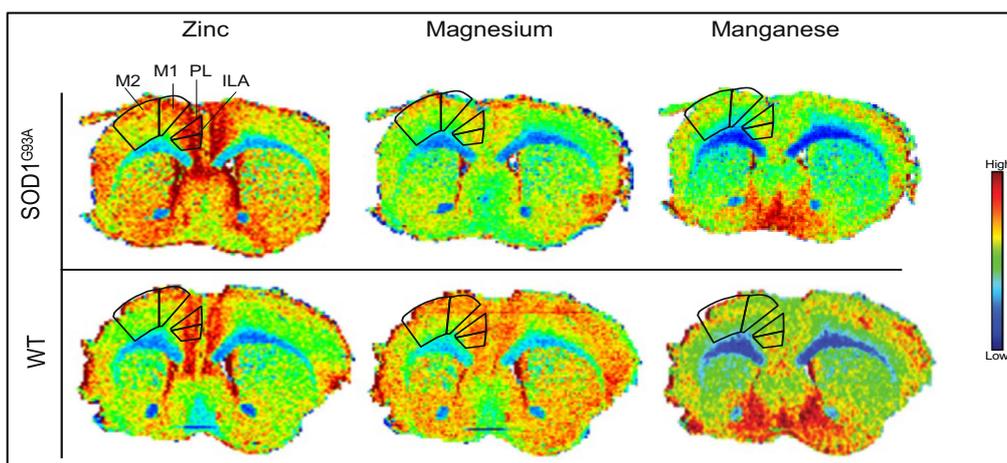
Kysenius et al. (51) ont cherché à déterminer si cette insuffisance d'apport en cuivre de la protéine SOD1 mutée était âge-dépendante et pouvait expliquer le fait que la maladie ne se développe qu'à l'âge adulte. Grâce à la LA-ICP-MS, la distribution endogène du cuivre et du zinc a été déterminée chez des embryons de souris de 14 jours surexprimant la protéine SOD1 sous sa forme mutée ou non. Contrairement à l'adulte, les embryons de souris porteurs ou non de la mutation présentaient une redistribution du cuivre du foie vers le système nerveux central (**Figure 9. [51]**). Cela tendait à démontrer que la rupture dans la fourniture en cuivre de la protéine SOD1 survient plutôt à l'âge adulte et qu'il existe un mécanisme de compensation durant la phase embryonnaire.



**Figure 9. Distribution du cuivre chez des embryons de souris. Souris contrôles (C), surexprimant la protéine SOD1 non mutée (G) et mutée (K).**

*D'après Kysenius et al. [51]*

Dans une autre étude sur le même modèle murin de SLA, Figueroa-Romero et al. (52) ont mis en évidence une différence des profils de distribution de certains éléments par rapport à des souris sauvages (**Figure 10. [52]**). Une augmentation de la concentration en zinc et une diminution de celle du magnésium étaient visualisées au niveau du cortex moteur et du cortex préfrontal (régions prélimbique et infralimbique). Il n'y avait pas de différence significative observée concernant le manganèse.



**Figure 10. Comparaison de la distribution cérébrale par LA-ICP-MS du zinc, magnésium et manganèse chez un modèle murin de SLA et chez des souris contrôles.**

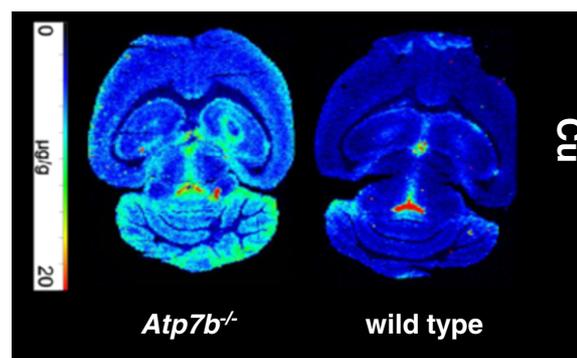
*D'après Figueroa-Romero et al. [52]* M1+M2 : cortex moteur ; PL : région prélimbique ; ILA : région infralimbique

Dans cette étude, les auteurs avaient aussi pour objectif de déterminer si le développement d'une SLA à l'âge adulte était relié à des troubles de l'homéostasie des métaux durant l'enfance (période 0-15 ans). L'analyse multiélémentaire de dents définitives de patients atteints de SLA et de patients sains par LA-ICP-MS mettait en évidence des concentrations plus élevées dans l'enfance en chrome, étain, manganèse, nickel et zinc chez les patients malades. Les dents accumulent de manière stable les métaux, toxiques en particulier, au cours de la minéralisation et constituent une matrice intéressante pour étudier rétrospectivement des troubles précoces de l'homéostasie des métaux. Ces résultats en faveur d'un lien entre trouble de l'homéostasie de certains métaux dans l'enfance et développement d'une SLA étaient confortés par une étude sur un modèle murin de SLA. Ces dernières et des souris sauvages étaient exposées de manière chronique à 11 éléments. La comparaison du profil élémentaire des dents des souris modèles de SLA et des souris contrôles à des âges différents montrait une accumulation de certains métaux (le zinc par exemple) pour le premier groupe. Cette accumulation montrait donc l'existence d'une anomalie précoce des mécanismes de régulation de ces éléments en lien avec le développement d'une SLA à l'âge adulte.

### 3.4 [Maladie de Wilson](#)

La maladie de Wilson est une maladie autosomique récessive rare du métabolisme du cuivre conduisant à une accumulation toxique de ce métal principalement au niveau hépatique (cirrhose) et cérébral (53). Elle est causée par la mutation du gène de l'ATPase ATP7B, un transporteur hépatique clé du cuivre qui régule l'excrétion du cuivre au niveau biliaire mais aussi au niveau du liquide céphalo-rachidien (54). Les manifestations cliniques sont principalement hépatiques, neurologiques et psychiatriques. Un anneau de Kayser-Fleischer reflétant une accumulation cornéenne de cuivre peut être présent. Le traitement de la maladie de Wilson repose sur un traitement par chélateur du cuivre (D-penicillamine) ou par du zinc. L'accumulation de cuivre au cours de la maladie de Wilson au niveau cérébral est bien connue mais sa distribution au niveau des différentes structures anatomiques et son influence potentielle sur la répartition des autres métaux le sont moins. De nombreux modèles murins de la maladie de Wilson existent et permettent de reproduire les effets de l'accumulation du cuivre chez l'homme au niveau du cerveau en particulier (55).

Boaru et al. (56) ont appliqué la LA-ICP-MS sur des sections de cerveau de souris sauvages et porteuses d'une mutation du gène ATP7B âgées de 11 et 24 mois. La concentration en cuivre montrait dès l'âge de 11 mois l'existence d'une accumulation progressive (**Figure 11. [56]**) d'un

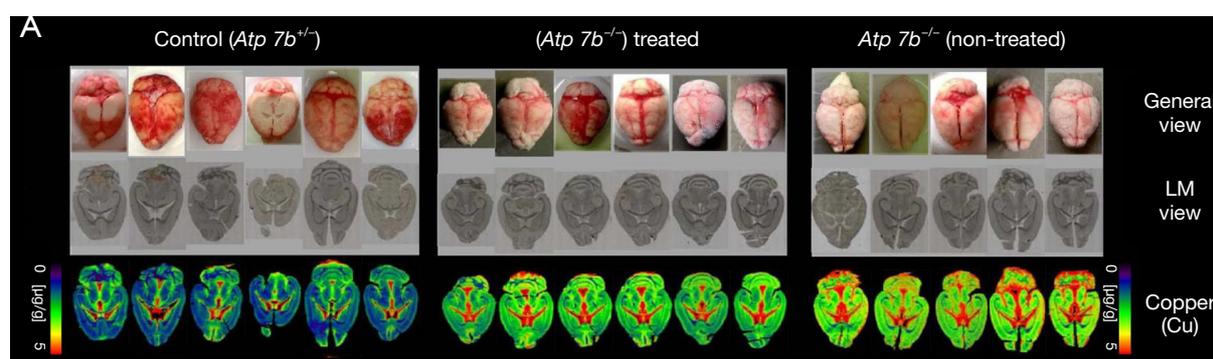


**Figure 11. Bioimagerie cérébrale du cuivre (LA-ICP-MS) chez une souris ATP7B -/- et chez une souris WT.**

*D'après Boaru et al. [56]*

facteur 2 chez les souris transgéniques (5,5µg/g) par rapport aux souris sauvages (2,7µg/g). Cette augmentation était proportionnelle en fonction des différentes régions anatomiques. Au niveau des régions périventriculaires, la concentration en cuivre chez les souris mutées était trois fois plus faible que chez les animaux contrôles. Ce taux plus faible était bien corrélé avec la théorie selon laquelle ces zones périventriculaires sont normalement riches en cuivre (18) car elles sont le siège d'une excrétion active du cuivre dans le liquide céphalo-rachidien (via le transporteur ATP7B). De plus le gradient habituellement croissant en cuivre en aval des ventricules latéraux jusqu'au troisième ventricule n'était pas présent. La concentration en zinc était augmentée de 40% au niveau des zones à haut contenu en cuivre mais normale dans les zones habituelles d'accumulation de ce métal, ce qui était probablement en lien avec le rôle de substrat du zinc comme ATPase de transport du cuivre. Pour le fer et le manganèse, il n'y avait pas de différence significative pour toutes les régions étudiées. Au total, l'étude confirmait l'accumulation stable du cuivre plus ou moins proportionnelle suivant les régions au décours de la maladie de Wilson et montrait une diminution du cuivre au niveau des régions périventriculaires.

La LA-ICP-MS peut aussi être appliquée pour visualiser l'effet de traitements expérimentaux de la maladie de Wilson sur l'accumulation cérébrale de cuivre. Une thérapie génique faisant intervenir un virus adeno-associé de type 8 comme vecteur du gène humain de l'ATP7B et un promoteur humain hépato-spécifique de l'alpha-1-antitrypsine avait déjà montré des effets dose-dépendants encourageants au niveau clinico-biologique (57). Les effets sur l'accumulation cérébrale du cuivre n'y avaient pas été décrits. L'étude par Uerlings et al. (58) de l'effet du vecteur viral chez des souris ATP7B<sup>-/-</sup> montrait une réduction de l'accumulation du cuivre par rapport aux souris porteuses de la mutation non traitées (**Figure 12. [58]**). La distribution du cuivre restait inchangée tout comme celles des autres métaux (fer, zinc, manganèse, etc.). Cette étude montrait l'intérêt de la LA-ICP-MS pour suivre les effets d'un traitement sur les accumulations cérébrales de cuivre dans le cadre de la maladie de Wilson.



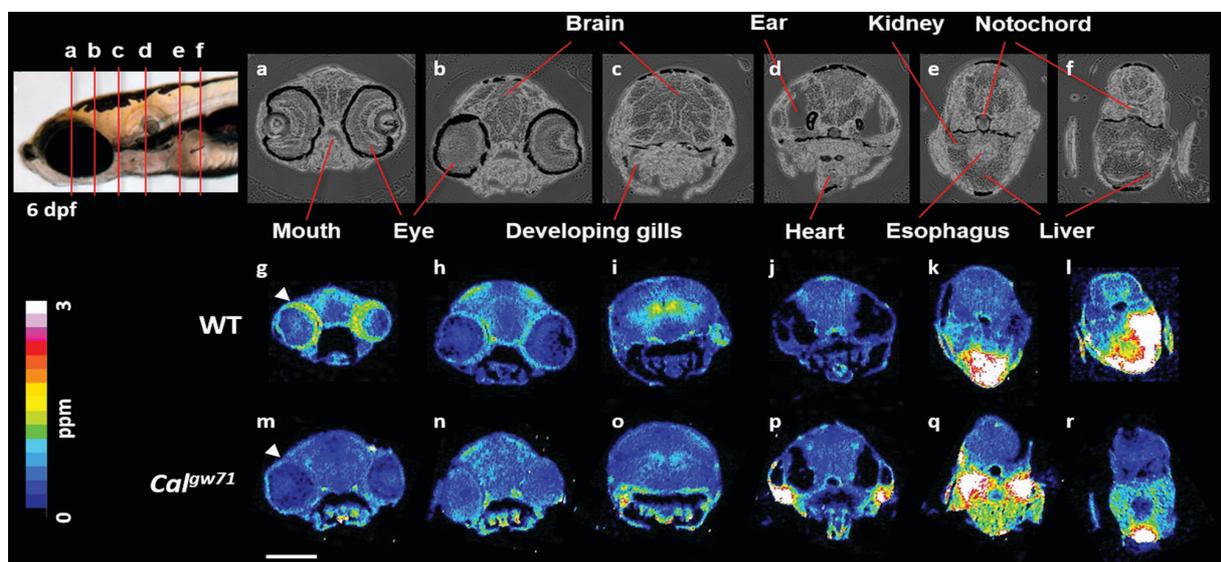
**Figure 12. Evaluation par LA-ICP-MS de l'effet sur la surcharge cérébrale en cuivre d'une thérapie génique chez des souris ATP7B <sup>-/-</sup> . Souris contrôles=WT**

*D'après Uerlings et al. [58]*

### 3.5 Maladie de Menkes

La maladie de Menkes est une maladie sévère du métabolisme du cuivre. De transmission récessive liée à l’X, elle se caractérise par une atteinte multisystémique (neurologique, articulaire, osseuse, cutanée, etc.). Débutant dès la période néonatale, son évolution est fatale dans l’enfance en l’absence de traitement existant en dehors du traitement symptomatique (59). Elle est causée par la mutation du gène ATP7A codant pour une ATPase de transport du cuivre impliquée notamment dans son absorption intestinale mais aussi dans la régulation intracellulaire du cuivre (apport pour les cupro-enzymes et export du cuivre en excès) (60). Sa mutation entraîne l’accumulation de cuivre dans certains tissus (intestin grêle, rein) alors que le cerveau et d’autres tissus sont en déficit.

L’unique publication sur la maladie de Menkes et LA-ICP-MS repose sur l’étude de la distribution du cuivre chez des embryons de poisson zèbre *Calamity<sup>Gw71</sup>*, un modèle de déficit sévère en cuivre reproduisant le phénotype de la maladie de Menkes (61). L’étude par LA-ICP-MS sur des individus de 6 jours montrait un enrichissement en cuivre chez les embryons contrôles (foie, cœur et tissu nerveux) alors que les embryons mutés présentaient une accumulation du cuivre au niveau rénal et une déplétion au niveau du tissu neurologique (**Figure 13. [61]**). Les données quantitatives montraient une différence significative des concentrations en cuivre au niveau du foie, du rein et du tissu nerveux. Il n’était pas noté de différence significative pour le zinc. Cette étude confirmait la modification de la distribution tissulaire du cuivre rencontrée au cours de la maladie de Menkes avec notamment la déplétion au niveau du tissu nerveux suggérant un rôle de l’ATP7A dans l’absorption du cuivre au niveau de la barrière hémato-encéphalique.



**Figure 13. Distribution du cuivre par LA-ICP-MS chez des embryons sauvages (WT) et *Calamity<sup>Gw71</sup>* (modèle de maladie de Menkes) de poisson zèbre.**

*D'après Ackerman et al. [61]*

### 3.6 [Toxicologie et métaux lourds](#)

Dans le cadre d'études toxicologiques, la LA-ICP-MS permet de déterminer si certaines structures cérébrales sont le siège d'une accumulation préférentielle d'éléments toxiques (métaux lourds par exemple). Les données de bioimagerie par LA-ICP-MS sont complétés par l'étude des protéines et la recherche de cibles biomoléculaires avec pour objectif la détermination des mécanismes d'action toxique.

Une première étude par Becker et al. (62) montrait une forte affinité de l'uranium pour la substance blanche par rapport à la substance grise au niveau de coupes de cerveau de rat incubées en post-mortem dans une solution aqueuse enrichie en cet élément. La substance blanche étant riche en myéline, la distribution élémentaire obtenue montrait le potentiel toxique de l'uranium pour la myéline.

Le plomb est un élément toxique dont l'accumulation va avoir une incidence au niveau de l'organisme et du système nerveux central en particulier. Dobrowolska et al. (63) ont montré une distribution homogène du plomb au niveau de trois zones d'une coupe d'hémisphère cérébral humain. Cependant, le matériel autopsique analysé provenait d'un patient indemne de pathologie neurologique ou psychiatrique et les concentrations en plomb retrouvées étaient faibles ( $<0,2\mu\text{g/g}$ ).

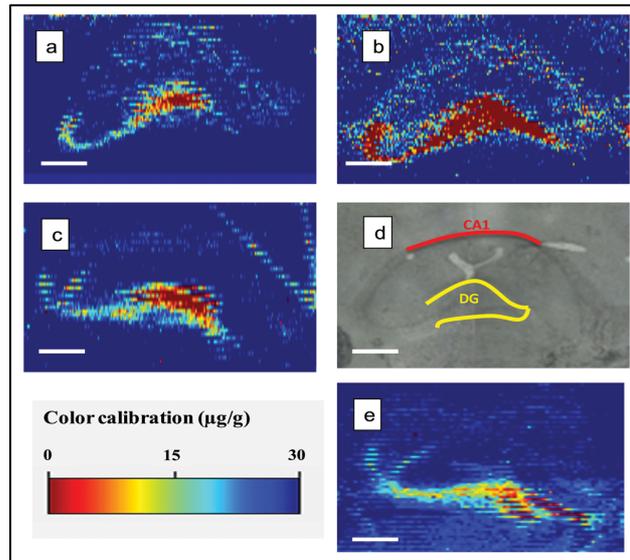
Plus récemment, Togao et al. (64) ont étudié la distribution du plomb au niveau cérébral chez des souris saines ou ayant reçu pendant 3 semaines une solution d'acétate de plomb à faible (100mg/l) ou forte concentration (1000mg/l). La mesure du niveau de plomb au niveau cérébral par ICP-MS (après minéralisation) retrouvait une augmentation dose dépendante des concentrations. Dans cette étude, la distribution cérébrale en plomb étudiée par LA-ICP-MS était uniquement qualitative du fait de l'absence de matériau de référence pour la calibration. La répartition spatiale du plomb était inhomogène avec une abondance du plomb supérieure au niveau de l'hippocampe, du thalamus et de l'hypothalamus par rapport à la substance blanche. Les auteurs ont aussi comparé la distribution spatiale du plomb par LA-ICP-MS à la répartition de la protéine STIM1 (stromal interacting protein 1) qui jouerait un rôle dans l'entrée du plomb au niveau cellulaire. La distribution cérébrale de STIM1 était inhomogène et similaire à celle du plomb avec une présence plus importante au niveau de l'hippocampe. Cependant il n'y avait pas d'induction de l'expression du gène STIM1 et l'existence d'autres voies potentielles d'entrée du plomb au niveau cellulaire ne permettait pas de conclure sur le rôle de STIM1.

### 3.7 Etat de stress post-traumatique

Le zinc est un élément trace essentiel au fonctionnement de l'organisme et du système nerveux du fait de son rôle dans de nombreux processus biologiques (65). L'excès de zinc est toxique alors que son déficit est connu pour son rôle dans la dépression et l'anxiété chez l'homme et l'animal (66).

Sela et al. (67) se sont servis d'un modèle animal pour l'étude de l'état de stress post-traumatique et de la LA-ICP-MS pour déterminer l'existence d'un lien entre la réponse comportementale au stress et la répartition du zinc au niveau de l'hippocampe. Pour cela, des rats étaient exposés à une source de stress (exposition à un prédateur) pendant dix minutes et l'effet sur leur comportement était étudié sept jours après avec un classement en trois groupes (atteinte comportementale faible, modérée ou forte). La distribution du zinc au niveau

hippocampique était établie sur des cerveaux de rats sacrifiés 8 jours après l'exposition au stress. Une modification de la distribution du zinc au niveau de l'hippocampe des rats ayant une forte atteinte comportementale était observée par rapport aux rats contrôles et ceux avec une atteinte faible (**Figure 14. [67]**). Les concentrations retrouvées étaient aussi significativement supérieures notamment au niveau du gyrus denté et de l'aire 1 la corne d'Ammon (CA1) chez les rats avec forte atteinte comportementale. Pour expliquer cette influence potentielle du zinc sur le développement d'un état de stress post-traumatique, les auteurs ont étudié l'expression de deux métallotionéines, la caspase 3 pro-apoptotique et la B-cell lymphoma 2 (Bcl2) anti-apoptotique. En effet, la présence excessive de zinc entraîne une toxicité neuronale et contribue à activer les mécanismes d'apoptose (68). Les niveaux de caspase 3 au niveau du gyrus denté étaient significativement supérieurs chez les rats avec forte atteinte comportementale par rapport aux rats contrôles alors que l'expression de Bcl2 était significativement diminuée ce qui indiquait un processus de mort cellulaire amplifié au niveau de cette région. Il semblait donc y avoir une corrélation entre la distribution et le niveau de zinc au niveau de l'hippocampe et le degré de l'atteinte de l'état de stress post-traumatique. Ces résultats ouvraient la perspective de l'utilisation d'un traitement pharmacologique inhibiteur du zinc dans la prise en charge de l'état de stress post-traumatique.

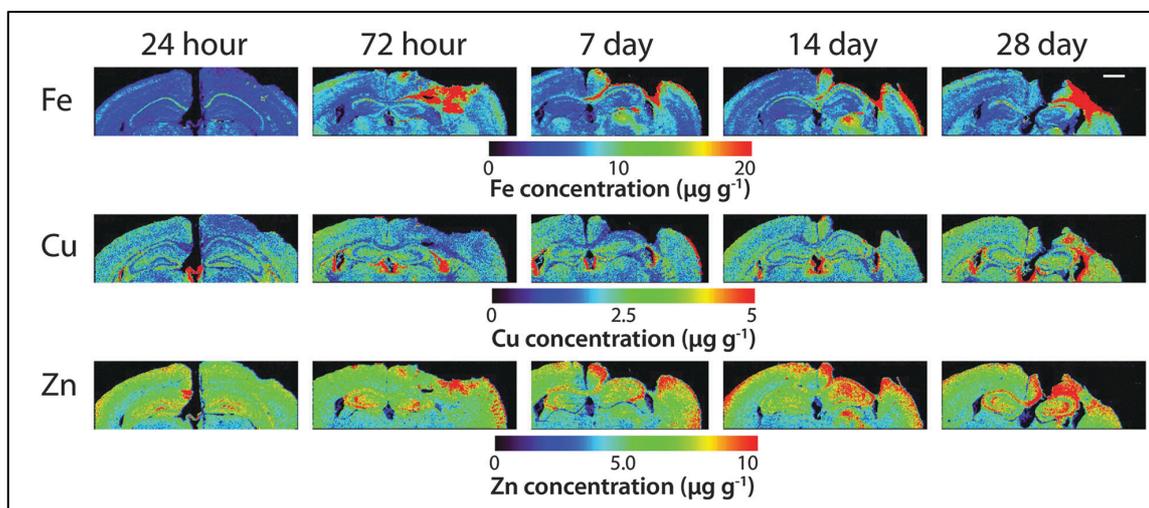


**Figure 14. Distribution du zinc (LA-ICP-MS) au niveau de l'hippocampe. Rats contrôles (a, e) ; avec forte atteinte comportementale (b) ; avec faible atteinte comportementale (c) ; Photographie d'hippocampe de rat (d).**

*D'après Sela et al. [67]*

### 3.8 Traumatisme crânien

Le traumatisme crânien est une cause importante de mortalité et de handicap dans les pays développés (69). Du point de vue de l'homéostasie des métaux (cuivre, fer, zinc) au niveau cérébral, il engendre des perturbations majeures (70). Portbury et al. ont étudié par LA-ICP-MS la modulation spatio-temporelle de l'homéostasie de ces métaux au niveau cérébral à l'aide un modèle murin de traumatisme crânien (71). Un impact était réalisé sur un hémisphère cérébral après craniectomie pour créer une lésion cérébrale alors que l'hémisphère controlatéral servait de contrôle. Les coupes de cerveau étudiées provenaient d'animaux sacrifiés à 24h, 72h, 7 jours, 14 jours et 28 jours post lésion cérébrale. Les concentrations en fer étaient significativement plus élevées après 24h et jusqu'à 28 jours (**Figure 15. [71]**). A 24h, le profil de la distribution du fer semblait inchangé, laissant supposer l'existence d'un mécanisme compensant transitoirement son accumulation avant un rebond et donc une augmentation de son potentiel de neurotoxicité. De plus, une coloration de Perls réalisée en parallèle confirmait l'accumulation de fer intracellulaire au niveau de la lésion et les données élémentaires obtenues par LA-ICP-MS. Pour le zinc, l'augmentation constatée à partir du 7<sup>ième</sup> jour n'était pas significative. Enfin les concentrations en cuivre augmentaient progressivement à J7 avec une augmentation significative à J28 qui pouvait être en relation avec un processus de remyélinisation dépendant du cuivre. L'ensemble des résultats obtenus confirmait la perturbation importante de l'homéostasie de ces trois métaux au cours d'un traumatisme crânien et orientait vers de nouvelles pistes thérapeutiques (chélateur du fer par exemple) pour la prise en charge aiguë de cette pathologie.



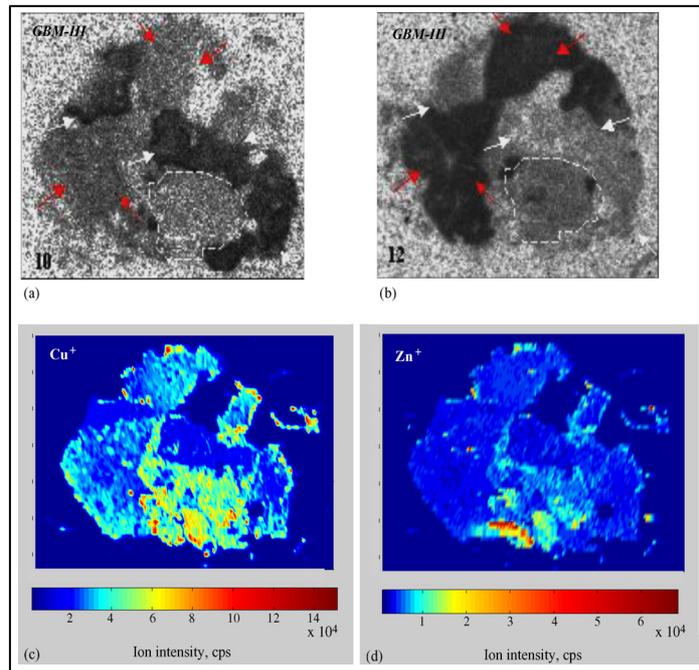
**Figure 15. Distribution du fer, cuivre et zinc sur des coupes de cerveau de souris 24h, 72h, 7j, 14j et 28j post lésion cérébrale.**

*D'après Portbury et al. [71]*

### 3.9 Glioblastome

Le glioblastome multiforme (GBM) est la tumeur primitive du tissu cérébral la plus fréquente. Développé à partir des cellules astrocytaires de la glie, le GBM possède encore aujourd'hui un pronostic sombre malgré les traitements mis en place (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie).

La distribution élémentaire de coupes de GBM a été décrite dans la littérature (72)(73) en particulier les différences de répartition entre la zone tumorale et la zone d'invasion péritumorale. Les limites de ces deux zones étaient déterminées (**Figure 16. [73]**) par autoradiographie à l'aide du marquage du récepteur A1 de l'adénosine ( $A_1AR$ ) fortement exprimé au niveau péritumoral (74) (flèches rouges) et du récepteur aux benzodiazépines (pBR) présent au niveau du tissu tumoral (flèches blanches). L'analyse par LA-ICP-MS (**Figure 16. [73]**) permettait de visualiser les deux zones identifiées par autoradiographie. On observait une modification de la répartition du cuivre et du zinc avec des concentrations inférieures au niveau de la tumeur par rapport à la zone péritumorale notamment au niveau d'une zone identifiée histologiquement comme une zone d'hémorragie intratumorale (ligne pointillée). Cette augmentation des concentrations élémentaires au niveau péritumoral associée à une augmentation de la densité d' $A_1AR$  était en faveur de l'existence de changements complexes en lien avec l'envahissement tumoral. L'hypoxie locale créée par la tumeur pouvait expliquer la surexpression d' $A_1AR$  du fait de son action sur l'angiogenèse. Cette dernière étant médiée par des enzymes contenant du cuivre et du zinc (superoxyde dismutase à cuivre-zinc par exemple), un lien pouvait être établi avec les modifications observées au niveau élémentaire.



**Figure 16. Distribution d' $A_1AR$  (a) et pBR (b) par autoradiographie d'une coupe de glioblastome humain. Cartographie élémentaire du cuivre et du zinc par LA-ICP-MS sur le même échantillon (c et d).**

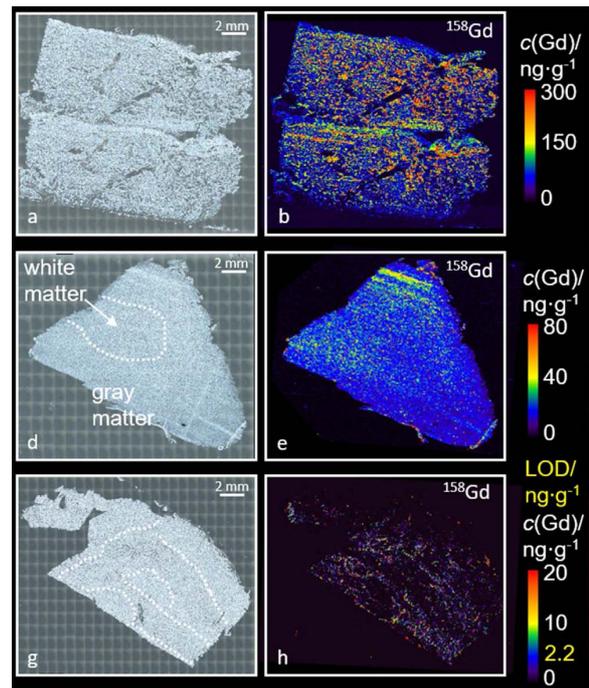
*D'après Zoriy et al. [73]*

### 3.10 Dépôts tissulaires de gadolinium

Le gadolinium est un métal de la famille des lanthanides qui entre dans la composition des agents de contraste utilisés en imagerie par résonance magnétique (IRM). Ces produits de contraste sont normalement éliminés rapidement par voie rénale sans être métabolisés. Cependant, des études récentes ont montré la persistance de traces de gadolinium après injection au cours d'une IRM au niveau du cerveau humain (75). Fingerhut et al. (76) ont analysé par LA-ICP-MS la distribution et la concentration en gadolinium après autopsie du cerveau d'un patient ayant eu un examen d'IRM avec injection de produit de contraste à base de gadolinium (examen réalisé 2 ans avant le décès). Un patient n'ayant pas eu d'IRM injectée servait de contrôle. Bien que deux ans après l'injection, du gadolinium était mis en évidence au niveau des ganglions de la base, du lobe frontal, du pont (**Figure 17. [76]**), du cervelet et du noyau dentelé où la concentration retrouvée chez ce dernier était la plus forte (800ng/g). La limite de détection obtenue était de 2,2 ng/g, une valeur bien inférieure celle de l'IRM. Le gadolinium n'était pas visible ni mesurable sur les coupes de cerveau du patient contrôle. La grande sensibilité de la LA-ICP-MS et le bon niveau de résolution spatiale confirmaient les travaux déjà publiés sur la persistance du gadolinium après injection de produit de contraste.

**Figure 17. Coupes de cerveau après autopsie d'un patient ayant eu une IRM injectée 2 ans avant. Localisations : ganglions de la base (a, b), lobe frontal (d, e) et pont (g, h). Images au microscope (a, d et g) et distributions par LA-ICP-MS (b, e et h) du gadolinium correspondantes.**

*D'après Fingerhut et al. [76]*



## Conclusion

L'ablation laser couplée à l'ICP-MS a connu un développement important dans le domaine de la biologie grâce à sa grande sensibilité et un bon niveau de résolution spatiale. La possibilité d'introduire directement un échantillon solide sans minéralisation préalable a conduit à l'étude de nombreux types de tissus biologiques et en particulier le cerveau. C'est aujourd'hui la technique d'imagerie par spectrométrie de masse de référence pour la cartographie élémentaire des échantillons biologiques. Le rôle des métaux au niveau du système nerveux et leur influence connue ou supposée dans la physiopathologie des maladies neurologiques ont contribué à l'utilisation de la LA-ICP-MS pour l'étude et la compréhension des pathologies neurologiques. Le recours à des modèles murins d'études de pathologies neurologiques est prépondérant dans la littérature par rapport aux échantillons humains. L'application principale de la LA-ICP-MS, la bioimagerie élémentaire, permet de déterminer la distribution spatiale et la quantification d'un élément. On peut ainsi rechercher l'accumulation de multiples éléments au niveau d'une région donnée ou encore comparer la distribution multiélémentaire de tissus pathologiques (tissu tumoral par exemple) par rapport à des tissus sains. Cette technique permet aussi de voir l'effet d'un traitement sur la répartition élémentaire au niveau tissulaire et d'identifier les mécanismes impliqués dans les effets thérapeutiques. L'autre application de la LA-ICP-MS, la détection de protéines par marquage à l'aide d'un anticorps couplé à un élément donné, constitue une alternative intéressante aux colorations immunohistochimiques du fait de sa sensibilité et de son niveau de résolution spatiale. De plus, sa capacité d'analyse multiélémentaire offre la perspective d'études multiplexes pour la détection simultanées de plusieurs protéines par marquage par anticorps. Enfin, l'analyse par LA-ICP-MS peut être associée à la réalisation d'autres techniques d'imagerie par spectrométrie de masse apportant des données complémentaires au niveau protéique ou biomoléculaire et permettant la réalisation d'études métallomiques complètes.

## Références bibliographiques

1. Durrant SF. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: achievements, problems, prospects. *J Anal At Spectrom.* 1999;14(9):1385-403.
2. Cavey T, Ropert M, Loréal O, Bendavid C, Peoc'h K. Metals: common clinical applications in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Ann Biol Clin (Paris).* oct 2019;77(5):495-504.
3. M. Costas-Rodríguez, J. Delanghe, F. Vanhaecke, High-precision isotopic analysis of essential mineral elements in biomedicine: natural isotope ratio variations as potential diagnostic and/or prognostic markers, *Trends Anal. Chem.* 76 (2016) 182e193.
4. Beauchemin D. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal Chem.* juin 2004;76(12):3395-416.
5. Aceto M. 8 - The Use of ICP-MS in Food Traceability. Dans: Espiñeira M, Santaclara FJ, éditeurs. *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies [Internet].* Woodhead Publishing; 2016. p. 137-64. (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition).
6. Moesch C. Utilisation de l'ICP-MS en biologie clinique. *Ann Toxicol Anal.* 2007;19(1):11-21.
7. Wilschefski SC, Baxter MR. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin Biochem Rev.* août 2019;40(3):115-33.
8. Labat L. La préparation des matrices biologiques pour l'analyse des métaux. *Ann Toxicol Anal.* 2010;22(2):81-8.
9. Gray AL. Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma source mass spectrometry. *Analyst* 1985 110: 551-556. 1985;
10. Becker JS. Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in materials science. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc.* déc 2002;57(12):1805-20.
11. Sylvester PJ, Jackson SE. A Brief History of Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS). *Elements.* oct 2016;12(5):307-10.
12. S. Wang, R. Brown, and D. J. Gray, Application of Laser Ablation-ICPMS to the Spatially Resolved Micro-analysis of Biological Tissue, *Appl. Spectrosc.* 48, 1321-1325 (1994).
13. Konz I, Fernández B, Fernández ML, Pereiro R, Sanz-Medel A. Laser ablation ICP-MS for quantitative biomedical applications. *Anal Bioanal Chem.* juin 2012;403(8):2113-25.
14. Susanne Becker J, Lobinski R, Sabine Becker J. Metal imaging in non-denaturing 2D electrophoresis gels by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) for the detection of metalloproteins. *Metallomics.* 2009;1(4):312.

15. Drescher D, Giesen C, Traub H, Panne U, Kneipp J, Jakubowski N. Quantitative Imaging of Gold and Silver Nanoparticles in Single Eukaryotic Cells by Laser Ablation ICP-MS. *Anal Chem.* 20 nov 2012;84(22):9684-8.
16. Becker JS, Jakubowski N. The synergy of elemental and biomolecular mass spectrometry: new analytical strategies in life sciences. *Chem Soc Rev.* 2009;38(7):1969.
17. Becker JS, Zoriy M, Matusch A, Wu B, Salber D, Palm C, et al. Bioimaging of metals by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Mass Spectrom Rev.* 2010;29(1):156-75.
18. Hare DJ, Lee JK, Beavis AD, van Gramberg A, George J, Adlard PA, et al. Three-Dimensional Atlas of Iron, Copper, and Zinc in the Mouse Cerebrum and Brainstem. *Anal Chem.* mai 2012;84(9):3990-7.
19. Weiskirchen S, Kim P, Weiskirchen R. Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Spectrometry: Metal Imaging in Experimental and Clinical Wilson Disease. *Inorganics.* 19 avr 2019;7(4):54.
20. Hare DJ, George JL, Bray L, Volitakis I, Vais A, Ryan TM, et al. The effect of paraformaldehyde fixation and sucrose cryoprotection on metal concentration in murine neurological tissue. *J Anal Spectrom.* 2014;29(3):565-70.
21. Bonta M, Török S, Hegedus B, Döme B, Limbeck A. A comparison of sample preparation strategies for biological tissues and subsequent trace element analysis using LA-ICP-MS. *Anal Bioanal Chem.* mars 2017;409(7):1805-14.
22. Abduriyim A, Kitawaki H. Applications of Laser Ablation—Inductively Coupled Plasma—Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) to Gemology. *Gems Gemol.* 1 juin 2006;42(2):98-118.
23. Weiskirchen S, Kim P, Weiskirchen R. Determination of copper poisoning in Wilson's disease using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Ann Transl Med [Internet].* avr 2019 [cité 20 déc 2019];7(Suppl 2).
24. Ackerman CM, Lee S, Chang CJ. Analytical Methods for Imaging Metals in Biology: From Transition Metal Metabolism to Transition Metal Signaling. *Anal Chem.* 3 janv 2017;89(1):22-41.
25. Van Malderen SJM, Managh AJ, Sharp BL, Vanhaecke F. Recent developments in the design of rapid response cells for laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry and their impact on bioimaging applications. *J Anal At Spectrom.* 2016;31(2):423-39.
26. Becker JS. Imaging of metals in biological tissue by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS): state of the art and future developments. *J Mass Spectrom.* 2013;48(2):255-68.
27. Becker JS, Gorbunoff A, Zoriy M, Izmer A, Kayser M. Evidence of near-field laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (NF-LA-ICP-MS) at nanometre scale for elemental and isotopic analysis on gels and biological samples. *J Anal Spectrom.* 2006;21(1):19-25.

28. Jurowski K, Buszewski B, Piekoszewski W. The analytical calibration in (bio)imaging/mapping of the metallic elements in biological samples – Definitions, nomenclature and strategies: State of the art. *Talanta*. janv 2015;131:273-85.
29. Becker JS, Matusch A, Wu B. Bioimaging mass spectrometry of trace elements – recent advance and applications of LA-ICP-MS: A review. *Anal Chim Acta*. juill 2014;835:1-18.
30. Austin C, Fryer F, Lear J, Bishop D, Hare D, Rawling T, et al. Factors affecting internal standard selection for quantitative elemental bio-imaging of soft tissues by LA-ICP-MS. *J Anal At Spectrom*. 2011;26(7):1494.
31. Russo R. Laser ablation in analytical chemistry—a review. *Talanta*. 24 mai 2002;57(3):425-51.
32. Samek O, Margetic V, Hergenroder R. Sampling of material using femtosecond pulses. *Anal Bioanal Chem*. janv 2005;381(1):54-6.
33. Gonzalez JJ, Fernandez A, Oropeza D, Mao X, Russo RE. Femtosecond laser ablation: Experimental study of the repetition rate influence on inductively coupled plasma mass spectrometry performance. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc*. févr 2008;63(2):277-86.
34. Cicero CE, Mostile G, Vasta R, Rapisarda V, Signorelli SS, Ferrante M, et al. Metals and neurodegenerative diseases. A systematic review. *Environ Res*. nov 2017;159:82-94.
35. Kevin J. Barnham, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov*. mars 2004;3(3):205-14.
36. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *The Lancet*. août 2015;386(9996):896-912.
37. Hare D, Reedy B, Grimm R, Wilkins S, Volitakis I, George JL, et al. Quantitative elemental bio-imaging of Mn, Fe, Cu and Zn in 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism mouse models. *Metallomics*. 2009;1(1):53-8.
38. Sussulini A, Matusch A, Klietz M, Bauer A, Depboylu C, Becker JS. Quantitative imaging of Cu, Fe, Mn and Zn in the L-DOPA-treated unilateral 6-hydroxydopamine Parkinson's disease mouse model by LA-ICP-MS. *Biomed Spectrosc Imaging*. 2012;1(2):125-36.
39. Pall HS, Williams AC, Blake DR, Lunec J, Gutteridge JM, Hall M, et al. Raised cerebrospinal-fluid copper concentration in Parkinson's disease. *Lancet*. 1987 Aug 1;2(8553):238-41.
40. Matusch A, Depboylu C, Palm C, Wu B, Höglinger GU, Schäfer MK-H, et al. Cerebral bioimaging of Cu, Fe, Zn, and Mn in the MPTP mouse model of Parkinson's disease using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *J Am Soc Mass Spectrom*. janv 2010;21(1):161-71.
41. Neumann B, Hösl S, Schwab K, Theuring F, Jakubowski N. Multiplex LA-ICP-MS bio-imaging of brain tissue of a parkinsonian mouse model stained with metal-coded affinity-tagged antibodies and coated with indium-spiked commercial inks as internal standards. *J Neurosci Methods*. mars 2020;334:108591.
42. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *The Lancet*. juill 2016;388(10043):505-17.

43. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*. août 2004;430(7000):631-9.
44. Killin LOJ, Starr JM, Shiue IJ, Russ TC. Environmental risk factors for dementia: a systematic review. *BMC Geriatr*. déc 2016;16(1):175.
45. Hutchinson RW, Cox AG, McLeod CW, Marshall PS, Harper A, Dawson EL, et al. Imaging and spatial distribution of  $\beta$ -amyloid peptide and metal ions in Alzheimer's plaques by laser ablation–inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Anal Biochem*. nov 2005;346(2):225-33.
46. Cruz-Alonso M, Fernandez B, Navarro A, Junceda S, Astudillo A, Pereiro R. Laser ablation ICP-MS for simultaneous quantitative imaging of iron and ferroportin in hippocampus of human brain tissues with Alzheimer's disease. *Talanta*. mai 2019;197:413-21.
47. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet*. mars 2011;377(9769):942-55.
48. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59–62.
49. Williams JR, Trias E, Beilby PR, Lopez NI, Labut EM, Bradford CS et al. Copper delivery to the CNS by CuATSM effectively treats motor neuron disease in SODG93A mice co-expressing the Copper-Chaperone-for-SOD. *Neurobiology of Disease*. 2016 May 1;89:1-9.
50. Hilton JB, White AR, Crouch PJ. Endogenous Cu in the central nervous system fails to satiate the elevated requirement for Cu in a mutant SOD1 mouse model of ALS. *Metallomics*. 2016;8(9):1002-11.
51. Kysenius K, Hilton JB, Paul B, Hare DJ, Crouch PJ. Anatomical redistribution of endogenous copper in embryonic mice overexpressing SOD1. *Metallomics*. 2019;11(1):141-50.
52. Figueroa-Romero C, Mikhail KA, Gennings C, Curtin P, Bello GA, Botero TM, et al. Early life metal dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol*. juin 2020;7(6):872-82.
53. Menkes JH. Menkes disease and Wilson disease: two sides of the same copper coin Part II: Wilson disease. *Eur J Paediatr Neurol*. janv 1999;3(6):245-53.
54. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, et al. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the 10. Menkes gene. *Nat Genet*. 1993; 5: 327–37.
55. Sasaki N, Hayashizaki Y, Muramatsu M, Matsuda Y, Ando Y, Kuramoto T The gene responsible for LEC hepatitis, located on rat chromosome 16, is the homolog to the human wilson disease gene. *Biochemical and biophysical research communications*. 1994 7 15;202(1):512-518.
56. Boaru SG, Merle U, Uerlings R, Zimmermann A, Weiskirchen S, Matusch A, et al. Simultaneous monitoring of cerebral metal accumulation in an experimental model of Wilson's disease by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *BMC Neurosci [Internet]*. 20 août 2014 [cité 30 déc 2019];15.

57. Moreno D, Murillo O, Gazquez C, Hernandez-Alcoceba R, Uerlings R, Gonzalez-Asequinolaza G, et al. Visualization of the therapeutic efficacy of a gene correction approach in Wilson's disease by laser-ablation inductively coupled mass spectrometry. *J Hepatol.* mai 2018;68(5):1088-90.
58. Uerlings R, Moreno D, Murillo O, Gazquez C, Hernández-Alcoceba R, González-Asequinolaza G, et al. Brain copper storage after genetic long-term correction in a mouse model of Wilson disease. *Neurol Genet [Internet].* 18 mai 2018 [cité 25 mai 2020];4(3).
59. de Bie P, Muller P, Wijmenga C, Klomp LWJ. Molecular pathogenesis of Wilson and Menkes disease: correlation of mutations with molecular defects and disease phenotypes. *J Med Genet.* 23 août 2007;44(11):673-88.
60. Camakaris J, Petris MJ, Bailey L et al: Gene amplification of the Menkes (MNK; ATP7A) P-type ATPase gene of CHO cells is associated with copper resistance and enhanced copper efflux. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 2117–2123.
61. Ackerman CM, Weber PK, Xiao T, Thai B, Kuo TJ, Zhang E, et al. Multimodal LA-ICP-MS and nanoSIMS imaging enables copper mapping within photoreceptor megamitochondria in a zebrafish model of Menkes disease. *Metallomics.* 2018;10(3):474-85.
62. Becker JS, Dobrowolska J, Zoriy M, Matusch A. Imaging of uranium on rat brain sections using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: a new tool for the study of critical substructures affined to heavy metals in tissues. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008;22(18):2768-72.
63. Dobrowolska J, Dehnhardt M, Matusch A, Zoriy M, Palomero-Gallagher N, Koscielniak P, et al. Quantitative imaging of zinc, copper and lead in three distinct regions of the human brain by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta.* 15 janv 2008;74(4):717-23.
64. Togao M, Nakayama SMM, Ikenaka Y, Mizukawa H, Makino Y, Kubota A, et al. Bioimaging of Pb and STIM1 in mice liver, kidney and brain using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) and immunohistochemistry. *Chemosphere.* janv 2020;238:124581.
65. Bohic S, Ghersi-Egea J-F, Gibon J, Paoletti P, Arnaud J, Hunot S, et al. Rôles biologiques des éléments traces dans le cerveau – exemples du Zn et du Fe. *Rev Neurol (Paris).* avr 2011;167(4):269-79.
66. O. Gronli, J. M. Kvamme, O. Friborg and R. Wynn, Zinc deficiency is common in several psychiatric disorders, *PLoS One*, 2013, 8, e82793.
67. Sela H, Cohen H, Karpas Z, Zeiri Y. Distinctive hippocampal zinc distribution patterns following stress exposure in an animal model of PTSD. *Metallomics.* 2017;9(3):323-33.
68. Wright RO, Baccarelli A. Metals and Neurotoxicology. *J Nutr.* 1 déc 2007;137(12):2809-13.
69. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol.* 2008;7(8):728-741. doi:10.1016/S1474-4422(08)70164-9.

70. Belatar B, Elabidi A, Barkiyou M, El Faroudi M, Eljaoudi R, Lahlou L, et al. The Influence of Heavy Metals and Trace Elements on Comatose Patients with Severe Traumatic Brain Injury in the First Week of Admission. *J Toxicol.* 17 sept 2018;2018:1-6.
71. Portbury SD, Hare DJ, Sgambelloni C, Finkelstein DI, Adlard PA. A time-course analysis of changes in cerebral metal levels following a controlled cortical impact. *Metallomics.* 2016;8(2):193-200.
72. Dehnhardt M, Zoriy MV, Khan Z, Reifenberger G, Ekström TJ, Sabine Becker J, et al. Element distribution is altered in a zone surrounding human glioblastoma multiforme. *J Trace Elem Med Biol.* mars 2008;22(1):17-23.
73. Zoriy MV, Dehnhardt M, Reifenberger G, Zilles K, Becker JS. Imaging of Cu, Zn, Pb and U in human brain tumor resections by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom.* nov 2006;257(1-3):27-33.
74. Bauer A, Langen KJ, Bidmon HJ, Holschbach MH, Weber S, Olson RA, et al. 18F-cyclopentyl-3(3-18F-fluoropropyl)-1-propyl xanthine PET identifies changes in cerebral A1 adenosine receptor density caused by glioma invasion. *J Nucl Med* 2005;46:450–4.
75. R.J. McDonald, J.S. McDonald, D.F. Kallmes, M.E. Jentoft, D.L. Murray, K.R. Thielen, E.E. Williamson, L.J. Eckel, Intracranial gadolinium deposition after contrast-enhanced MR imaging, *Radiology* 275 (3) (2015) 772–782.
76. Fingerhut S, Niehoff A-C, Sperling M, Jeibmann A, Paulus W, Niederstadt T, et al. Spatially resolved quantification of gadolinium deposited in the brain of a patient treated with gadolinium-based contrast agents. *J Trace Elem Med Biol.* janv 2018;45:125-30.

## Glossaire

6-OHDA	6-hydroxydopamine	6-hydroxydopamine
A <sub>1</sub> AR	Adenosine A <sub>1</sub> receptor	Récepteur A1 de l'adénosine
CCD	Charge-coupled device	Dispositif à transfert de charges
GFAP	Glial fibrillary acidic protein	Protéine acide fibrillaire gliale
ICP	Inductively Coupled Plasma	Plasma à couplage inductif
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry	Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyphenylalanine	L-3,4-dihydroxyphenylalanine
LA-ICP-MS	Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry	Ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation	Amplification de la lumière par émission stimulée de radiations
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption	Désorption-ionisation laser assistée par matrice
MPTP	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
Nd-YAG	Neodymium-doped yttrium aluminium garnet	Grenat d'yttrium-aluminium dopé au néodyme Nd
NeuN	Neuronal nuclear protein	Antigène nucléaire neuronal
pBR	Peripheral benzodiazepine receptor	Récepteur périphérique des benzodiazépines
SOD1	Superoxide dismutase 1	Superoxyde dismutase 1

**POLARD, Maxime .- Apport de la méthode ICP-MS couplée à l'ablation laser pour l'étude des pathologies neurologiques.**

43 feuilles., 17 illustrations., 30 cm.- Thèse : (Médecine) ; Rennes 1; 2020 ; N°

**Résumé français**

L'ablation laser couplée à l'ICP-MS (LA-ICP-MS) est une technique d'imagerie multiélémentaire par spectrométrie de masse reposant sur la combinaison entre un système d'ablation laser et un ICP-MS. L'ablation laser permet l'introduction directe d'un échantillon solide dans la torche ICP sans processus de minéralisation préalable. La grande sensibilité et le bon niveau de résolution spatiale de la LA-ICP-MS ont contribué à son développement et à son utilisation pour l'analyse des tissus biologiques humains ou animaux, en particulier le cerveau. En effet, certains éléments dont des métaux sont décrits comme ayant un rôle démontré ou suspecté dans le développement de pathologies neurologiques (Alzheimer, Parkinson, etc.). Cette technologie de bioimagerie par spectrométrie de masse permet l'étude de la distribution spatiale d'une multitude d'éléments à la surface d'une coupe d'échantillon ainsi que de déterminer la répartition d'une protéine par marquage par anticorps couplé à un élément donné. Des mesures quantitatives peuvent être réalisées mais représentent une des difficultés de l'analyse par LA-ICP-MS. Ces données sur la distribution élémentaire de tissus sains ou pathologiques présentent donc un intérêt pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques en jeu dans diverses pathologies neurologiques (maladies neurodégénératives, tumeurs cérébrales, etc.), la recherche de nouvelles voies thérapeutiques, l'étude de l'effet d'un traitement au niveau élémentaire, etc. L'analyse élémentaire peut être complétée par des analyses biomoléculaires afin d'établir des études approfondies au niveau métallomique. Cette revue présente d'abord les aspects méthodologiques et techniques de l'analyse par LA-ICP-MS avant d'exposer des applications de cette technologie parmi les plus récentes dans le cadre de l'étude de certaines pathologies neurologiques.

Rubrique de classement : Biochimie

Mots-clés

LA-ICP-MS  
Cerveau  
Bioimagerie par spectrométrie de masse  
Métaux

Mots-clés anglais MeSH :

LA-ICP-MS  
Brain  
Mass spectrometry Bioimaging  
Metals

Président : Monsieur Claude BENDAVID

JURY : Assesseurs : Madame Martine ROPERT-BOUCHET [directeur de thèse]  
Monsieur Yves GANDON  
Madame Isabelle MOREL  
Monsieur Bruno TURLIN  
Monsieur Pierre-Jean LE RESTE  
Monsieur Olivier LOREAL