

La mucopolysaccharidose (MPS), une maladie génétique lysosomale

La matrice extracellulaire des métazoaires contient de gros polymères glucidiques, les GAG (pour glycosaminoglycanes) qui ont un rôle dans le maintien et la protection des tissus.

Les GAG se dénaturent avec le temps et sont éliminés par les fibroblastes qui les ingèrent et les détruisent grâce à leurs lysosomes. Ces mêmes fibroblastes produisent de nouveaux GAG, assurant ainsi le renouvellement de la matrice.

La maladie appelée MPS (pour MucoPolySaccharidose) est une maladie génétique rare : il s'agit d'une déficience en l'**enzyme lysosomale qui hydrolyse les GAG**. Non recyclés, les GAG s'accumulent dans les cellules et les tissus, engendrant le dysfonctionnement des organes, notamment le foie, les yeux ou le squelette.

Deux études permettent de mieux comprendre la maladie.

1) Approche par microscopie à épifluorescence

Des fibroblastes sont prélevés chez des individus sains (témoin) et atteints de la maladie MPS. Mis en culture, ils sont ensuite analysés à l'aide de techniques de microscopie à épifluorescence.

Deux fluorochromes sont utilisés simultanément :

- le LysoTracker est un composé fluorescent lipophile et de petite taille, qui s'insinue dans toute la cellule mais ne fluoresce qu'en milieu acide. Excité à une longueur d'onde de 577 nm, il émet des radiations rouges de 590 nm.
- le DAPI est un marqueur fluorescent qui se fixe à l'ADN et émet des radiations bleues (465 nm) s'il est excité à 350 nm.

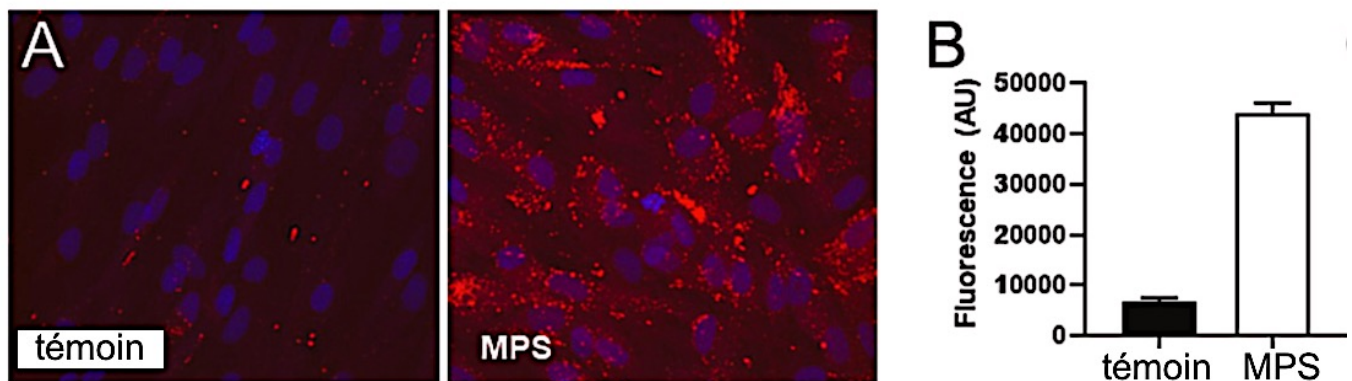


Figure 1 – A) Clichés superposés (merge) de microscopie à épifluorescence utilisant le LysoTracker et le DAPI. Un champ de la culture de fibroblastes est visible ici.

B) Quantification de la fluorescence du LysoTracker dans la totalité de la culture de fibroblastes sains ou atteints de MPS (AU = unité arbitraire).

(source : Pascale Tuyaa-Boustugue et al., *Cell Reports Medicine*, 2023)

Question 1 – Quelle est ici l'utilité du marquage au DAPI ?

Question 2 – Justifiez l'emploi du LysoTracker pour détecter en particulier les lysosomes de la cellule.

Question 3 – Analysez les résultats. Proposez 2 hypothèses expliquant l'augmentation de fluorescence des MPS.

2) Approche par cytométrie 2D

L'équipe italienne de Giusy Giugliano et Michela Schiavo a utilisé une autre méthode, de meilleure résolution, afin de préciser les caractéristiques des lysosomes dans un échantillon de $2 \cdot 10^5$ fibroblastes. Leurs résultats sont donnés ci-dessous.

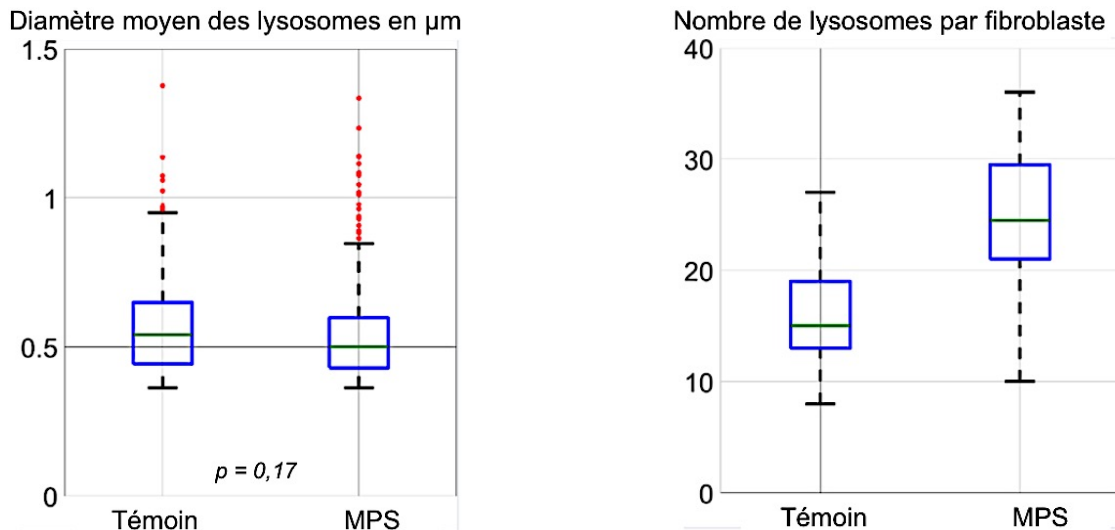


Figure 2 – Analyse statistique des caractéristiques des lysosomes présents dans des fibroblastes de personnes saines (témoin) ou atteintes de la maladie (MPS).

La valeur de p indiquée est celle obtenue par un test de Student.

Source : Giusy Giugliano et al, *Cytometry*, 2024

Question 4 – Analysez et interprétez rigoureusement les résultats.

Question 5 – Indiquez si ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec le Lysotracker.