
Imagerie dynamique, multiphotonique et multimodale de la réponse immunitaire pulmonaire chez la souris.

Daniel Fiole^{*1,2}, Pierre Deman³, and Jean-Nicolas Tournier^{2,3,4}

¹Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) – Ministère de la Défense – France

²Institut Pasteur – Institut Pasteur de Paris – France

³Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) – N – 24 avenue des maquis du Grésivaudan
38702 La Tronche cedex, France

⁴Ecole du Val de Grâce (EVDG) – Service de Santé des Armées – 1 place Alphonse Laveran 75230 Paris
cedex 05, France

Résumé

De par sa fonction d'organe dédié aux échanges gazeux, le poumon présente une interface considérable entre l'organisme et l'environnement extérieur, et est constamment exposé à des antigènes exogènes. Le système immunitaire associé à la muqueuse pulmonaire repose par conséquent sur une subtile balance entre inflammation et tolérance, dont les mécanismes à l'homéostasie et en situation pathologique sont loin d'être parfaitement compris. Cependant, l'étude de la dynamique de la réponse immunitaire pulmonaire à l'échelle microscopique souffre des difficultés liées à l'imagerie d'un organe dont la fonction impose un continu mouvement. Nous proposons ici un protocole permettant l'imagerie dynamique *ex vivo* à haute résolution du système immunitaire pulmonaire soumis à une agression d'origine biologique. Les poumons sont prélevés après euthanasie de l'animal et maintenu plusieurs heures dans des conditions favorables au maintien de la dynamique cellulaire. Ce protocole repose sur plusieurs modalités d'imagerie, dont la microscopie par excitation de fluorescence à deux photons (microscopie biphotonique) et la génération d'harmoniques optiques. Nous présenterons différentes méthodes de marquage des populations immunitaires principales (macrophages, monocytes, neutrophiles, cellules dendritiques) détectables simultanément, en plus des informations structurales issues de la génération d'harmoniques, dans un contexte d'infection pulmonaire par des spores de *Bacillus anthracis*, l'agent responsable de la maladie du charbon.

Mots-Clés: microscopie biphotonique, poumon, infection, dynamique, immunologie

*Intervenant