



HAL
open science

Marqueurs protéiques des troubles neurocognitifs dégénératifs: des maladies à Prions aux autres protéinopathies

Isabelle Quadrio

► **To cite this version:**

Isabelle Quadrio. Marqueurs protéiques des troubles neurocognitifs dégénératifs: des maladies à Prions aux autres protéinopathies. Biochimie, Biologie Moléculaire. Université Claude Bernard Lyon 1, 2020. tel-04801856

HAL Id: tel-04801856

<https://hal.science/tel-04801856v1>

Submitted on 30 Jan 2025

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.

Mémoire
présenté devant l'université Claude Bernard Lyon 1
pour l'obtention du diplôme
d'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)
de l'Université de Lyon

arrêté du 23 novembre 1988

Soutenu publiquement le 30/01/2020 par

Isabelle QUADRIO

**Marqueurs protéiques des troubles neurocognitifs
dégénératifs: des maladies à Prions aux autres
protéinopathies**

Devant le jury composé de :

Rapporteurs

M. Frédéric Blanc – PU-PH ; Université de Strasbourg

Mme Catherine Malaplate – MCU-PH HDR ; Université de Lorraine

M. Vincent Sapin – PU-PH ; Université de Clermont-Ferrand

Examineurs

Mme Edith Bigot-Corbel, MCU-PH HDR, Université de Nantes

Mme Virginie Desestret, MCU-PH HDR, Université Claude Bernard Lyon 1

M. Luc Zimmer, PU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1

Per me si va ne la città dolente,
per me si va ne l'eterno dolore,
per me si va tra la perduta gente
Giustizia mosse il mio alto fattore;
fecemi la divina podestate,
la somma sapienza e 'l primo amore
Dinanzi a me non fuor cose create
se non etterne, e io etterna duro.
Lasciate ogne speranza, voi ch'intrate'

*[Par moi l'on va dans la cité dolente,
Par moi l'on va dans l'éternelle douleur,
Par moi l'on va parmi la gent perdue,
La justice inspira mon sublime artisan ;
La divine puissance m'a faite,
Et la Sagesse suprême et le premier Amour.
Avant moi il ne fut rien créé
Sinon d'éternel, et moi je jure éternellement.
Vous qui entrez laissez toute espérance.]*

La Divine Comédie, L'enfer - chant III

Dante

[Trad. Alexandre Masseron, Ed. Albin Michel ; 1960]

Roland est fou et Olivier est sage
Mais tous les deux d'un terrible courage
Et dès qu'ils sont à cheval et en armes
La mort plutôt que d'esquiver bataille
[...]
Et Othon frappe un païen Estrugans
Sur son écu en haut sur le côté
Lui fait sauter le vermeil et le blanc
De son haubert lui déchire les pans
Dans le corps plonge son bon épieu tranchant
Il l'abat mort de son cheval courant
Et il lui dit : Pour toi fin de partie
[...]
La bataille est merveilleuse et totale
[...]
La bataille est merveilleuse et urgente
[...]
La bataille est merveilleuse et puissante
Rien de si fort avant et depuis lors

Chanson de Roland, Laisses 87 ; 101 ; 104 ; 126 ; 230
Trad. Frédéric Boyer, Rappeler Roland, Ed. P.O.L 2013

Ecco.

Remerciements

Je voudrais sincèrement remercier mes rapporteurs, qui ont tous accepté avec enthousiasme et beaucoup d'amabilité d'évaluer ce mémoire, que cela puisse être la base de collaborations futures. Je voudrais également remercier très sincèrement les autres membres du jury, car sans être rapporteurs de ce mémoire, votre avis et votre présence n'en est pas moins importante pour moi. Vraiment merci.

Avec un peu de recul, ce mémoire est presque un travail introspectif et il reflète les rencontres que j'ai pu faire au cours de mon parcours professionnel. Je voudrais alors chaleureusement remercier les personnes que j'ai rencontrées, et sans qui rien de tout cela n'aurait été possible...

Je pense évidemment à toute l'équipe de Neurochimie, past & present comme disent nos amis british, des débuts dans les sous-sols de Neuro à la magnifique vue sur le périph' que nous avons maintenant (et encore, on n'est pas au 5^{ème} ...) ! Vous être tous formidables, et c'est un vrai plaisir d'être responsable aujourd'hui de cette UF et de travailler avec vous! Mais Neuro c'était aussi les lipides et le labo d'urgence, la convivialité des repas, les attaques de Lanterne et bien sûr les fêtes en sous-sol avec spots et boule à facette : c'est moins le reflet de mon parcours scientifique, mais c'est tout aussi important pour moi, alors merci à vous tous...

Et depuis il y a le CBE, les fêtes déguisées du PTPP qui me permettent maintenant d'avoir des nouvelles régulières dans ma boîte mail « d'Amélie de Deguisetoi.fr »... A toute l'équipe, merci ! Ma rencontre aussi avec l'équipe de Neurogénétique, c'est également un plaisir de travailler avec vous, et ça ne fait que commencer ! Le CBE, c'est aussi le 4^{ème} étage, autoproclamé étage le plus cool et sympa du bâtiment, alors merci à tous ceux qui y squattent, qui en font ce qu'il est, et aussi à tous ceux des autres étages qui nous rendent visite car on n'est pas exclusif : longue vie aux apéros du 4^{ème} !

Merci également à toute l'équipe BIORAN, bien partie dans la compétition pour la coupe de champion de l'apéro, et aux cliniciens de Lyon, de Grenoble et d'ailleurs...

Je voudrais finir sur le meilleur... Merci au MolkkyLab et... #TeamPringles !!

Résumé

Les troubles neurocognitifs (TNC) dégénératifs sont des maladies caractérisées par une altération cognitive progressive, allant du stade précoce jusqu'au stade le plus tardif et la perte d'autonomie. Ils partagent comme caractéristiques communes une perte neuronale et une accumulation de différentes protéines agrégées au niveau du système nerveux central : on parle alors de « protéinopathies ». Le diagnostic définitif de ces maladies repose sur l'étude neuropathologique des lésions cérébrales et de la caractérisation des protéines associées à ces lésions ; lésions qui sont de plus très souvent multiples chez un même individu. Sur le plan clinique, les TNC dégénératifs regroupent des maladies aussi diverses que la maladie d'Alzheimer, la Démence à Corps de Lewy (DCL), les Dégénérescences Lobaires Fronto-temporales (DLFT) ou les maladies à Prions. Les protéines associées sont respectivement les protéines Tau et les peptides amyloïdes, l'a-synucléine, la protéine TDP43 et la protéine Tau pour les DLFT et la protéine prion (PrP). Notre travail de recherche a été tout d'abord focalisé sur le développement de méthodes très sensibles et spécifiques d'identification de la PrP afin de décrire sa localisation tissulaire, d'envisager sa détection dans les fluides biologiques et d'étudier le caractère de transmission de différentes souches animales à l'homme. Sur la base de notre expérience dans les maladies à Prions, nous avons poursuivi notre travail par l'étude des profils moléculaires de la protéine TDP43, qui présente un comportement *prion-like*, dans différents tissus et éléments figurés du sang. Le développement des méthodes d'identification des principaux variants génétiques retrouvés dans les DLFT a également été mené. Les perspectives qui s'ouvrent sont maintenant de caractériser ces variants génétiques de façon plus précise et sur le plan protéique de développer des techniques spécifiques d'amplification et de caractérisation de ces protéines pour décrire plus finement les souches. Cela nous permettra de réaliser des corrélations entre les phénotypes cliniques et les souches protéiques, en association aux anomalies génétiques quand cela est pertinent.

Table des matières

I.	Curriculum vitae	5
1.	Etat civil	5
2.	Parcours résumé.....	5
3.	Coordonnées professionnelles.....	5
a)	<i>Hospitalières</i>	5
b)	<i>Unité de recherche contractualisée de rattachement</i>	5
4.	Situation actuelle.....	6
5.	Cursus et Titres Universitaires.....	6
6.	Parcours Professionnel Hospitalier	7
7.	Activités d'enseignement	7
8.	Activités d'encadrement	8
a)	<i>Mémoire de DES et thèses d'exercice de Pharmacie (direction)</i>	8
b)	<i>Thèses de doctorat</i>	9
c)	<i>Direction de Master 2</i>	9
d)	<i>Autres activités d'encadrement</i>	9
9.	Activités d'expertise et de participation aux sociétés savantes.....	9
10.	Publications et communications	10
a)	<i>Revue internationale à comité de lecture</i>	10
b)	<i>Revue nationale à comité de lecture</i>	15
c)	<i>Principales communications affichées</i>	15
d)	<i>Chapitres de livre</i>	16
e)	<i>Communications orales en anglais</i>	17
f)	<i>Principales communications orales en français</i>	17
11.	Contrats de recherche et financements.....	19
II.	Parcours et motivations pour présenter l'HDR	20
III.	Contexte général et travaux antérieurs	25

1.	Protéinopathies, souches et propagation « prion-like »	25
2.	Marqueurs protéiques des maladies à Prions.....	30
	a) Marqueurs biologiques indirects des maladies à Prions dans le LCS.....	30
	b) Détecter la PrP dans le LCS.....	32
	c) Détecter la PrPsc dans des tissus périphériques.....	35
	d) Etude de transmission des souches animales et humaines.....	37
3.	Les marqueurs biologiques de la Maladie d'Alzheimer	38
	a) Les marqueurs sont le reflet des lésions neuropathologiques.....	38
	b) La problématique préanalytique	39
4.	L'étude des associations de lésions neuropathologiques cérébrales	40
5.	Identifier des marqueurs des DLFT-TDP43.....	41
	a) Caractériser les variants génétiques liés aux DFLT - TDP43	41
	b) Marqueurs biologiques du LCS dans le diagnostic des DLFT	43
	➤ Les biomarqueurs de la MA.....	43
	➤ Les chaînes légères de neurofilaments (NfL).....	43
	➤ La protéine TDP43 totale.....	44
	c) Profils protéiques de la TDP43 pour la caractérisation des DLFT-TDP	45
IV.	Projets actuels et perspectives.....	47
	1. Améliorer le diagnostic différentiel des TNC dégénératifs : la problématique des troubles psycho-comportementaux	47
	2. Caractériser les profils moléculaires des protéines agrégées TDP43 et Tau.....	48
	3. Caractériser les expansions <i>C9ORF72</i>	49
	4. Caractériser les souches de protéines pathologiques grâce à leurs caractéristiques <i>prion-like</i> 50	
	5. Conclusions.....	52
V.	Sélection d'articles illustrant mon parcours.....	53
	1. Streptomycine et caractérisation des souches de PrPsc.....	53
	2. Lésions neuropathologiques dans les formes génétiques E200K de MCJ.....	62

3.	Profil des biomarqueurs du LCS dans une présentation focale de MA.....	82
4.	Nature des tubes et variations des dosages de biomarqueurs dans le LCS.....	90
5.	Nouvelle technologie pour la détection de la P14-3-3 dans le LCS.....	98
6.	Détection de la PrP dans le LCS pour le diagnostic différentiel des MCJ.....	108
7.	Dosage des protéines C9orf72 dans les DLFT génétiques.....	118
8.	Identification d'un profil de TDP43 dans les plaquettes.....	125
VI.	Références.....	135

Liste des abréviations

A-Syn :alpha-synucléine
DCL : démence à Corps de Lewy
DLFT : dégénérescences lobaires fronto-temporales
ELISA : Enzyme Linked Immuno Assay
ESB : encéphalopathie spongiforme bovine
L-BSE : souche atypique d'ESB de type « L »
LCS : liquide cébrospinal
MA : Maladie d'Alzheimer
MCJ : maladie de Creutzfeldt-Jakob
PrPc : protéine prion cellulaire / PrPsc : protéine prion pathologique / PrPres : protéine prion pathologique résistante à la protéinase K
PMCA : Protein Misfolding Cyclic Amplification
PSP : paralysie supranucléaire progressive
RT-QuIC: Real-Time Quacking Induced Conversion
SCB : syndrome cortico-basal
SLA: sclérose latérale amyotrophique
TDP43 : transactive response DNA binding protein 43 kDa
TNC : trouble neurocognitif

Liste des figures

Fig 1 : Classification moléculaire des protéinopathies selon la nature de la protéine et sa localisation intra ou extra-cellulairep. 26

Fig 2 : Diversité moléculaire de la protéine Prion pathologique dans le tissu cérébral humain de patients atteints de différentes formes de maladies à Prions.....p. 27

Fig.3 : Profil par RT-QuIC de différentes souches de PrPsc.....p. 29

Fig. 4 : Fig 4 : Principe de l'essai basé sur la séparation par la taille des protéines (Simple Western®).....p 31

Fig. 5 : Concentration en PrP dans le LCS de patients atteints de TNC dégénératifs.....p. 33

Fi.6 : Profil de TDP43 dans différents milieux plaquettaires et dans un surnageant de culture cellulaire productrice de TDP43 agrégée.....p. 46

I. Curriculum vitae

1. Etat civil

Isabelle QUADRIO

Née le 5 juillet 1977

Nationalité française

Téléphone : 06 81 09 37 99

Numéro RPPS : 10001827483

Adresse personnelle :

13 rue d'Algérie

69001 Lyon

Courriel : isaguardio@yahoo.fr

N° ordinal: 127099 G (Ordre Des Pharmaciens)

2. Parcours résumé

Etudes de **Pharmacie** – ISPB Lyon (1996-2000)

Internat de Pharmacie Spécialisée (2001-2005) et **DES de Pharmacie Spécialisée** (2005)

DEA d'ingénierie médicale et Biologique (2004)

Assistant Spécialiste des Hôpitaux (2005 - 2008)

DU Expérimentation animale (niveau 1) (2005)

Thèse de Doctorat Spécialité Neurosciences Médicales (2008)

DIU Psychopathologie des affections neurologiques (2010)

Praticien Attaché - Biologie Médicale, spécialité Biochimie et Biologie Moléculaire (2008-2011)

Praticien Hospitalier - Biologie Médicale, spécialité Biochimie et Biologie Moléculaire (2011)

3. Coordonnées professionnelles

a) Hospitalières

Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est - Centre de Biologie et Pathologie Est

Groupement Hospitalier Est – Hospices Civils de Lyon

59 boulevard Pinel 69677 Bron Cedex

Téléphone : 04 72 35 76 81

Courriel : isabelle.quadrio@chu-lyon.fr

b) Unité de recherche contractualisée de rattachement

Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon

Equipe BIORAN – Biomarqueurs radiopharmaceutiques et neurochimiques (Pr Luc Zimmer)

Inserm U1028 - CNRS UMR5292 - Université Claude Bernard Lyon 1

CH Le Vinatier - Bâtiment 452 - 95 bd Pinel 69675 Bron Cedex

4. Situation actuelle

Pharmacien Biologiste, **Praticien Hospitalier** en Biologie Médicale, spécialité Biochimie et Biologie Moléculaire aux Hospices Civils de Lyon depuis septembre 2011, dans le Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est (GHE – HCL).

Responsable de l'Unité Fonctionnelle « Pathologies Neurodégénératives » (UF 34426)

5. Coursus et Titres Universitaires

- 2010** **Diplôme Inter-Universitaire (DIU) Psychopathologie et Affections Neurologiques**
Universités Paris 6 (UPMC) et Paris 8 (Vincennes - St Denis)
- 2008** **Diplôme de Doctorat d'Université, spécialité Neurosciences Médicales**
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences et Santé (EDISS, ED 205). Université C. Bernard Lyon 1. « « Nouveaux développements technologiques et moléculaires pour le diagnostic des maladies à prions du vivant du patient » (Dir. Hervé Perron).
Collaboration BioMérieux - Hospices Civils de Lyon pour le développement d'un test diagnostique de certitude du vivant du patient pour les maladies à prions.
- 2005** **Diplôme d'Université (DU) Formation à l'expérimentation animale de niveau 1 :**
Modèle animaux pour la recherche biologique et médicale et technologie d'animalerie. Université C. Bernard Lyon 1 / Ecole Normale Supérieure de Lyon
- 2005** **Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université C. Bernard Lyon 1**
Diplôme d'Etudes Spécialisées de Pharmacie Spécialisée
Université C. Bernard Lyon 1
- 2003** **Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) Ingénierie Médicale et Biologique**
Université C. Bernard Lyon 1
- 1996 - 2000** **Faculté de Pharmacie de Lyon – ISPB**
- 1995** **Baccalauréat Série S** spécialité Mathématiques, mention Bien
Lycée des Glières, Annemasse, Haute-Savoie

6. Parcours Professionnel Hospitalier

Depuis 09/2011	Praticien Hospitalier - Biologiste des Hôpitaux (Biochimie et Biologie Moléculaire) - Hospices Civils de Lyon Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est (Dr A. Perret-Liaudet) Responsable de l'UF « Pathologies Neurodégénératives » : diagnostic biologique des maladies à Prions (1400 patients/an), caractérisation de la protéine Prion pathologique cérébrale (25 patients/an, local L3 dédié); diagnostic des maladies d'Alzheimer et maladies apparentées (2800 patients/an). Diagnostics moléculaires associés (Prions, Dégénérescences Lobaires FrontoTemporales) et de la maladie de Huntington (100 patients/an).
2009	Autorisation ministérielle à exercer les fonctions de directeur ou directeur adjoint de laboratoire d'analyses de biologie médicale (JORF du 23/06/2009)
07/2008 – 08/2011	Praticien Attaché Service de Neurobiologie (Pr B. Renaud) - Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon
04/2005 – 06/2008	Assistant Spécialiste Fédération de Biologie (Pr B Renaud) - Hôpital Neurologique, puis Laboratoire de Neurobiologie (Pr B. Renaud) – Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon
11/2004 – 03/2005	5ème année d'Internat de Pharmacie - Biologie au titre de la Médaille d'Or des Hospices Civils de Lyon (HCL) Fédération de Biologie (Pr B Renaud) - Hôpital Neurologique - HCL
2001 – 2004	Interne en Pharmacie , filière Pharmacie Spécialisée Inter-région Rhône Alpes

7. Activités d'enseignement

Depuis 2016	Enseignant vacataire dans l'UE « Traceurs, Imagerie Moléculaire Et Fonctionnelle » (Pr L Zimmer), Département de Biologie Humaine, UCBL. Cours de 2h : « marqueurs biochimiques des pathologies neurodégénératives » Enseignant vacataire dans l'U.E « Hygiène Hospitalière – Stérilisation » (Dr F. Rochefort), DES de Pharmacie Hospitalière, ISPB
--------------------	--

Cours de 2h : « Agents Transmissibles Non Conventionnels : étude du pouvoir inactivant et PSP »

- 2014** **Enseignant vacataire de l'Université Lyon 1 – Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon** (Polytech Lyon) – Campus de La Doua
Enseignement en M2 « Ingénierie du dispositif médical » (8h/an)
- 2007 / 2008** **Enseignement de sémiologie biochimique PCEM 2**
Faculté de Médecine Lyon Sud – Université C. Bernard Lyon 1 – 6h
- 2003** **Cours de biochimie – physiopathologie** – Institut de Formation des Techniciens d'Analyses de Biologie (IFTAB) – Univ. Catholique de Lyon – 4h

8. Activités d'encadrement

a) Mémoire de DES et thèses d'exercice de Pharmacie (direction)

- 2019** Mémoire de **DES de Biologie Médicale** de Flora Kaczorowski « Détermination d'une valeur de référence du ratio néoptérine/ créatinine LCR : évaluation des performances diagnostiques et intérêt en pratique biologique ». UCB Lyon 1; Soutenu le 04/10/2019.
- 2017** Mémoire pour le **Doctorat d'Etat en Pharmacie** d'Edouard Thévenet (filière industrie): « Diagnostic différentiel entre les encéphalites auto-immunes et les maladies de Creutzfeldt-Jakob : apport du dosage de la protéine prion dans le LCR ». UCB Lyon 1 ; Soutenu le 18/12/2017.
- 2016** Mémoire de **DES d'Innovation Pharmaceutique et Recherche** de Chloé Bost : « Encéphalites à anticorps anti-récepteur N-Methyl-D-Aspartate : description de la cohorte française ». UCB Lyon 1 ; Soutenu le 07/12/2016.
- 2010** Mémoire pour le **Doctorat d'Etat en Pharmacie** de Floriane Pinel (filière industrie) : « Détection de la protéine prion pathologique à partir de nerf humain pour un diagnostic précoce de la maladie de Creutzfeldt-Jakob : Intérêts et limites de la trousse commerciale TeSeE™ Sheep/goat Western-Blot BioRad® ». UCB Lyon1 ; Soutenu le 15/12/2010.
- 2007** Mémoire pour le **Doctorat d'Etat en Pharmacie** de Marie Mulet (filière industrie): « Evaluation du test commercial TeSeE™ sheep/goat Western-Blot des Laboratoires BioRad dans la perspective du développement d'un test diagnostique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob du vivant du patient ». UCB Lyon1 ; Soutenu le 30/11/2007

b) Thèses de doctorat

- 2018** **Co-direction** avec le Pr L. Zimmer de la **thèse de Doctorat** de Jean Escal « Développement d'outils pour la caractérisation de la protéine TDP43 dans les fluides biologiques de patients atteints de Dégénérescences Lobaires Fronto-Temporales (DLFT) ». UCB Lyon 1 : ED 205 (Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences -Santé), en cours.
- 2015** **Direction de la thèse de Doctorat d'Anthony Fourier** : « Vers un marqueur biochimique des Dégénérescences Lobaires Fronto-Temporales: variations quantitatives et profils biochimiques de la protéine TDP43 dans différentes matrices biologiques ». UCB Lyon 1, ED 476 (Neurosciences et Cognition) ; Soutenue le 30/11/2018. **Autorisation de direction de thèse sans HDR** obtenue auprès de l'Université Lyon 1 le 28/04/2015.

c) Direction de Master 2

- 2019** **Mémoire de Master 2 Recherche** de Flora Kaczorowski « Caractérisation des souches d'Alpha-synucléine par la technique RT-Quic (Real Time-Quaking Induced Conversion) ». UCB Lyon 1, Master 2 Neurosciences Fondamentales et Cliniques.

d) Autres activités d'encadrement

- Participation comme jury à 4 **thèses d'exercice de Pharmacie** et une **thèse de Médecine**
- Participation comme jury à la **thèse de Doctorat** de Chloé Bost « Encéphalites à anticorps anti-NMDAR : étude clinique et mécanistique ». UCB Lyon 1, ED 476 (Neurosciences et Cognition) ; Soutenue le 20/10/2017.

9. Activités d'expertise et de participation aux sociétés savantes

- Relectrice ponctuelle pour des projets de recherche pour le **ministère Israélien des Sciences, de la Technologie et de l'Espace** ;
- Relectrice ponctuelle ou régulière pour des **revues internationales à comité de lecture** : Acta Neuropathologica, Journal of Neurology, Alzheimer's and Dementia, Experimental Gerontology, European Journal of Neurology, Clinical Neurology and Neurosurgery, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Journal of Alzheimer's disease, Clinical Biochemistry, Frontiers in Neurology
- Membre de la **Société Française de Biologie Clinique**
- Membre de l'**Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire**

10. Publications et communications

a) Revue internationale à comité de lecture

41 articles publiés sur la période 2004 – 2019.

Predictive testing for Huntington disease over 24 years: evolution of the profile of the participants and analysis of symptoms.

Ramond F, Quadrio I, Le Vavasseur L, Chaumet H, Boyer F, Bost M, Ollagnon-Roman E.

Molecular Genetics & Genomic Medicine. 2019 Aug 22, Early View: doi.org/10.1002/mgg3.881

The standardization of cerebrospinal fluid markers and neuropathological diagnoses brings to light the frequent complexity of concomitant pathology in Alzheimer's disease: The next challenge for biochemical markers ?

Fenouil T, Fourier A, Quadrio I, Streichenberger N, Bernardini S, Zima T, Perret-Liaudet A, Meyronet D.

Clin Biochem. 2019 Jun 10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.06.004.

Interdisciplinary Case Study: Geochemistry Meets the Clinic in Search for a Metal ALS Biomarker.

Sauzéat L, Bernard E, Perret-Liaudet A, Quadrio I, Vighetto A, Krolak-Salmon P, Broussolle E, Leblanc P, Balter V.

iScience. 2019 Jan 25;11:531-535. doi: 10.1016/j.isci.2018.12.007. Epub 2019 Jan 10.

Isolated seizures are a common early feature of paraneoplastic anti-GABAB receptor encephalitis

A Maureille, T Fenouil, B Joubert, G Picard, V Rogemond, AL Pinto, L Thomas, F Ducray, I Quadrio, D Psimaras, G Berzero, JC Antoine, V Desestret, J Honnorat

Journal of Neurology, J Neurol. 2019 Jan;266(1):195-206. doi: 10.1007/s00415-018-9132-0. Epub 2018 Nov 20.

Development of an automated capillary nano-immunoassay - Simple Western assay - to quantify total TDP43 protein in human platelet samples.

A. Fourier, J. Escal, E. Bernard, I. Lachman, A. Perret-Liaudet, P. Leblanc, I. Quadrio

Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019 Jan;411(1):267-275. doi: 10.1007/s00216-018-1437-4. Epub 2018 Oct 29.

Trim9 and Trim67 are new targets in paraneoplastic cerebellar degeneration

Le Duy Do, Stephanie Gupton, Kunikazu Tanji, Sabine Brugière, Yohann Couté , Isabelle Quadrio, Veronique Rogemond, Nicole Fabien, Virginie Desestret, Jerome Honnorat.

Cerebellum. 2018 Oct 22. doi: 10.1007/s12311-018-0987-5.

C9orf72 protein plasmatic concentrations are similar between C9ORF72 expansion carriers and non-carriers in frontotemporal dementia

A. Fourier, M. Formaglio, M. Sauvée, A. Perret-Liaudet, P. Latour , M. Bost , I. Quadrio

Dement Geriatr Cogn Disord. 2018 Sep 27;46(3-4):180-185. doi: 10.1159/000492963.

Isotopic evidence for disrupted copper metabolism in amyotrophic lateral sclerosis.

L. Sauzéat, E. Bernard, A. Perret-Liaudet, I. Quadrio, A. Vighetto, P. Krolak-Salmon, E. Broussolle, P. Leblanc, V. Balter

iScience, 2018 Aug 31;6:264-271. doi: 10.1016/j.isci.2018.07.023. Epub 2018 Aug 1.

Amyloid-Beta Radiotracer [18F]BF-227 Does Not Bind to Cytoplasmic Glial Inclusions of Postmortem Multiple System Atrophy Brain Tissue.

Mathieu Verdurand, Elise Levigoureux, Sophie Lancelot, Waël Zeinyeh, Thierry Billard, Isabelle Quadrio, Armand Perret-liaudet, Luc Zimmer, Fabien Chauveau

Contrast Media & Molecular Imaging, vol. 2018, Article ID 9165458, 7 pages, 2018

Detection of CSF 14-3-3 Protein in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Patients Using a New Automated Capillary Western Assay.

Fourier A, Dorey A, Perret-Liaudet A, Quadrio I.

Mol Neurobiol. 2018 Apr;55(4):3537-3545. doi: 10.1007/s12035-017-0607-2. Epub 2017 May 16.

Absence of evidence for a causal link between L-BSE and known forms of 2 sporadic CJD in human PrP transgenic mice

Emilie Jaumain, Isabelle Quadrio, Laetitia Herzog, Fabienne Reine, Human Rezaei, Olivier Andréoletti, Hubert Laude, Armand Perret-Liaudet, Stéphane Haïk, Vincent Béringue

Journal of Virology, 2016 Nov 14;90(23):10867-10874.

Emergence of two prion subtypes in ovine PrP transgenic mice infected with human MM2-cortical Creutzfeldt-Jakob disease prions.

Chapuis J, Moudjou M, Reine F, Herzog L, Jaumain E, Chapuis C, Quadrio I, Boulliat J, Perret-Liaudet A, Dron M, Laude H, Rezaei H, Béringue V.

Acta Neuropathol Commun. 2016 Feb 5;4(1):10. doi: 10.1186/s40478-016-0284-9.

Cerebrospinal fluid A β 40 improves the interpretation of A β 42 concentration for diagnosing Alzheimer's disease.

A. Dorey, A. Perret-Liaudet, Y. Tholance, A. Fourier, I. Quadrio.

Front Neurol. 2015 Nov 27;6:247. doi: 10.3389/fneur.2015.00247. eCollection 2015.

Pre-analytical and analytical factors influencing Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers variability.

A. Fourier, E. Portelius, H. Zetterberg, K. Blennow, I. Quadrio and A. Perret-Liaudet.

Clin Chim Acta. 2015 Sep 20;449:9-15. doi: 10.1016/j.cca.2015.05.024. Epub 2015 Jun 30.

Chasing the effects of Pre-analytical Confounders - a Multicentre Study on CSF-AD biomarkers

Maria João Leitão, Inês Baldeiras, Sanna-Kaisa Herukka, Maria Pikkarainen, Ville Leinonen, Anja Hviid Simonsen, Armand Perret-Liaudet, Anthony Fourier, Isabelle Quadrio, Pedro Mota Veiga, Catarina Resende de Oliveira.

Front Neurol. 2015 Jul 8;6:153. doi: 10.3389/fneur.2015.00153. eCollection 2015.

CSF neopterin level as a diagnostic marker in primary central nervous system lymphoma.

Aurélien Viaccoz, François Ducray, Yannick Tholance, Gleicy Keli Barcelos, Laure Thomas-Maisonnette, Hervé Ghesquières, David Meyronet, Isabelle Quadrio, Stéphanie Cartalat-Carel, Jérôme Honnorat, Armand Perret-Liaudet.

Neuro-Oncology, 2015 May 25. pii: nov092.

The workflow from post-mortem human brain sampling to cell microdissection: a Brain Net Europe study.

Meyronet D, Dorey A, Massoma P, Rey C, Alix E, Silva K, Perrin C, Quadrio I, Perret-Liaudet A, Streichenberger N, Thomasset N, Honnorat J, Arzberger T, Kretschmar H.

J Neural Transm. 2015 May 16.

Association of Cerebrospinal Fluid Prion Protein Levels and the Distinction Between Alzheimer Disease and Creutzfeldt-Jakob Disease.

Dorey A, Tholance Y, Vighetto A, Perret-Liaudet A, Lachman I, Krolak-Salmon P, Wagner U, Struyfs H, De Deyn PP, El-Moualij B, Zorzi W, Meyronet D, Streichenberger N, Engelborghs S, Kovacs GG, Quadrio I.

JAMA Neurol 2015 Mar 1;72(3):267-75. doi: 10.1001 Epub 2015 Jan 5.

Impact of harmonization of collection tubes on Alzheimer's disease diagnosis.

Lehmann S, Schraen S, Quadrio I, Paquet C, Bombois S, Delaby C, Dorey A, Dumurgier J, Hirtz C, Krolak-Salmon P, Laplanche JL, Moreaud O, Peoc'h K, Rouaud O, Sablonnière B, Thouvenot E, Touchon J, Vercurysse O, Hugon J, Gabelle A, Pasquier F, Perret-Liaudet A.

Alzheimers Dement. 2014 Oct;10(5 Suppl):S390-S394.e2. Epub 2013 Oct 23.

Change of the dependent variable.

Roubaud-Baudron C, Panhard X, Krolak-Salmon P, Quadrio I, Mégraud F, Salles N.

Neurobiol Aging. 2013 Jun;34(6):e1. Epub 2013 Feb 4.

How to control the recombinant prion protein adhesion for successful storage through modification of surface properties.

Vrlinic T, Debarnot D, Legeay G, Coudreuse A, El Moualij B, Zorzi W, Perret-Liaudet A, Quadrio I, Mozetic M, Poncin-Epaillard F.

Biointerphases. 2012 Dec;7(1-4):66. Epub 2012 Oct 30.

Non-Adhesive Behavior of New Nanostructured PNIPAM Surfaces Towards Specific Neurodegenerative Proteins: Application to Storage and Titration of Tau Proteins.

Vrlinic T, Debarnot D, Legeay G, Coudreuse A, El Moualij B, Zorzi W, Perret-Liaudet A, Quadrio I, Mozetic M, Poncin-Epaillard F.

Macromol Biosci. 2012 Aug 27.

Are the interactions between recombinant prion proteins and polymeric surfaces related to the hydrophilic/hydrophobic balance?

Vrlinic T, Debarnot D, Legeay G, Coudreuse A, El Moulaj B, Zorzi W, Perret-Liaudet A, Quadrio I, Mozetic M, Poncin-Epaillard F.

Macromol Biosci. 2012 Jun;12(6):830-9. Epub 2012 Apr 17.

Risk of Alzheimer's Disease Biological Misdiagnosis Linked to Cerebrospinal Collection Tubes.

Perret-Liaudet A, Pelpel M, Tholance Y, Dumont B, Vanderstichele H, Zorzi W, Elmoulaj B, Schraen S, Moreaud O, Gabelle A, Thouvenot E, Thomas-Anterion C, Touchon J, Krolak-Salmon P, Kovacs GG, Coudreuse A, Quadrio I, Lehmann S.

J Alzheimers Dis. 2012 Apr 10.

Cerebrospinal fluid collection tubes: a critical issue for Alzheimer disease diagnosis.

Perret-Liaudet A, Pelpel M, Tholance Y, Dumont B, Vanderstichele H, Zorzi W, Elmoulaj B, Schraen S, Moreaud O, Gabelle A, Thouvenot E, Thomas-Anterion C, Touchon J, Krolak-Salmon P, Kovacs GG, Coudreuse A, Quadrio I, Lehmann S.

Clin Chem. 2012 Apr;58(4):787-9. Epub 2012 Feb 8

Oral Transmission of L-type Bovine Spongiform Encephalopathy in Primate Model.

Mestre-Francés N, Nicot S, Rouland S, Biacabe AG, Quadrio I, Perret-Liaudet A, Baron T, Verdier JM.

Emerg Infect Dis. 2012 Jan;18(1):142-5.

Impact of chronic *Helicobacter pylori* infection on Alzheimer's disease: preliminary results.

Roubaud-Baudron C, Krolak-Salmon P, Quadrio I, Mégraud F, Salles N.

Neurobiol Aging. 2011 Nov 29.

Study of the Adhesion of Neurodegenerative Proteins on Plasma-Modified and Coated Polypropylene Surfaces.

Poncin-Epaillard F, Mille C, Debarnot D, Zorzi W, Moulaj BE, Coudreuse A, Legeay G, Quadrio I, Perret-Liaudet A.

J Biomater Sci Polym Ed. 2011 Sep 22. [Epub ahead of print]

Improvement of the detection of the neurodegenerative Alzheimer disorder through a specific surface chemistry applied onto inner surface of the titration well.

C. Mille, D. Debarnot, W. Zorzi, B. El Moulaj, A. Coudreuse, G. Legeay, I. Quadrio, A. Perret-Liaudet, F. Poncin-Epaillard.

J Biomat Sci-Polym E. Ed. 2011 Sep 28 [Epub ahead of print]

Molecular diagnosis of human prion disease.

I. Quadrio, A. Perret-Liaudet & G. G Kovacs.

Expert Opin. Med. Diagn. Jul 2011, Vol. 5, No. 4: 291–306

Decreased sA β PP β , A β 38 and A β 40 cerebrospinal fluid levels in Frontotemporal Dementia.

A. Gabelle, S. Roche, C. Gény, K. Bennys, P. Labauge, Y. Tholance, **I. Quadrio**, L. Tiers, B. Gor, J. Boulanghien, C. Chaulet, A. Vighetto, B. Croisile, P. Krolak-Salmon, A. Perret-Liaudet, J. Touchon, S. Lehmann.

J Alzheimers Dis. 2011; 26(3): 553-63. Epub 2011 Jun 27.

Rapid screening and confirmatory methods for biochemical diagnosis of human prion disease.

S. Ugnon-Café, A. Dorey, J.M. Bilheude, N. Streichenberger, G. Viennet, D. Meyronet, A. Maues de Paula, A. Perret-Liaudet, **I. Quadrio**.

J Virol Meth. 2011 Jul;175(1) : 216-23. Epub 2011 May 17.

CSF biomarkers in posterior cortical atrophy.

Seguin J, Formaglio M, Perret-Liaudet A, **Quadrio I**, Tholance Y, Rouaud O, Thomas-Anterion C, Croisile B, Mollion H, Moreaud O, Salzmann M, Dorey A, Bataillard M, Coste MH, Vighetto A, Krolak-Salmon P.

Neurology. 2011 May 24; 76(21):1782-8. Epub 2011 Apr 27.

Analytical Validation of Microdialysis Analyzer for Monitoring Glucose, Lactate and Pyruvate in Cerebral Microdialysates.

Tholance Y, Barcelos G, **Quadrio I**, Renaud B, Dailier F, Perret-Liaudet A.

Clin Chim Acta. 2011 Mar 18;415(7-8):647-54. Epub 2010 Dec 24.

Correlations between soluble α/β forms of amyloid precursor protein and A β 38, 40, and 42 in human cerebrospinal fluid.

Gabelle A, Roche S, Gény C, Bennys K, Labauge P, Tholance Y, **Quadrio I**, Tiers L, Gor B, Chaulet C, Vighetto A, Croisile B, Krolak-Salmon P, Touchon J, Perret-Liaudet A, Lehmann S.

Brain Res. 2010 Oct 21;1357:175-83. Epub 2010 Aug 14.

Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy.

Kovacs GG, Seguin J, **Quadrio I**, Höftberger R, Kapás I, Streichenberger N, Biacabe AG, Meyronet D, Sciort R, Vandenberghe R, Majtenyi K, László L, Ströbel T, Budka H, Perret-Liaudet A.

Acta Neuropathol. 2011 Jan;121(1):39-57. [Epub 2010 Jul 1]

Inactivation of animal and human prions by hydrogen peroxide gas plasma sterilization.

Rogez-Kreuz C, Yousfi R, Soufflet C, **Quadrio I**, Yan ZX, Huyot V, Aubenque C, Destrez P, Roth K, Roberts C, Favero M, Clayette P.

Infect Control Hosp Epidemiol. 2009 Aug; 30(8):769-77.

Creutzfeldt-jakob, Parkinson, Lewy Body Dementia and Alzheimer diseases: from diagnosis to therapy.

Ingrid Dupierreux, Willy Zorzi, **Isabelle Quadrio**, Armand Perret-Liaudet, Gabor G. Kovacs, Ernst Heinen and Benaïssa Elmoualij.

Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, Vol 9, Number 1, March 2009: 2-11.

Rapid diagnosis of human prion disease using streptomycin in tonsil and brain tissues.

Isabelle Quadrio, Séverine Ugnon-Café, Maryline Dupin, Guillaume Esposito, Nathalie Streichenberger, Pierre Krolak-Salmon, Anne Vital, Jean-François Pellissier, Armand Perret-Liaudet and Hervé Perron.

Laboratory Investigation, 2009 Apr;89(4):406-13. [Epub 2009 Feb 2]

Pathologic prion protein spreading in the peripheral nervous system of a patient with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease.

Favereaux, A. Quadrio, I. Vital, C. Perret-Liaudet, A. Anne, O. Laplanche, J. L. Petry, K. G. Vital, A.

Arch Neurol, 2004 May; 61(5):747-50

Prion protein accumulation involving the peripheral nervous system in a sporadic case of Creutzfeldt-Jakob disease.

Favereaux, A. Quadrio, I. Perret-Liaudet, A. Vital, C. Ouallet, J. C. Brochet, B. Biacabe, A. G. Petry, K. G. Kopp, N. Vital, A.

Neuropathol Appl Neurobiol, 2003, Dec; 29(6):602-5.

b) Revue nationale à comité de lecture

Parkinson's with tardive Creutzfeldt-Jakob disease: When there is more to it than meets the eye.

Laurencin C, Broussolle E, Streichenberger N, Thobois S, Quadrio I, Poisson A.

Rev Neurol (Paris). 2014 Feb; 170(2):148-50. Epub 2014 Feb 5. English

Contribution de l'analyse du LCR au diagnostic et au suivi évolutif d'une méningite tuberculeuse.

C Caudie, Y Tholance, I Quadrio, S. Peysson.

Ann Biol Clin 2010 ; 68 (1) :1-5- French

c) Principales communications affichées

Profils des biomarqueurs du LCS dans les DLFT-TDP43 génétiques.

Anthony Fourier, Flora Kaczorowski, Maïté Formaglio, Emilien Bernard, Hélène Mollion, Mathilde Sauvée, Isabelle Quadrio.

Journées de Neurologie de Langue Française, 2019 Lille; Poster A06. **Prix du poster SFN**

Efficacité des biomarqueurs du LCR pour discriminer les troubles psychiatriques primaires des dégénérescences lobaires fronto-temporales (DLFT).

Anthony Fourier, Maïté Formaglio, Hélène Mollion, Armand Perret-Liaudet, Mathilde Sauvée, Isabelle Quadrio.

Journées de Neurologie de Langue Française, 2018 Bordeaux ; Poster A16. **Prix du poster SFN**

LCO pFTAA detects synuclein aggregates in cerebral tissue from patients and animal models.

Fabien Chauveau, Elodie Ong, David Meyronnet, Mathieu Verdurand, Isabelle Quadrio, Armand Perret-Liaudet, Thierry Baron, Marlène Wiart, Luc Zimmer, Frédéric Lerouge, Peter Nilsson, Per Hammarström, Stéphane Parola

The 13th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (AD/PD), 2017 Vienne (Autriche)

Does amyloid radiotracer [18f]BF-227 binds to cytoplasmic glial inclusions ?

Fabien Chauveau, Sophie Lancelot, Elise Levigoureux, Sebastien Alazet, Florence Cadarossanesaib, Isabelle Quadrio, Armand Perret-Liaudet, Thierry Billard, Luc Zimmer, And Mathieu Verdurand

The 13th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (AD/PD), 2017 Vienne (Autriche)

Rapid screening method for biochemical diagnosis of human prion disease.

Armand Perret-Liaudet, Aline Dorey, Ingolf Lachmann, David Meyronet, Nathalie Streichenberger, Virginie Desestret, Gabor Kovacs, Isabelle Quadrio

The 13th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (AD/PD), 2017 Vienne (Autriche)

Diagnostic value of non-phosphorylated Tau in the CSF in neurodegenerative dementia.

Armand Perret-Liaudet, Ingolf Lachmann, Aline Dorey, Maïté Formaglio, Hélène Mollion, Piotr Lewczuk, Olivier Rouaud, Olivier Moreaud, Bernard Laurent, Pierre Krolak-Salmon, Isabelle Quadrio

The 12th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (AD/PD), 2015 Nice (France)

d) Chapitres de livre

Pre-Analytical and Analytical Critical Factors Influencing the High Variability of the Concentrations Levels of Alzheimer Disease Biomarkers in Cerebral Spinal Fluid.

A. Perret-Liaudet, A. Dorey, Y. Tholance, B. Dumont and I. Quadrio.

In : Understanding Alzheimer's Disease. Edited by Inga Zerr, ISBN 978-953-51-1009-5, 484 pages, Editeur: InTech, Publié le 27 février 2013

Alzheimer's Diseases: Towards Biomarkers for an Early Diagnosis.

B. Elmoualij, I. Dupiereux, J. Seguin, I. Quadrio, W. Zorzi, A. Perret-Liaudet and E. Heinen.

In: The Clinical Spectrum of Alzheimer's Disease -The Charge Toward Comprehensive Diagnostic and Therapeutic Strategies. Editeur: Suzanne De La Monte. ISBN 978-953-307-993-6. Parution septembre 2011, p. 221-242.

Actualités sur le risque « prions » en Anesthésie-Réanimation.

A. Perret-Liaudet, G. Barcelos, I. Quadrio.

In : Nouveaux risques en Anesthésie-Réanimation. Arnette Blackwell éditeur, collection « Risques », parution le 01/10/09. p 207-214

e) Communications orales en anglais

Cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis / prognosis of neurological disease.

Quadrio, I.; Formaglio M., Tholance Y., Barcelos G., Dailler F., Krolak-Salmon P., Croisile B., Vighetto A., Perret-Liaudet, A.

IFCC – WORLTLAB EUROMEDLAB - Berlin 2011, 19/05/2011, Berlin (Allemagne).

NEUROSCREEN: differential diagnosis of neurodegenerative diseases – Application of real-time immuno-PCR .

I. Quadrio, B Elmoualij, A Perret-Liaudet, W Zorzi.

9th International Conference: Alzheimer & Parkinson Disease (AD/PD 2009). 11 mars 2009, Prague (Rép. Tchèque).

f) Principales communications orales en français

Maladies d'Alzheimer : bonnes pratiques et juste prescrire

I Quadrio, A Fourier, A Perret-Liaudet

22^{èmes} Journées des Laboratoires Cliniques – UCL St Luc - 16/03/2019, Bruxelles (Belgique).

Marqueurs biologique des maladies dégénératives

I Quadrio, A Fourier, A Perret-Liaudet

2^{èmes} Journées Francophones de Biologie Médicale (JFBM). 16/10/2018, Paris (France).

Dosages plasmatiques pour les maladies dégénératives : de la faisabilité aux études de cohorte.

I Quadrio, A Fourier, A Perret-Liaudet

Journées Scientifiques de la Fédération des Centres Mémoires. 28/09/19, Lyon (France)

Diagnostic biologique des maladies dégénératives

I Quadrio

Journée de l'ABBRA (Association des Biologistes des Hôpitaux Bourgogne Franche Comté Rhône Alpes Auvergne). 07/06/2018, Bourgoin Jallieu (France).

Prions et démences : de Creutzfeldt-Jakob à Alzheimer et Parkinson.

I Quadrio & F Chauveau

Conférence Grand Public, Université Ouverte – Lyon 1 / Université Vie Active - Université Catholique de Lyon. Cycle « Quand le cerveau se dérègle ». 09/01/2018, Lyon (France)

Quels marqueurs pour le diagnostic des autres pathologies dégénératives?

I. Quadrio

5^{ème} journées des Neurosciences de l'Hôpital Neurologique. 28/09/2017, Lyon

Prions et démences : de Creutzfeldt-Jakob à Alzheimer et Parkinson.

I Quadrio & F Chauveau

Conférence Grand Public, Université Ouverte – Lyon 1. Cycle « Quand le cerveau se dérègle ». 22/11/2016, Lyon (France)

Détection de la pathologie amyloïde: Intérêt du dosage du peptide Ab40 dans le LCR.

Isabelle Quadrio, Hélène Mollion

13^{ème} réunion francophone sur la Maladie d'Alzheimer et les syndromes apparentés, 09/06/2016, Lyon (France)

Les biomarqueurs dans les autres maladies neurodégénératives (Parkinson, démences fronto-temporales, démences à corps de Lewy...).

I Quadrio, A Perret-Liaudet

Formation DPC (N°51941500002) 'Utilisation et maîtrise des biomarqueurs de la neuro-dégénérescence', Collège National des Enseignants de Biochimie et Biologie Moléculaire, 18/05/2016, Anglet (France)

Pathologies d'évolution rapide et difficulté diagnostique

I Quadrio

4^{ème} journée annuelle du CMRR de Lyon. 27/11/2015, CH Le Vinatier, Bron (France)

Les marqueurs des affections neurodégénératives.

I Quadrio, A Perret-Liaudet

43^e Colloque National Des Biologistes des Hôpitaux, 4-7/11/2014, Marseille (France)

Diagnostic des maladies à Prions : tests biologiques.

I Quadrio. 1^{ère} journée d'actualité sur les maladies à Prions : « Diagnostic et prise en charge en 2012 » organisée par le Centre National de Référence des ATNC. 13/12/2012, Paris

Apports des biomarqueurs du LCR pour le diagnostic précoce et différentiel de la maladie d'Alzheimer

I Quadrio. 5^{èmes} journées pharmaceutiques et biologiques de la Faculté de Pharmacie de l'Université Saint Joseph. 23-25 avril 2012, Beyrouth (Liban)

Marqueurs diagnostiques dans le LCR : MCJ et diagnostics différentiels.

I Quadrio, A Perret-Liaudet. Journées de Neurologie de Langue Française (JNLF); Interface Société des Neurosciences / Société de Neurologie. 29 avril 2010, Lyon (France).

L'adhésion protéinique : illustration avec les protéines neurodégénératives.

I. Quadrio. 3^{ème} colloque Bioadhésion, biocontamination des surfaces « BioAdh 2009 ». 18 novembre 2009, Le Mans (France).

11. Contrats de recherche et financements

- 2019** Etude « **NfL-COG: intérêt du dosage plasmatique des neurofilaments et d'un panel de biomarqueurs dans le bilan des troubles cognitifs d'origine psychiatrique et neurodegenerative** » (CSRL09). Financement par le Conseil Scientifique de la Recherche du CH Le Vinatier (69). **Investigateur associé.**
- 2013-2016** **Projet Européen « BIOMARKAPD »** : Biomarkers for Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Financé dans le cadre du JPND (Joint Programme – Neurodegenerative Disease Research), coordonné par le Karolinska Institutet – Suède (Pr Wingblad).
Membre associée, Groupe de travail sur la comparaison des performances analytiques des réactifs de dosages des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer de la maladie de Parkinson (Tâche D1, responsable Dr Armand Perret-Liaudet).
- 2010/2012** **Projet financé par la fondation Alliance Biosécure (FABS) :**
« PrionBloodConfirm » : Optimisation, evaluation and validation of a Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA) based confirmatory screening assay to detect prions in human blood. A French and British Collaborative Study.
Membre associée, responsable de l'optimisation de la phase préanalytique par l'utilisation de la streptomycine.
- 2009/2010** **Projet financé par la fondation Alliance Biosécure (FABS) : « BoHuToHu » :**
Comparison of Bovine BSE-L and Human CJD prions phenotypic traits upon transmission To Human PrP transgenic mice.
Membre associée, évaluation du risque de transmissions des souches d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine de type L à l'homme.
- 2006 – 2009** **Programme Européen de recherche “Neuroscreen: Sensitive and differential blood and cerebrospinal fluid test for neurodegenerative dementia diagnosis”**
Financé par le 6^{ème} programme cadre Européen (FP6) pour la recherche et le développement économique en Europe, coordonné par l'Université de Liège (Belgique, Pr. W. Zorzi), LSHB-CZ-2006-037719.

II. Parcours et motivations pour présenter l'HDR

Durant mon cursus universitaire à l'Université Lyon 1, j'ai mené en parallèle des études de Pharmacie à la faculté de Pharmacie de Lyon et un cursus scientifique à l'Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences et Santé (EDISS, ED 205). J'ai ainsi pu obtenir en 2005, à la fin de mon Internat, un diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie complété d'un Diplôme d'Etudes Spécialisées de Pharmacie Spécialisée et en 2008 le grade de Docteur par l'obtention d'un Doctorat en Neurosciences.

Ma thématique de recherche durant mon doctorat était centrée sur le développement d'outils permettant le diagnostic par la caractérisation de marqueurs étiologiques, dans les tissus périphérique ou les liquides biologiques, des maladies à Prions. Cette thématique découlait directement de mon activité de routine spécialisée de diagnostic biologique de ces maladies au laboratoire de biochimie de l'Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre Wertheimer (Lyon, HCL). En effet, le laboratoire était situé au sous-sol de l'hôpital, et les biologistes étaient très proches des cliniciens experts de ces pathologies. Lorsqu'en 1996 le premier cas français de nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (nv-MCJ) liée à l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a été décrit par une équipe de neurologues et de neuropathologistes de l'Hôpital Neurologique, disposer d'un marqueur spécifique et sensible pour le diagnostic de ces maladies est devenu un enjeu important (Chazot et al. 1996). En effet, si les maladies à Prions sur la forme classique étaient bien connues, le diagnostic du vivant du patient reposait sur des faisceaux d'arguments cliniques, paracliniques et radiologiques mais sans marqueur biologique. Le diagnostic de certitude reposait, et repose toujours, sur l'examen histopathologique du tissu cérébral. L'émergence d'une forme clinique touchant cette fois les adultes jeunes et étant possiblement d'origine alimentaire, s'ajoutant aux formes iatrogènes liées à l'administration d'hormone de croissance décrites depuis le milieu des années 1980, a fortement dynamisé la recherche d'un marqueur biologique. Si l'on avait déjà pu à l'époque identifier plusieurs protéines candidates dans le liquide cébrospinal (LCS), les techniques étaient difficiles à mettre en œuvre et inenvisageables en routine. La caractérisation de ces protéines comme étant la protéine 14-3-3 (P14-3-3) par une équipe américaine a permis le développement d'un test diagnostic (Hsich et al. 1996). Son potentiel intérêt et ses limites pour le diagnostic des maladies à Prions ont été rapportés dès 1998 dans les recommandations de l'OMS (Zeidler et al. 1998). Dans ce contexte local et international, la recherche en routine de la P14-3-3 dans le LCS a pu ainsi débuter en 1997 au laboratoire.

C'est ainsi que lorsque je suis arrivée comme interne en biologie dans le service en 2001, j'ai intégré ce secteur spécialisé. En parallèle des activités diagnostiques spécialisées, l'identification d'un marqueur plus spécifique que la P14-3-3 s'est rapidement imposée comme un axe de recherche et développement important. L'enjeu était de pouvoir mettre en évidence et caractériser dans les fluides biologiques le marqueur étiologique, et non indirect, de ces maladies. La cible idéale a donc été la forme anormale de la protéine prion, ou PrPsc, présente dans le tissu cérébral et reconnue comme marqueur de la pathologie. Deux difficultés devaient être surmontées : la très faible quantité possiblement présente dans les fluides biologiques et le fait que sa structure primaire et secondaire soit identique à la forme cellulaire normale PrPc.

Pour répondre à la première question, l'objectif principal de ma thèse de doctorat était de développer une technique capable de détecter spécifiquement de très petites quantités de cette forme anormale de protéine prion, si possible dans un tissu périphérique ou un fluide biologique pour permettre un diagnostic précoce et de certitude du vivant du patient. Nous disposons à l'hôpital d'un laboratoire dédié à la manipulation des tissus à risques Prions (local spécifique de type L3) pour réaliser les examens histologiques et biochimiques à visée diagnostique du tissu cérébral de patients autopsiés dans le cadre des suspicions de Maladie à Prions. J'ai alors adapté la technique ultrasensible utilisée en routine pour la caractérisation de la PrPsc dans ce tissu cérébral au nerf péronier : cette piste était prometteuse, mais la sensibilité pour les formes sporadiques de maladies à Prions n'était que de 30% (Favereaux et al. 2003, Favereaux et al. 2004). Afin d'améliorer cette sensibilité, nous avons développé une nouvelle technique basée sur la précipitation de la PrPsc par de la streptomycine. Nous avons validé cette méthode sur le tissu cérébral d'une cohorte de 98 patients atteints de maladies à Prions confirmées sur le plan neuropathologique. Cette technique s'est avéré être très sensible notamment à partir de faibles quantités de tissus (5 mg). Grâce à cette technique, nous avons également réussi à détecter la PrPsc dans les amygdales de patients atteints de nv-MCJ (Quadrio et al. 2009). Un point très important était également que les caractéristiques biochimiques de la PrPsc du nv-MCJ étaient conservées par cette technique de préparation de l'échantillon.

Dans l'objectif d'identifier spécifiquement la forme pathologique de PrPsc, j'ai participé au projet de développement d'un test spécifique de cette isoforme pathologique dans le cadre d'un financement européen coordonné par l'Université de Liège (Neuroscreen LSHBCZ-2006-037719 ; Pr. W Zorzi, Belgique). En collaboration avec la société Roboscreen, la production et la sélection d'anticorps plus affins et plus sensibles a permis de développer un test ELISA de dosage de la PrP

humaine, permettant d'atteindre les très faibles concentrations de protéine prion présente dans le LCS. Malheureusement, ce test n'est pas spécifique de la forme PrPsc. Nous avons néanmoins pu montrer ses très bonnes performances diagnostiques dans le LCS, notamment pour la différenciation entre les formes d'évolution rapide de la Maladie d'Alzheimer (MA) et la MCJ (Dorey et al. 2015b).

Sur un plan plus mécanistique, nous nous étions intéressés au laboratoire à certaines similitudes biochimiques entre les profils lésionnels et moléculaires des maladies à Prions animales atypiques et certaines formes atypiques de MCJ. J'ai ainsi participé à différentes études de transmission de tissu humain dans différents modèles animaux, primates ou murins. En effet, il existe différentes isoformes de PrPsc que l'on appelle « souches » par analogie au monde de la virologie et du fait de l'hypothèse historique initiale de « virus lent » pour la nature de l'agent infectieux. Ces différentes souches correspondent à différentes isoformes de protéines qui peuvent être caractérisées par Western-Blot et corrélées aux phénotypes cliniques de MCJ (Quadrio et al. 2011). Dans ces études expérimentales chez l'animal, nous avons ainsi pu démontrer, dans le modèle de souris transgéniques humanisées utilisé, qu'il n'y avait pas de lien entre certaines formes atypiques de MCJ et les formes atypiques d'ESB (Jaumain et al. 2016). Dans le cadre d'une étude internationale, nous avons également pu décrire des profils particuliers de PrPsc dans la forme génétique la plus fréquente de MCJ (dite « E200K »), aussi bien en terme de profil lésionnel neuropathologique que de son profil biochimique. Cette étude de corrélation clinique – génétique – profil biochimique est très importante car très souvent les formes génétiques de MCJ présentent des phénotypes cliniques identiques aux formes sporadiques. Si cette souche particulière associée à cette mutation E200K est identifiée à l'autopsie, alors l'étiologie génétique doit être envisagée (Kovacs et al. 2011).

En parallèle, ma thématique s'est élargie aux autres pathologies neurodégénératives. En effet, l'émergence de marqueurs biologiques dans le LCS pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer ouvrait un nouveau champ de développement pour le laboratoire. Un PHRC régional obtenu en 2004 a en effet permis l'évaluation de ces marqueurs pour le diagnostic de la MA et le développement d'une nouvelle expertise dans notre laboratoire, avant de pouvoir proposer ces examens en routine en 2008. En tant que biologiste hospitalier, j'ai mené en collaboration avec d'autres équipes françaises un travail très important sur l'impact de l'étape préanalytique sur les résultats de ces dosages. Nous avons ainsi pu démontrer l'influence de la nature du plastique du tube de prélèvement utilisé sur les concentrations mesurées dans les échantillons de LCS (Perret-Liaudet et al. 2012a, Perret-Liaudet et al. 2012b, Lehmann et al. 2014). Ces données ont par la suite été reprises dans les recommandations internationales de bonnes pratiques de prélèvement.

Ces marqueurs représentent aujourd'hui un outil important de diagnostic pour la MA, notamment dans les présentations mixtes, pour les formes atypiques non amnésiques et pour celles touchant les adultes jeunes (Seguin et al. 2011). Initialement limités à la protéine Tau totale, sa forme phosphorylée en 181 et le peptide A β 1-42, ces marqueurs peuvent toutefois être discordants entre eux et être d'interprétation délicate. Le dosage d'un marqueur complémentaire, le peptide A β 1-40, permet de diminuer significativement la proportion de bilans ambigus. En effet, dans notre expérience, ce dosage a permis de rectifier le diagnostic pour près de 95% de ces bilans discordants (Dorey et al. 2015a). Dans un effort de juste prescription, la stratégie actuelle dans notre laboratoire consiste en la réalisation de ce dosage complémentaire selon les indications cliniques et en fonction des résultats des marqueurs de première intention.

Le développement des marqueurs étiologiques de la MA a eu pour effet indirect de souligner l'absence de marqueurs étiologiques pour les autres maladies neurodégénératives. En effet, l'utilisation de ces marqueurs est en croissance quasi exponentielle dans notre laboratoire, comme ailleurs en France : de 200 prélèvements de LCS reçus en 2008, nous en sommes arrivés pour l'année 2018 à expertiser environ 2900 prélèvements. Mais très souvent la question d'un diagnostic différentiel avec un trouble neurocognitif (TNC) d'une autre étiologie que la MA se pose. Cette question est aujourd'hui largement répondue par défaut par manque de marqueur étiologique des autres TNC d'origine dégénérative. En effet, si le phénotype clinique de ces TNC est très variable, ils partagent sur le plan neuropathologique une caractéristique commune : l'agrégation et l'accumulation dans les neurones ou les cellules gliales de protéines mal conformées. A l'image de la PrP dans les maladies à Prions, qui constituent un modèle de choix pour ces maladies, les protéines impliquées dans ces TNC sont présentes chez les personnes saines sous forme solubles et vont sous certaines circonstances pathologiques former des oligomères et s'agréger en polymère insolubles. On regroupe toutes ces maladies sous le terme de « protéinopathie » (Kovacs and Budka 2010). Si ce mécanisme est aujourd'hui bien reconnu pour ces autres TNC d'origine dégénérative, aucun marqueur biologique étiologique n'est cependant actuellement disponible.

Ces similitudes physiopathologiques entre les TNC dégénératifs et les maladies à Prions m'ont alors encouragé à m'intéresser à ces autres maladies qui ne disposaient pas de marqueurs biologiques. C'est dans cet objectif que j'ai confié à Anthony Fourier, alors Assistant Hospitalo-Universitaire dans notre laboratoire, la lourde tâche de défricher les méthodologies d'identification de marqueurs biologiques étiologiques des dégénérescences lobaires fronto-temporales (DLFT) liées aux inclusions de protéine TDP43, dans le cadre de sa thèse de doctorat. Dans ce travail, nous avons

pu montrer que le dosage pondéral de cette protéine dans les fluides biologiques n'est à l'heure actuelle pas discriminant, probablement du fait d'un manque de spécificité des anticorps disponibles. En revanche, nous avons développé une méthode de caractérisation des profils qualitatifs de la TDP43 dans différentes matrices biologiques par une technique automatisée et miniaturisée à haut débit ; technologie innovante dont nous avons validé le potentiel pour la détection de la P14-3-3 dans le LCS (Fourier et al. 2018a). Ainsi, les profils qualitatifs de TDP43 identifiés dans les culots plaquettaires pourraient devenir un marqueur candidat pour ces pathologies (Fourier et al. 2019a). La variabilité génétique observée dans les DLFT pose également question concernant les liens entre phénotype et génotype. Nous avons pu montrer dans une étude préliminaire que la concentration de la protéine C9orf72 n'était pas modifiée entre les porteurs et les non porteurs de mutations sur le gène *C9ORF72*, mutation la plus fréquente des formes génétiques de DLFT (Fourier et al. 2018c). Une analyse qualitative de cette mutation va maintenant être menée pour essayer d'expliquer ces variations phénotypiques.

Ainsi, pour résumer mon parcours et en illustrer les principales étapes, une sélection d'articles se trouve en dernière partie de ce manuscrit. Ils reflètent dans les grandes lignes l'évolution de mon travail : la caractérisation de la PrPsc dans les tissus ou les fluides biologiques, l'amélioration de la pratique clinique, le développement de nouveaux marqueurs et la caractérisation des protéines impliquées dans les protéinopathies associées aux DLFT.

Le champ de recherche autour des biomarqueurs des TNC est extrêmement dynamique et passionnant. Mon expérience dans la thématique des maladies à Prions est un atout important pour l'étude et la compréhension des autres TNC et notamment l'exploration des liens entre profils protéiques / génotype / phénotype clinique. L'association entre des centres de référence et de recours clinique (Centre Mémoire Ressources Recherche de Lyon, Centre de compétences pour les maladies rares neurogénétiques d'expression tardives), un laboratoire hospitalo-universitaire expert pour le diagnostic biologique et neuropathologique des pathologies dégénératives et l'équipe de recherche BIORAN (Biomarqueurs radiopharmaceutiques et neurochimiques - Pr L. Zimmer, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon) constitue un environnement idéal pour poursuivre ce travail notamment en dirigeant les travaux des étudiants. C'est pour cela que je présente aujourd'hui ma candidature à l'Habilitation à Diriger des Recherches.

III. Contexte général et travaux antérieurs

1. Protéinopathies, souches et propagation « prion-like »

Les TNC dégénératifs regroupent des maladies très diverses sur les plans phénotypiques et neuropathologiques. Ils partagent cependant des caractéristiques communes d'altérations acquises et progressives des fonctions cognitives, d'un stage léger ou modéré jusqu'au stade majeur, le plus tardif, correspondant à une perte d'autonomie. La maladie d'Alzheimer est le TNC dégénératif le plus fréquent. On trouve ensuite principalement la Démence à Corps de Lewy (DCL) et les Dégénérescences Lobaires Fronto-temporales (DLFT). Sur le plan physiopathologique, on retrouve pour tous ces TNC un dysfonctionnement synaptique et pour la plupart un mécanisme d'accumulation et d'agrégation de protéines mal conformées dans le tissu cérébral (Carrell and Lomas 1997). Ces protéines sont physiologiques et donc présentes chez les personnes saines, le plus souvent sous forme de monomères solubles, qui vont subir dans certaines circonstances pathologiques un changement conformationnel entraînant la formation de polymères insolubles. Ce mécanisme définit ce que l'on appelle une « protéinopathie » (Kovacs and Budka 2010).

Ces accumulations de protéines peuvent survenir dans différentes régions cérébrales, toucher différents types cellulaires et différents réseaux neuronaux, ce qui explique la diversité des phénotypes cliniques associés. Cette particularité explique également que la symptomatologie ne peut pas à elle seule préjuger de la nature de la lésion protéique, ce qui complique le diagnostic clinique étiologique du vivant du patient. La base de la classification neuropathologique associe donc la symptomatologie clinique avec la caractérisation de la nature de la protéine impliquée, du type de dépôts, de leurs localisations topographiques et de l'intensité des lésions à l'examen neuropathologique. La classification moléculaire des protéinopathies tient également compte des propriétés biochimiques de ces protéines et des éventuels variants génétiques associés. Les protéines les plus fréquemment impliquées dans ces TNC neurodégénératifs sont les protéines Tau, les peptides amyloïdes, l'alpha-synucléine (A-Syn), la protéine prion et la protéine TDP43 (Fig 1) (Kovacs et al. 2010). Un point important à souligner est qu'il est très rare qu'un seul type de protéine soit retrouvé lors de l'examen du tissu cérébral de patients atteints de TNC. En effet, les co-lésions neuropathologiques semblent plutôt être la règle que l'exception (Kovacs et al. 2008).

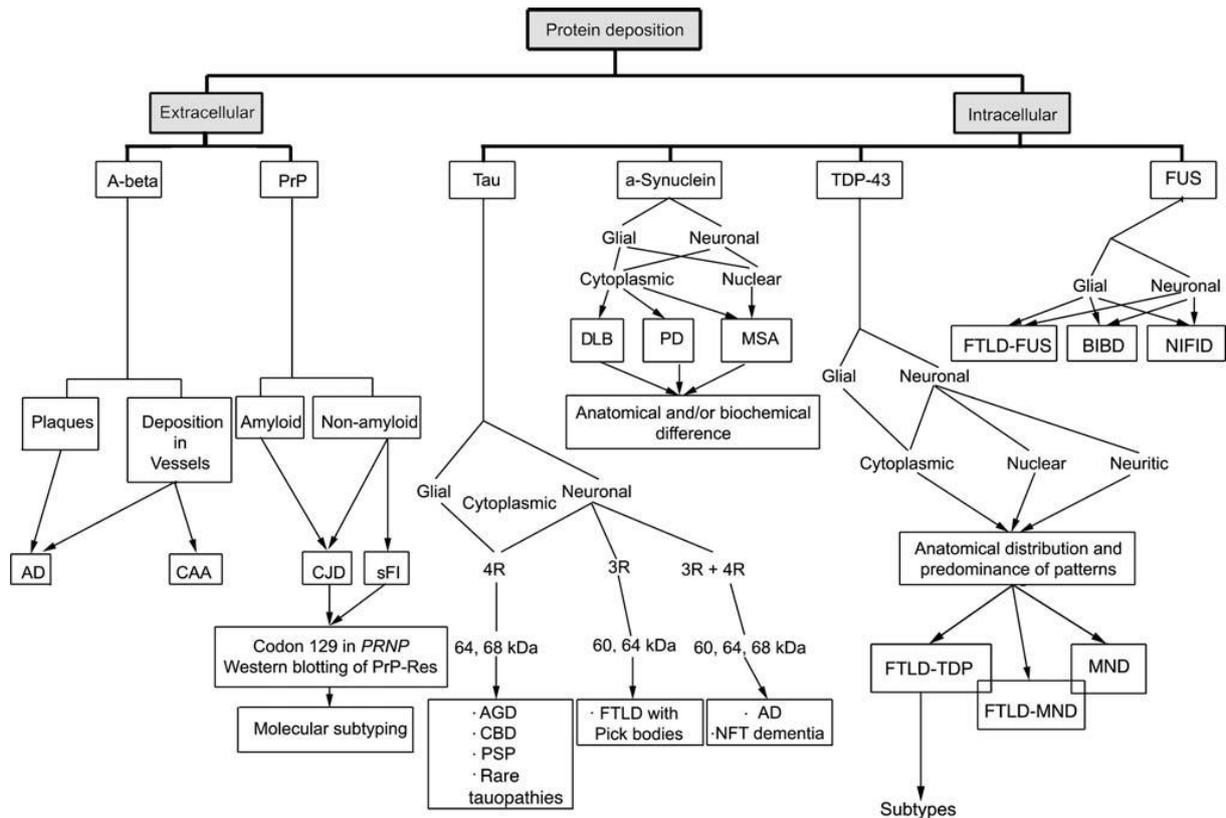


Fig. 1 : Classification moléculaire des protéinopathies selon la nature de la protéine et sa localisation intra ou extra-cellulaire (Kovacs et al. 2010)

Ainsi, par exemple, la classification des maladies à Prions repose sur l'association entre l'étiologie (origine génétique, sporadique, acquise), le phénotype (maladie de Creutzfeldt-Jakob, Insomnie Fatale, maladie de Gerstmann-Straussler-Scheinker, prionopathie sensible à la protéinase K), la combinaison du profil biochimique de la PrPsc par Western Blot et le profil lésionnel neuropathologique (Quadrio et al. 2011). Le diagnostic définitif est donc complètement dépendant de la caractérisation moléculaire de la protéine prion pathologique détectée dans le tissu cérébral du patient. Pour différencier la forme cellulaire physiologique (PrPc) de la forme anormale pathologique (PrPsc), on utilise généralement la différence de sensibilité vis-à-vis de la protéinase K (PK) entre ces deux isoformes. La PrPc est entièrement sensible à l'action de la PK, contrairement à la PrPsc qui n'y est que partiellement sensible. Il subsiste alors une fraction résistante à cette protéase que l'on nomme PrPres (Meyer et al. 1986). Une autre propriété importante est l'insolubilité de la PrPsc dans les détergents. Couplé à une détection immunologique par un anticorps anti-prion, la combinaison de ces deux particularités permet alors une détection très sensible et spécifique de la PrPres et

l'identification de ce que l'on appelle un profil moléculaire de la PrPres. On obtient alors un profil spécifique à trois bandes correspondant aux états de glycosylation de la protéine. Sous l'action de la PK, la forme non glycosylée de la protéine pathologique génère deux fragments N-terminaux de de taille différentes que l'on nomme PrPres de type 1 et de type 2 (Fig 2) (Parchi et al. 1995, Parchi et al. 1996). Le fragment de type 1 correspond à une coupure au résidu 82 et possède une mobilité électrophorétique apparente de 21 kDa alors que la PrPres de type 2 a une mobilité apparente de 19 kDa pour un site de coupure au résidu 97 (Parchi et al. 1997).

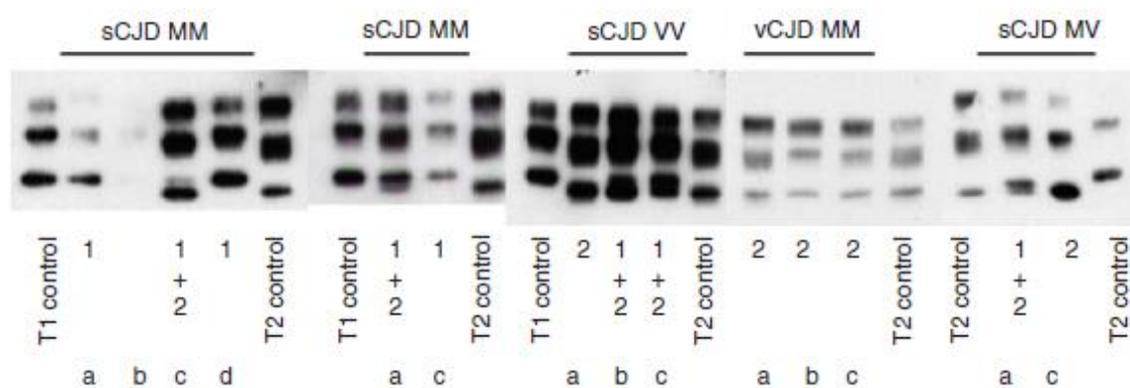


Fig. 2 : Diversité moléculaire de la protéine Prion pathologique dans le tissu cérébral humain de patients atteints de différentes formes de maladies à Prions (Quadrio et al. 2011)

Pour préciser encore un peu plus cette classification et améliorer les concordances clinico-pathologiques, on ajoute un critère génétique : le polymorphisme du codon 129 du gène de la protéine prion *PRNP*, méthionine (M) ou valine (V). L'ensemble de ces critères permet de définir pour les formes sporadiques de MCJ une classification en 6 catégories principales (MM(V)1, MM2, VV1, VV2, MV2, VV2) (Parchi et al. 2012).

Dans le contexte des maladies à Prions, la diversité phénotypique, la variabilité des profils lésionnels histologiques ainsi que l'existence de plusieurs profils moléculaires de PrPsc ont laissé supposer qu'il existait plusieurs variants d'agent pathogène. Par analogie avec les autres maladies transmissibles, et du fait de l'hypothèse initiale d'un virus lent comme agent pathogène pour ces maladies, la notion de « souche » a été introduite à la fin des années 1970 (Bruce et al. 1976). Contrairement à des souches virales où l'on fait référence à une variation génétique de l'agent pathogène, la notion de « souche » pour les maladies à Prions caractérise un isolat infectieux et est définie par : le phénotype clinique, le profil lésionnel (localisation et intensité des lésions), la période

d'incubation lors des études de transmission, les propriétés biochimiques de la PrPsc (ratio entre les glycotypes, profil de résistance aux protéases, mobilité électrophorétique...). Ces caractéristiques sont stables et reproductibles au sein d'une même espèce (Bruce 2003, Aguzzi et al. 2007). On parle également de souches dans les autres protéinopathies, par extension et bien qu'elles ne possèdent pas de caractère transmissible. Cela permet de décrire les différents profils lésionnels en lien avec les différentes structures protéiques. Ces notions se sont notamment développées récemment pour le champ de l'A-Syn et de la TDP43 (Bousset et al. 2013, Kawakami et al. 2019).

Un autre concept utilisé dans le champ des TNC dégénératifs est le phénomène de propagation et dissémination des agrégats de protéines dans le temps et l'espace au cours de l'évolution de la maladie. On parle alors d'effet « *prion-like* » par analogie avec l'hypothèse de modification conformationnelle imposée par la PrPsc à la PrPc dans la physiopathologie des maladies à Prions (Aguzzi et al. 2008). Les protéines modifiées deviendraient ensuite des sortes de modèles conformationnels pour les protéines natives à proximité, leur imposeraient leur conformation et favoriseraient la modification de conformation des protéines natives en protéines altérées. Les protéines ainsi associées en oligomères ou polymères insolubles seraient internalisées puis transmises de proche en proche par différents phénomènes cellulaires encore discutés, et s'ensuit un phénomène de propagation aux autres cellules (Guo and Lee 2014, Brettschneider et al. 2015).

Ce concept d'amplification des protéines est à la base d'un test de détection spécifique de la PrPsc que l'on appelle RT-QuIC pour « Real-Time Quacking Induced Conversion » (Atarashi et al. 2008). Le principe repose sur le mélange entre une faible quantité de protéine pathologique présente dans l'échantillon du patient avec un large excès de la protéine saine présente sous forme de protéine recombinante et qui va être la source d'amplification de la protéine pathologique. Dès que les deux formes de protéines sont en contact, un complexe [protéine recombinante – protéine agrégée] se forme et grossit petit à petit au cours de la réaction d'amplification. Un agent intercalant (la thioflavine T) présent dans le milieu réactionnel peut alors s'insérer dans le complexe ainsi formé. Cette technique est dite « en temps réel » car on peut suivre la cinétique de la réaction par monitoring de la fluorescence émise par la thioflavine intégrée aux agrégats. Différents profils d'amplification par RT-QuIC ont pu être observés selon les souches de PrPsc étudiées (Fig 3). (Franceschini et al. 2017).

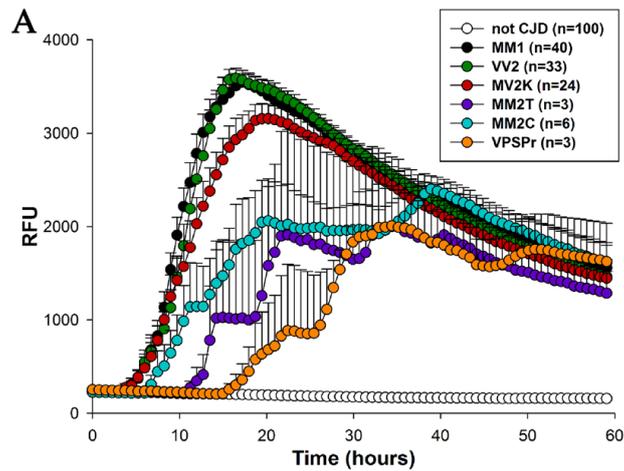


Fig 3 : Profil par RT-QuIC de différentes souches de PrP^{Sc} (Franceschini et al. 2017)

Cette méthodologie a été par la suite adaptée à certaines autres protéines impliquées dans les protéinopathies telles que l'A-Syn et certaines isoformes de protéine Tau (Fairfoul et al. 2016, Saijo et al. 2017, Kraus et al. 2019).

La problématique générale est donc de pouvoir disposer de **marqueurs étiologiques** de ces TNC dégénératifs. Dans cette optique, détecter les **formes pathologiques solubles** semble être la stratégie la plus pertinente. Cependant, la proportion de ces formes altérées est probablement très inférieure à celle de la forme physiologique native, et les différences structurales sont parfois minimales. Cela explique pourquoi une mesure pondérale des formes totales ne semble pas très efficace sur le plan diagnostique. La mesure spécifique des formes solubles nécessite des **anticorps très spécifiques** qui ne sont actuellement pas toujours disponibles ou met en jeu des **technologies de type RT-QuIC** délicates à maîtriser. En parallèle, la caractérisation biochimique de ces protéines altérées par leur **profil moléculaire** semble une bonne piste qui permettrait également d'apporter des informations sur la physiopathologie de ces maladies, souvent encore mal connues.

2. Marqueurs protéiques des maladies à Prions

L'émergence de la nouvelle variante de la MCJ (nv-MCJ) en 1996 a remis en lumière ces maladies, connues depuis longtemps mais très rares et qui touchent majoritairement les plus de 65 ans. En effet, une large étude européenne portant sur les années 1993-2002 a montré que l'on dénombrait 1,67 cas par million d'habitants en Europe sur cette période (Ladogana et al. 2005). Ces chiffres sont stables, une actualisation en 2013 des données françaises du réseau de surveillance rapporte un taux de mortalité de 1,44 cas par million d'habitant pour les formes sporadiques (Brandel et al. 2013). A l'inverse, le nombre de cas des formes acquises était très élevé par rapport à d'autres pays : on dénombrait au moment de mon doctorat en 2006 en France 103 cas liés à l'injection d'hormone de croissance sur 194 au total recensés au niveau mondial et en 2008, 23 cas de nv-MCJ sur 205 (Brown et al. 2006) (EuroCJD http://www.eurocjd.ed.ac.uk/_surveillance%20data%201.html#vcjd-cases).

a) Marqueurs biologiques indirects des maladies à Prions dans le LCS

La problématique posée à l'époque de mon doctorat, et qui reste vraie aujourd'hui, était que le diagnostic du vivant du patient n'est qu'un diagnostic de probabilité. Le diagnostic de certitude reste la confirmation neuropathologique dans un contexte clinique compatible. Dans ces critères, la recherche de la P14-3-3, bien qu'indirectement reliée à la physiopathologie de la MCJ, joue un rôle central puisqu'elle permet, lorsqu'elle est positive, de classer un cas de MCJ possible en cas probable (WHO 2003). Notre laboratoire participant au réseau national de surveillance des maladies à prions en France, nous étions centre de recours pour la recherche de P14-3-3 dans le LCS, seul marqueur biologique reconnu à l'époque dans les critères diagnostic.

Dans la **première partie de ma thèse de doctorat**, un bilan des données du laboratoire concernant ce dosage entre 1997 et 2008 a été effectué. Cette synthèse portait plus particulièrement sur la concordance clinico-pathologique de 325 cas combinant examens neuropathologique et résultats de la P14-3-3. Nous avons alors pu montrer que la sensibilité de la P14-3-3 variait selon le phénotype clinique et dépendait du type de PrPsc retrouvé dans le tissu cérébral. Dans l'ensemble, elle s'élève à 85%, mais pouvait varier de 67% dans les formes acquises à plus de 92% pour les formes sporadiques. Nous avons également confirmé que la spécificité de la P14-3-3 n'est pas excellente, notamment dans les contextes de pathologies inflammatoires, infectieuses ou vasculaires. Pour améliorer cette dernière, la prise en compte d'un marqueur complémentaire reflétant une stimulation immunitaire, la néoptérine, nous permettait d'atteindre environ 72% de spécificité dans les présentations atypiques les plus difficiles (Quadrio 2008, Quadrio and Perret-

Liaudet 2010, Quadrio and Perret-Liaudet 2012). L'intérêt diagnostique de la néoptérine a ensuite également été confirmé pour le diagnostic différentiel des lymphomes cérébraux (Viaccoz et al. 2015).

Ces travaux ont soulignés que la P14-3-3 dans le LCS est un marqueur indirect qui présente de bonnes performances pour les phénotypes classiques mais insuffisantes dans les phénotypes plus atypiques ou dans les contextes mixtes. Malgré tout, elle reste un marqueur de choix utile, et dont on connaît bien les limites. La difficulté principale résidait en pratique dans la réalisation de la technique manuelle qui était utilisée classiquement au laboratoire. En effet, la technique de référence était une technique par Western Blot, donc un peu laborieuse et qui pouvait parfois manquer de robustesse. Pour pallier à ces défauts, et également faire face à la forte croissance des demandes reçues au laboratoire, nous avons décidé en **2014** d'acquérir une **plateforme miniaturisée et automatisée d'analyse des protéines**. L'automate à disposition au laboratoire est le Peggy Sue® (Proteinsimple®), qui réalise des immuno-essais permettant une séparation des protéines selon leur taille ou selon leur charge électrique par la **technologie Simple Western** (Fig 4). Le processus analytique global repose sur deux étapes consécutives : la première consiste en la préparation d'une plaque contenant les échantillons à analyser et les différents réactifs nécessaires à l'essai. La deuxième étape, entièrement automatisée, permet de réaliser l'analyse des protéines depuis l'électrophorèse jusqu'à la révélation par chimiluminescence.

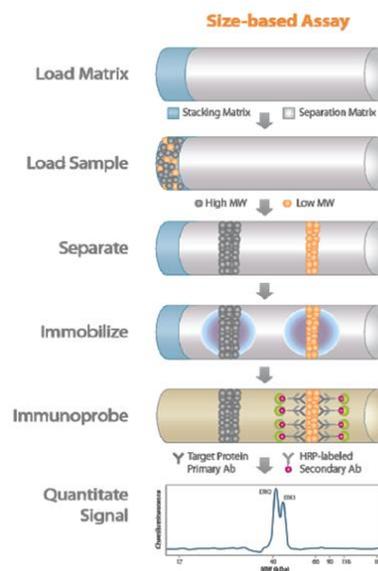


Fig 4 : Principe de l'essai basé sur la séparation par la taille des protéines (Simple Western®)

Le signal obtenu est qualitatif (profil d'électrophérogramme) mais peut être également quantitatif par intégration de la surface des pics. Nous avons alors transféré la technique de routine sur cet automate à haut débit. Dans l'étude de validation des performances dans le cadre de la routine diagnostique, la **sensibilité et la spécificité sont excellentes, au-delà de 93% et avec un gain de temps considérable par rapport à la technique manuelle** (Fourier et al. 2018a). Depuis 2016, cette technologie est utilisée en routine au laboratoire.

b) Détecter la PrP dans le LCS

Détecter la PrP dans les différents tissus et fluides biologiques était une question centrale, aussi bien pour l'aspect compréhension des maladies à Prions que pour son aspect diagnostique. Ainsi, dès 1992, une équipe italienne était parvenue à identifier une forme de PrP sensible à la PK dans le LCS de trois personnes non atteintes de maladies à Prions et prélevées au décours d'une neurochirurgie (Tagliavini et al. 1992). Cela démontrait la distribution périphérique de cette protéine et ouvrait la porte pour en faire un marqueur biologique. Ces travaux ont été confirmés en 2000 par une équipe allemande cette fois dans une cohorte de patients atteints de MCJ par spectroscopie confocale, pour environ 20% des cas (Bieschke et al. 2000). En 2009 une autre équipe allemande publiait les résultats de l'utilisation d'un test ELISA pour le dosage de la PrP initialement développé pour le diagnostic des maladies bovines. Aucune différence significative de concentration entre les différents TNC dégénératifs (MA, DCL, Maladie de Parkinson, MCJ) n'avait été montrée dans ce travail (Meyne et al. 2009). Malgré les limites de ces études, les bases étaient posées.

De notre côté, dans le cadre d'un projet de recherche européen (Neuroscreen « Sensitive and differential blood and cerebrospinal fluid test for neurodegenerative dementia diagnosis » ; 6^{ème} Programme Cadre Européen, LSHB-CZ-2006-037719), nous étions impliqués dans le **développement de nouveaux anticorps plus spécifiques des protéinopathies**. Parmi les anticorps développés contre la PrPsc humaine, certains se sont révélés être très sensibles et très spécifiques. Nous avons alors participé au **développement d'un kit ELISA spécifique de la PrP humaine** dans le cadre d'une collaboration avec la société Roboscreen® qui a produit ces anticorps. Nous l'avons évalué dans une cohorte de patients dont le diagnostic avait été confirmé par autopsie puis avons évalué l'intérêt dans un groupe de patients présentant une MA d'évolution rapide et qui pouvait mimer cliniquement une MCJ.

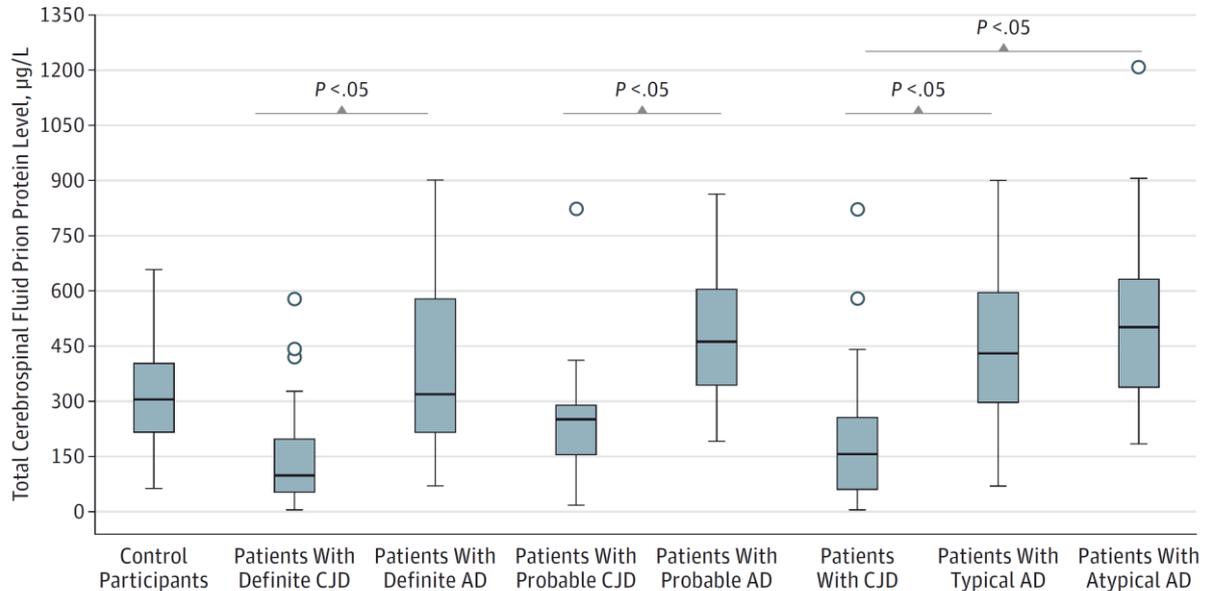


Fig 5 : Concentration en PrP dans le LCS de patients atteints de TNC dégénératifs. Definite CJD : MCJ confirmée à l'autopsie ; Definite AD : MA confirmée à l'autopsie ; Probable CJD : MCJ probable ; Probable AD : MA probable ; Typical AD : MA de phénotype amnésique ; Atypical AD : MA d'évolution rapide. (Dorey et al. 2015b)

Nos résultats ont montré que la PrP était mesurable dans le LCS dans tous les groupes de patients testés, laissant supposer que nous mesurons une forme totale de PrP plus que spécifiquement une forme pathologique (Fig 5) (Dorey et al. 2015b). De plus, la **concentration en PrP totale est significativement plus basse** dans le groupe des MCJ par rapport à tous les autres groupes. Nous pouvons expliquer cette diminution sur la base de la physiopathologie des maladies à Prions. Dans ces maladies, la PrP^c (riche en hélices α) est convertie en PrP^{sc} (riche en feuillets β) ce qui conduit à la fois à la formation d'oligomères solubles de PrP^{sc} et à une accumulation de la PrP^{sc} insoluble dans des dépôts (Head 2013). Le pool de PrP est donc diminué et la séquestration de la PrP^{sc} dans les agrégats pourrait expliquer la diminution de la concentration en PrP totale mesurée dans le LCS. D'autre part, nous avons également observé une **augmentation de la concentration de la PrP dans les MA**, qu'elles soient typiques ou atypiques. Ces données sont en accord avec les observations neuropathologiques qui montrent une augmentation de l'immunoréactivité de la PrP neuronale dans la MA (Voigtlander et al. 2001).

Au total, les performances de ce dosage de la PrP dans le LCS étaient bonnes avec une sensibilité et une spécificité équivalentes à celles de la P14-3-3. L'avancée majeure de ce travail a été également de démontrer que la **combinaison de marqueurs** pouvait permettre de drastiquement diminuer la proportion de mauvaise classification des patients du fait d'une mauvaise spécificité d'un test biologique. En effet, le dosage de la PrP totale combinée aux marqueurs biologiques classiques de la MA (protéine Tau totale et sa forme phosphorylée 181) dans un score composite permet de classer correctement 98.4% de nos patients et notamment ceux présentant un phénotype atypique (Dorey et al. 2015b).

Nous sommes en train de mener des études de validation de ce dosage de PrP totale, et ce notamment pour évaluer ces performances dans les **contextes de diagnostic différentiel des MCJ**. Nous nous intéressons notamment aux **encéphalites dysimmunes**. Il s'agit d'un groupe de maladies hétérogènes dans leurs présentations cliniques, leurs étiologies et leurs pronostics. Elles appartiennent au groupe des encéphalites limbiques, qui sont le plus souvent d'origine infectieuses, mais qui ont comme particularité de ne présenter ni fièvre, ni de pléiocytose importante, ni germe identifié dans le LCS. En revanche, on retrouve souvent des signes inflammatoires et la présence dans le sang ou le LCS d'anticorps dirigés contre des antigènes neuronaux (Graus et al. 2016). Les présentations cliniques typiques ne posent pas forcément de problème diagnostique. Mais certaines de ces encéphalites peuvent être accompagnées de signes neurologiques comme des crises d'épilepsies, des troubles du comportement (apathie, désinhibition, impulsivité...), des amnésies qui peuvent faire évoquer un TNC ou une MCJ (Geschwind et al. 2008, Chen et al. 2016). Les marqueurs de lyse comme la protéine Tau ou la P14-3-3 dans le LCS peuvent être positifs dans ces encéphalites, ce qui ajoute une difficulté supplémentaire pour le diagnostic. Dans le cadre de la thèse de Pharmacie d'un étudiant du service, nous avons mené **une étude rétrospective sur les cas de suspicions d'encéphalite dysimmunes reçus au laboratoire dans un cadre de diagnostic différentiel d'avec un TNC dégénératif**, sur la période 2012-2016. Notre cohorte finale comportait 43 patients dont le diagnostic retenu était une encéphalite dysimmune avec un échantillon de LCS encore disponible. Nous avons pu **montrer que le dosage de la PrP dans ce groupe était augmenté par rapport au groupe MCJ**. Nous avons également montré que ces augmentations étaient hétérogènes selon les types d'encéphalites (Thevenet 2017). Ce travail sur les marqueurs biologiques dans les encéphalites a pu être poursuivi dans le cadre d'une thèse de médecine à laquelle j'ai été associée (Lardeux 2019).

c) Détecter la PrPsc dans des tissus périphériques

Dans la symptomatologie des maladies à Prions, des altérations neurologiques périphériques sont associées à l'atteinte neurocognitive : myoclonies, syndrome pyramidal, dysesthésies... A l'époque de mon doctorat, peu de données étaient disponibles dans la littérature sur une éventuelle présence de la PrPsc dans les tissus périphériques des formes sporadiques ou génétiques de MCJ. Si quelques études immunohistochimiques rapportaient malgré tout la présence de PrPsc en périphérie, aucune étude biochimique n'en avait apporté la preuve (Goodbrand et al. 1995, Antoine et al. 1996, Hainfellner and Budka 1999). Pour affirmer la présence de la forme pathologique de la PrP dans les tissus périphériques, nous avons alors décidé **d'adapter et d'optimiser notre technique de caractérisation de la PrPsc cérébrale** par Western Blot aux particularités de ces tissus, notamment la très faible quantité de matériel à disposition. Dans cette **seconde partie de ma thèse**, nous avons alors pu démontrer la présence d'une PrPsc dans le nerf péronier d'un patient atteint d'une forme sporadique de MCJ (VV1). Cette protéine présentait un profil de résistance à la PK différente de celle présente dans le tissu cérébral. Chez les contrôles, aucun signal de PrP n'a été retrouvé dans ces tissus (Favereaux et al. 2003). Dans une deuxième étude, nous avons pu montrer la présence pour 1 des 3 cas d'une PrPres dans les nerfs périphériques de profil similaire à celle présente dans le tissu cérébral (Favereaux et al. 2004). On pouvait alors s'interroger sur la constance de l'envahissement périphérique dans les formes sporadiques de MCJ, ou bien mettre en cause la sensibilité peut être insuffisante de notre technique. Ces études ont été importantes car **parmi les premières à démontrer la dissémination de l'agent pathogène dans les tissus périphériques** dans les formes sporadiques de MCJ.

En parallèle de ces essais par Western Blot, nous avons évalué les **capacités d'un test ELISA à détecter la PrPsc dans les nerfs périphériques**. Ce test avait été développé par la société BioRad® pour le diagnostic des maladies animales et qui était kit le plus sensible du marché à l'époque. Nous avons **adapté le protocole notamment préanalytique aux particularités du tissu nerveux et avons pu montrer le potentiel de ce test pour cette application**. Ce travail a été mené dans le cadre de la thèse de Pharmacie d'une étudiante du service (Pinel 2010).

Dans la troisième partie de mon doctorat, je me suis attaché à améliorer la sensibilité des techniques disponibles. Nous avons alors utilisé la capacité de la **streptomycine à former des agrégats de PrPsc comme étape de concentration** avant détection par Western Blot. Son utilisation avait en effet permis de détecter avec une bonne sensibilité la PrPsc dans une étude de transmission

expérimentale de la tremblante des petits ruminants à différents modèles murins (Moussa et al. 2006).

Nous avons tout d'abord confirmé ces résultats et comparé cette technique utilisant la streptomycine à trois autres techniques bien documentées dans la littérature. La sensibilité analytique est très bonne pour la détection dans les tissus périphériques et équivalente à celle d'une technique de référence très sensible utilisant une précipitation à l'acide phosphotungstique (Wadsworth et al. 2001). Nous avons ensuite validé cette technique sur un panel de 98 patients atteints de différentes formes de maladies à Prions et 52 patients atteints de TNC dégénératifs avec exclusion de maladies à Prions. Nous avons obtenu une **sensibilité et une spécificité de la détection sur tissu cérébral de 100%**. Enfin, nous avons testé ce protocole sur une petite série de cinq amygdales obtenues par biopsie. Pour les amygdales, le **profil caractéristique de la PrPres** a été clairement mis en évidence chez les deux patients atteints de **nv-MCJ**, alors que les trois autres cas non nv-MCJ ne présentent pas de profil spécifique. Nous avons montré dans cette étude l'efficacité de la **streptomycine pour la détection de la PrPres dans de très petites quantités de tissus et la caractérisation des souches de PrPsc** (Quadrio et al. 2009).

Les perspectives à l'issue de ce travail étaient de pouvoir évaluer la capacité de la streptomycine à détecter la PrPsc dans les fluides biologiques. Ce travail a été réalisé pour partie en interne par l'équipe de recherche de BioMérieux dans laquelle j'ai effectué mon travail de doctorat.

Dans le cadre d'un travail international financé par la Fondation Alliance BioSecure (Prion Blood Confirm), nous avons comparé la **capacité de concentration de la PrPsc présente dans le sang de nv-MCJ par la streptomycine** avec 4 autres méthodes de précipitation. La détection était ensuite réalisée par Western Blot après une étape d'amplification de la PrPsc par PMCA pour « Protein Misfolding Cyclic Amplification ». Cette technique d'amplification repose, comme la RT-QuIC, sur le principe qu'une faible quantité de PrPsc mise en présence de PrPc dans des conditions opératoires précises et strictes est capable de lui imposer sa conformation altérée. On réalise alors des cycles successifs de sonication pour casser les agrégats puis de repos et d'agitation pour les multiplier et amplifier le signal (Saborio et al. 2001). En couplant cette étape à une détection par Western Blot, la sensibilité de ce dernier est alors très fortement augmentée, et suffisante pour détecter de très faibles quantités de PrPsc. Dans cette étude, la **streptomycine s'est avérée être aussi sensible que la technique finalement retenue de précipitation par le plasminogène** (Bougard et al. 2016).

d) Etude de transmission des souches animales et humaines

La transmission des maladies à prions animales à l'homme est normalement limitée par la barrière d'espèce. Cette barrière d'espèce peut être étudiée dans les modèles animaux par des expériences de transmission de tissu humain dans différentes espèces receveuses. On observe alors la survenue de la maladie chez le receveur, et l'on relève les caractéristiques de transmission en termes de temps de latence, taux de létalité ainsi que les caractéristiques lésionnelles de la PrP^{Sc} (intensité et dissémination spatiale des lésions, profil moléculaire de la PrP^{Sc}). Une souche atypique bovine, la L-BSE, a la capacité de se répliquer et de se transmettre dans des modèles murins humanisés sans barrière d'espèce (lignée Tg 650-129M), contrairement à la souche classique d'ESB (Beringue et al. 2008). De plus, les propriétés biochimiques de cette souche d'ESB après transmission dans les souris humanisées sont très proches de celles de certains phénotypes rares de MCJ sporadiques nommés MM2 (Asante et al. 2002). Ces données interpellent sur la nature réelle de l'origine de ces rares cas sporadiques MM2, d'évolution lente et pour lesquels les marqueurs biologiques sont peu sensibles. En effet, ces données suggèrent un potentiel **lien entre ces cas sporadiques atypiques de MCJ et des formes atypiques d'ESB**. Nous avons alors procédé à des études de transmission de souches humaines dans ces différents modèles murins et nous avons comparé les propriétés de ces souches à la souche L-BSE. Ces études ont confirmé le **fort pouvoir de zoonose de la souche L-BSE** du fait de l'absence de barrière d'espèce chez ces souris transgéniques humanisées. Si certaines caractéristiques biochimiques de cette souche sont très proches de la souche sporadique humaine MM2, les temps de survie et les propriétés de résistance à la PK sont néanmoins très différentes. Ces données suggèrent qu'il n'y **pas de liens entre cette souche L-BSE et les souches atypiques de MCJ MM2** (Jaumain et al. 2016).

3. Les marqueurs biologiques de la Maladie d'Alzheimer

Touchant environ 46 millions de personnes, les TNC dégénératifs représentent une préoccupation mondiale sur le plan de la santé publique. Avec l'amélioration de l'espérance de vie, la meilleure prise en charge des facteurs de risques cardiovasculaires et l'augmentation du niveau d'éducation, l'évolution de la prévalence semble exponentielle avec une estimation à l'horizon 2050 qui s'élèverait à environ 132 millions de personnes (Alzheimer'sDiseaseInternational 2015). La maladie d'Alzheimer compte pour environ 70% des TNC dégénératifs. Son diagnostic définitif reste neuropathologique mais d'énormes progrès sont apparus depuis une quinzaine d'année grâce au développement à la fois de marqueurs biologiques détectables dans le LCS et à ceux de l'imagerie dite amyloïde en tomographie par émission de positons (TEP). Les critères diagnostiques reposent en effet sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques, les tests neuropsychologiques et lorsque cela est possible, la présence de marqueurs du processus physiopathologique identifiés soit par imagerie soit dans le LCS (McKhann et al. 2011). La présence de ces marqueurs permet d'augmenter la conviction diagnostique chez un patient présentant un phénotype atypique (non amnésique par exemple), chez les malades jeunes ou dans les présentations complexes.

a) Les marqueurs sont le reflet des lésions neuropathologiques

Les marqueurs biologiques de la MA sont le reflet des lésions neuropathologiques cérébrales qui caractérisent la maladie. En effet, on retrouve au niveau cérébral une perte neuronale, une accumulation extracellulaire de dépôts de fibrilles amyloïdes sous forme de plaques et une accumulation intraneuronale de protéine Tau anormalement phosphorylée appelée Dégénérescences Neurofibrillaires (DNF). Ces dépôts peuvent suivre une progression stéréotypée dans différentes structures cérébrales, caractérisant des stades pour chaque types de lésions neuropathologiques (Kovacs and Budka 2010). La protéine Tau est une protéine intraneuronale associée au microtubule grâce à des régions répétées sur sa partie C-terminale (régions dites 3R ou 4R). Des phosphorylations dans ces régions répétées altèrent les interactions avec le microtubule et favorisent leur séparation et l'agrégation sous forme de DNF (Buee et al. 2000). Dans la MA, on estime que le ratio de phosphorylation de la protéine Tau est au moins trois fois supérieur à ce qui normalement observé (Wang et al. 2013). Les peptides amyloïdes sont issus du clivage protéolytique de la protéine APP par une succession d'enzymes, les α -sécrétase ou β -sécrétase puis une γ -sécrétase. La voie α -sécrétase conduit à la production de peptides neurotrophiques et anti-apoptotiques, à l'inverse de la voie de la β -sécrétase qui conduit à la formation des peptides hydrophobes et neurotoxiques, les peptides A β 1-40 et A β 1-42, ce dernier s'agrègeant

majoritairement dans les plaques (Puzzo and Arancio 2013). Par des méthodes d'analyse plus fines, une nouvelle voie de clivage a été décrite récemment faisant intervenir initialement une nouvelle sécrétase appelée « η -sécrétase », au niveau des acides aminés 504 et 505 de l'APP, puis le clivage se poursuivrait par l'action des α et β -sécrétases. Cette voie métabolique conduit notamment à la production d'autres peptides amyloïdes appelés $A\eta$ - α , synaptotoxiques, contrairement au peptide $A\eta$ - β , neurotrophiques (Willem et al. 2015).

Les marqueurs biologiques étiologiques mesurés dans le LCS sont donc de deux ordres : les marqueurs de la voie amyloïde et les marqueurs de la voie Tau. En pratique, pour la voie Tau deux marqueurs sont mesurés : la protéine Tau totale qui reflète la perte neuronale et une forme phosphorylée, généralement sur la thréonine en position 181, qui reflète les DNF. Pour la voie amyloïde, on mesure classiquement le peptide amyloïde $A\beta$ 1-42 dont la diminution de concentration reflète la séquestration de ce peptide dans les plaques (Wallin et al. 2006). Il s'est rapidement avéré que la mesure d'un seul peptide pour l'évaluation d'une voie aussi complexe que la voie amyloïde était incomplète et insuffisante en pratique quotidienne. La mesure d'un autre peptide, l' $A\beta$ 1-40, a alors été proposée afin d'améliorer les performances (Wiltfang et al. 2007).

Dans une étude rétrospective réalisée en 2014 sur notre cohorte clinique au laboratoire, nous nous étions aperçus que pour environ 25% des cas la mesure des protéines Tau totale et phosphorylée 181 associées au **seul peptide amyloïde $A\beta$ 1-42 ne permettait pas de porter une conclusion fiable**. Pour ces patients-là, **l'ajout de la mesure du peptide amyloïde $A\beta$ 1-40 a permis de nettement améliorer la concordance clinico-biologique** (Dorey et al. 2015a). Au-delà même de l'intérêt de l'utilisation du rapport entre les deux peptides, notre étude montrait une tendance à une augmentation de la production amyloïde chez les patients atteints de MA, reflétée par la valeur brute de la concentration d' $A\beta$ 1-40. Dans un objectif de coût-efficacité, nous utilisons depuis cette stratégie en deux temps au laboratoire.

b) La problématique préanalytique

Un point très important pour la pratique clinique et auquel notre laboratoire a beaucoup contribué au niveau international est la reconnaissance de **l'importance de la phase préanalytique pour la qualité des résultats de marqueurs mesurés dans le LCS**. Dans le cadre du projet Neuroscreen débuté en 2006, outre la production de nouveaux anticorps pour les différentes protéinopathies, une thématique du projet portait sur l'influence de la nature des surfaces plastiques

dans le design des kits immunométriques de dosages de marqueurs. Cela nous a conduit à nous interroger sur **l'impact de la qualité du tube de prélèvement de LCS sur les résultats des dosages** des protéines Tau totale et phosphorylée en 181 ainsi que des deux peptides amyloïdes A β 1-42 et A β 1-40. Nous avons tout d'abord testé 4 tubes différents en prélevant directement dans ces 4 tubes au lit du malade du LCS chez 12 patients. Les résultats obtenus ont montré que **l'impact était plus important pour les peptides amyloïdes que pour les protéines Tau et pouvait atteindre parfois jusqu'à 50% de variation**. Ces résultats ont été confirmés dans une deuxième étude dans laquelle 11 tubes différents ont été testés. Tous ces tubes étaient vendus par les fournisseurs comme étant des tubes de polypropylène (PP). L'analyse fine de la composition du plastique de ces tubes a montré qu'il s'agissait très majoritairement de copolymères PP-poly éthylène mais aucun lien n'a pu être monté entre une certaine composition et une variation dans les résultats du dosage (Perret-Liaudet et al. 2012a, Perret-Liaudet et al. 2012b). Ces travaux sont à la base des recommandations internationales concernant la nature du tube de prélèvement.

Ces résultats nous ont également conduits à mener une étude interlaboratoire pour estimer l'impact d'une harmonisation du tube de prélèvement entre nos différents laboratoires. Nous avons mené une étude rétrospective avant changement de tube puis collecté les données après changement du tube de prélèvement. Les résultats obtenus ont montré un **impact majeur sur les résultats**, et notamment sur la concentration d'A β 1-42, marqueur le plus influencé par la nature du plastique. Dans la pratique quotidienne, ce changement de protocole de prélèvement nous a imposé une **modification de notre seuil d'interprétation pour l'A β 1-42**, les autres marqueurs n'étant pas influencés de façon significative (Lehmann et al. 2014).

4. L'étude des associations de lésions neuropathologiques cérébrales

L'étude de grandes séries neuropathologiques a montré que très fréquemment les lésions neuropathologiques sont multiples. L'intensité et le stade de chaque pathologie n'est pour autant pas équivalente : très souvent, une protéinopathie majoritaire peut-être identifiée, en concordance avec le phénotype clinique (Kovacs et al. 2008, Rahimi and Kovacs 2014, Grau-Rivera et al. 2015). De plus, des études neuropathologiques de séries anatomiques dites « communautaires » ont également démontré la présence de lésions neuropathologiques, sans toutefois avoir une expression clinique associée (Bennett et al. 2006, Kovacs et al. 2013). Le rôle de ces lésions associées pose de ce fait question pour une expression clinique. Ces données doivent être prises en compte lors du

diagnostic clinique, et également pour tout développement de nouveau marqueur. C'est un point critique d'autant plus que le nombre d'examen neuropathologiques tend à diminuer depuis plusieurs années. Dans notre expérience, nous avons pu objectiver ces associations par l'examen neuropathologique d'un patient **atteint d'une maladie de Parkinson idiopathique et qui était également atteint d'une forme sporadique de MCJ** (Laurencin et al. 2014).

Nous nous sommes également intéressés aux éventuelles lésions associées aux lésions de PrPsc dans les formes génétiques de MCJ. Dans le cadre d'une collaboration avec une équipe hongroise (Pr G. Kovacs, Budapest), nous avons mené une **étude systématique de l'ensemble des lésions neuropathologiques dans une cohorte de 39 patients autopsiés et atteints d'une forme génétique de MCJ**. Des lésions associées de protéines Tau étaient présentes dans plus de 38% des cas. Nous avons alors développé une technique de caractérisation par Western blot des protéines Tau. Nous avons pu montrer qu'il existait **un profil moléculaire de protéine Tau phosphorylée particulier chez ces patients** atteints de MCJ génétique porteur du variant c.532G>A hétérozygote du gène *PRNP* (mutation dite E200K) (Kovacs et al. 2011). A noter que dans cette cohorte, nous avons retrouvé pour 15% des cas des lésions de type corps de Lewy, signant donc également la présence concomitante d'une α -synucléinopathie.

5. Identifier des marqueurs des DLFT-TDP43

a) Caractériser les variants génétiques liés aux DLFT - TDP43

On regroupe sous le terme de DLFT différents syndromes cliniques : une variante comportementale de la dégénérescence frontotemporale et des variants langagiers regroupés sous le terme d'aphasies primaires progressives (variant sémantique, variant non fluent / agrammatique et variant logopénique). Par ailleurs, les DLFT peuvent être associées à des pathologies motrices comme la paralysie supranucléaire progressive (PSP), la sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou encore le syndrome cortico-basal (SCB) (Irwin et al. 2014). L'hétérogénéité des DLFT se retrouve également sur le plan neuropathologique. On retrouve principalement dans les inclusions cérébrales la protéine TDP43, ou transactive response DNA binding protein 43 kDa, et la protéine Tau et dans une moindre mesure la protéine FUS « Fused in Sarcoma » et la protéine SOD « SuperOxyde Dismutase ». Une autre particularité de ces DLFT est une forte proportion de formes familiales, de l'ordre de 50%, avec plusieurs gènes impliqués dont par ordre de fréquence le gène *C9ORF72* (codant les protéines C9orf72), *GRN* (codant la progranuline) et *MAPT* (codant les protéines Tau)

(Pottier et al. 2016). A noter que les variants *GRN* et *C9ORF72* sont associés à une pathologie TDP43, contrairement aux variants *MAPT* qui sont associés à une pathologie Tau. Le diagnostic est probabiliste ou certain du vivant du patient uniquement en cas de variant génétique pathogène identifié. Pour les DLFT sporadiques, aucun marqueur biologique n'est actuellement disponible.

Nous avons développé dans le cadre du doctorat d'Anthony Fourier les **outils moléculaires pour mettre en évidence les variants sur les gènes *GRN* et *C9ORF72*** qui représentent à eux seuls environ 40% des DLFT génétiques. Les techniques sont conventionnelles pour le gène *GRN*, qui comporte principalement des variants non-sens et des micro-insertions ou délétions qui entraînent un décalage du cadre de lecture formant prématurément un codon Stop et entraînent une diminution de la production de la protéine (Pottier et al. 2016). La mutation sur le gène *C9ORF72* est constituée par une grande expansion d'un hexanucléotide (G_4C_2) dans une région non codante du gène. Ces répétitions peuvent être présentes jusqu'à plus d'un millier de fois. Seule la technique de Southern Blot permet d'estimer la taille de ces répétitions. Les mécanismes physiopathologiques de ces expansions sont actuellement débattus. Trois hypothèses sont principalement discutées : une perte de fonction de la protéine C9orf72, une toxicité induite par les transcrits d'ARNm formant des foci ou la formation de dipeptides toxiques à partir d'une traduction non conventionnelle de l'expansion en l'absence de codon initiateur ATG (Gendron and Petrucelli 2018). A l'issue du doctorat d'Anthony Fourier, **l'ensemble des techniques de biologie moléculaire nécessaires à ces explorations est aujourd'hui disponible au laboratoire.**

Pour évaluer un éventuel mécanisme d'haplo-insuffisance des expansions *C9ORF72*, nous avons mesuré les **concentrations de protéine C9orf72 dans le plasma d'une cohorte de patients porteurs ou non porteurs de cette expansion.** Aucune différence de concentration n'a été observée entre les deux groupes (Fourier et al. 2018c). Ces résultats préliminaires obtenus sur 33 patients **ne confortent donc pas cette hypothèse d'haplo-insuffisance.** Cependant, dans la mesure où la transcription du gène *C9ORF72* conduit à 3 transcrits et 2 protéines matures, décrire le profil moléculaire et caractériser la répartition de ces isoformes en lien avec la pathologie semble une piste plus pertinente qu'un dosage pondéral de l'ensemble des isoformes.

b) Marqueurs biologiques du LCS dans le diagnostic des DLFT

Selon les bonnes pratiques de prescription des biomarqueurs de la MA, ces examens doivent être réalisés dans le cadre de présentations cliniques atypiques ou chez les malades jeunes (moins de 65 ans) (HAS 2011). Cela pose de fait la question du diagnostic étiologique des autres TNC dégénératifs lorsque les marqueurs biologiques ne sont pas contributifs du diagnostic de la MA.

En l'absence de marqueur validé, nous avons évalué différents marqueurs du LCS dans une cohorte bien caractérisée. Les marqueurs étudiés étaient : **les marqueurs de la MA, les chaînes légères de neurofilaments (NfL) et la protéine TDP43 totale.**

➤ *Les biomarqueurs de la MA*

La cohorte d'échantillons de LCS sélectionnée provenait de prélèvements de patients réalisés dans un cadre diagnostique et dont le diagnostic finalement retenu avait été établi au cours de réunions de concertations pluridisciplinaires. Nous avons **4 groupes de patients** : un groupe de patients atteints de troubles psychiatriques (n=20) ; un groupe de patients atteints de variants comportementaux de DLFT confirmés par génétique (n=24) ; un groupe de patients atteints de variant langagier sémantique ou de forme sporadique de SLA et constituant donc un groupe « TDP43 » non comportemental (n=41) ; un dernier groupe atteint de PSP constituant donc un groupe « DLFT-Tau » probable sur le plan neuropathologique (n= 19).

Nous avons pu ainsi confirmer que les patients DLFT ne présentaient pas de profil biologique évocateur d'une MA. Utilisée isolément, la **protéine Tau totale présente le meilleur pouvoir discriminant entre les groupes** et on peut observer des variations d'augmentation en fonction des sous types de DLFT. En combinaison, le **rapport entre la forme totale (Tau) et la forme phosphorylée 181 (pTau) de la protéine Tau présentent également de très bonnes performances.** Un rapport pTau/Tau inférieur à 0,17 est ainsi plutôt en faveur d'un diagnostic de DLFT, et 75% des patients atteints de troubles psychiatriques primaires présentent des concentrations supérieures à ce seuil.

➤ *Les chaînes légères de neurofilaments (NfL)*

Les neurofilaments sont des protéines très abondantes du cytosquelette de l'axone, et plus particulièrement ceux qui sont myélinisés. Ce sont des hétéropolymères dont on peut identifier 4 sous-unités : les chaînes légères (NfL), les chaînes lourdes (NfH), les chaînes moyennes (NfM) et les α -

internexines. Les NfL sont essentiels à la croissance axonale, au maintien du calibre de l'axone et à la bonne transmission des impulsions électriques (Yuan et al. 2012). En cas de destruction axonale, et ce qu'elle qu'en soit la cause, il se produit une libération des NfL, qui sont alors détectables dans le LCS et le sang (Zetterberg and Blennow 2016). De très nombreuses études ont été menées pour évaluer ces dosages dans un contexte de TNC, et également dans le cadre de l'évaluation des lésions suite à des traumatismes crâniens. Dans toutes ces pathologies, les concentrations de NfL sont augmentées de façon significative (Yuan et al. 2017).

Nous avons pu montrer, conformément à la littérature, que la concentration des NfL était bien significativement augmentée dans les DLFT par rapport aux contrôles. Nous avons également pu montrer que les **concentrations sont différentes selon la nature du variant génétique : les concentrations les plus élevées sont observées chez les patients porteurs de variants pathogènes GRN que C9ORF72**. Bien que la protéinopathie théorique soit la TDP43 dans les deux cas, on observe donc en périphérie un profil de lyse différent, qui souligne le fait que si la protéine Tau et les NfL sont deux marqueurs de lyse, ils ne sont pas équivalents. Cela souligne également le fait que pour une même protéinopathie, les profils biologiques peuvent être différents. Nous avons également montré **que les concentrations les plus faibles sont observées dans le groupe des pathologies psychiatriques primaires**.

Ces résultats ont fait l'objet de deux **présentations affichées aux Journées de Neurologie de Langue Française (JNLF) et ont les deux fois remportés le prix de la SFN** (Fourier et al. 2018b, Fourier et al. 2019b). Ces résultats sont également actuellement soumis pour publication (Fourier et al. Submitted).

➤ *La protéine TDP43 totale*

La protéine TDP43 a été identifiée en 2006 comme la principale protéine agrégée dans les inclusions ubiquitine positives, tau et alphasynucléine négatives dans le système nerveux des patients souffrant de DLFT ou de SLA (Neumann et al. 2006). Elle effectue des navettes entre le noyau (sa localisation préférentielle) et le cytoplasme d'une cellule grâce à des signaux d'exportation cellulaire (NES) ou de localisation nucléaire (NLS). Elle peut subir différentes modifications post traductionnelles comme des coupures, une ubiquitination, une phosphorylation. La présence de fragments C-terminaux de 25 kDa et 35 kDa est l'une des principales modifications observées dans les agrégats de TDP43 (Buratti 2018). Des phosphorylations peuvent survenir et constituent la

seconde modification majeure observée en pathologie. Ce sont plus particulièrement les phosphorylations en position 403/404 et 409/410 qui sont observées (Hasegawa et al. 2008). Peu d'études rapportent son dosage dans les fluides biologiques, et elles concernent surtout le champ de la SLA (Kasai et al. 2009, Junttila et al. 2016).

Les résultats de notre étude sur cette cohorte de patients bien caractérisés confirment les résultats de la littérature. **L'augmentation très discrète de la TDP43 est observée principalement en cas de troubles moteurs, isolés ou en association avec des troubles cognitifs** (Fourier 2018).

c) Profils protéiques de la TDP43 pour la caractérisation des DLFT-TDP

Le dosage pondéral de TDP43 s'avère, en l'état des outils actuellement disponibles, peu intéressant pour caractériser les DLFT-TDP. Mais comme on a pu le voir pour les maladies à Prions, plus que le dosage pondéral, le plus pertinent est finalement de s'intéresser aux profils moléculaires des protéines impliquées dans ces pathologies. Nous avons choisi de développer **l'analyse des profils qualitatifs de la TDP43 par la technologie Simple Western**, automatisée et miniaturisée. Ce travail a été réalisé par Anthony Fourier dans sa dernière partie de doctorat.

Nous avons pu mettre en évidence des **fragments tronqués de TDP43 dans le tissu cérébral de patients DLFT-TDP43 certains**, dont le diagnostic était confirmé par immunohistochimie. Ces profils étaient concordants avec ceux obtenus par une technique Western Blot, considérée comme la technique de référence. Ils étaient également concordants avec ceux rapportés dans la littérature.

Dans le LCS, les profils observés n'ont pas permis d'identifier spécifiquement la TDP43. En effet, nous avons montré que les bandes observées étaient en fait probablement des interférences de l'albumine ou des immunoglobulines du fait d'anticorps insuffisamment spécifiques.

Enfin, nous avons étudiés les profils de TDP43 dans différents éléments figurés du sang. **Le profil de TDP43 obtenu dans les culots plaquettaires est identique à celui observé dans les surnageants de cultures cellulaires productrices de TDP43** et comparable à celui obtenu dans le tissu cérébral (Fig. 6).

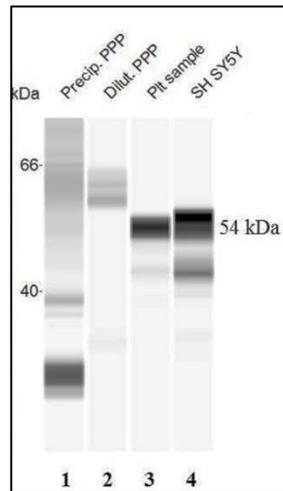


Fig 6 : Profil de TDP43 dans différents milieux plaquettaires et dans un surnageant de culture cellulaire productrice de TDP43 agrégée (Fourier et al. 2019a)

Grâce à l'utilisation de la technologie Simple Western, nous avons pu à la fois obtenir **un profil et une quantification du signal d'intérêt**. La bande d'intérêt et la quantification du signal étant robuste, une étude de validation clinico-biologique peut être maintenant être envisagée pour évaluer le potentiel intérêt clinique de ce marqueur (Fourier et al. 2019a).

IV. Projets actuels et perspectives

1. Améliorer le diagnostic différentiel des TNC dégénératifs : la problématique des troubles psycho-comportementaux

Un résultat indirect très important obtenu au cours des différents travaux de recherche clinique menés précédemment concerne **la difficulté de réaliser un diagnostic étiologique des troubles psycho-comportementaux.**

En effet, les TNC dégénératifs peuvent parfois débiter par des manifestations psycho-comportementales isolées mimant des phénotypes psychiatriques, et conduisant à des erreurs diagnostiques (Woolley et al. 2011). Les symptômes psychotiques ont longtemps été considérés comme rares voire incompatibles avec le diagnostic de DLFT. Mais depuis une dizaine d'année, il a été montré que chez 25 à 50% des patients DLFT porteurs de variants pathogènes *GRN* ou *C9ORF72*, se manifestent des idées délirantes ou des hallucinations complexes compatibles avec les critères du DSM-V (Le Ber et al. 2008, Snowden et al. 2012). Par ailleurs, les échelles d'évaluation et les critères diagnostiques des TNC sont souvent inopérants chez les patients souffrants de troubles psychiatriques chroniques comme la schizophrénie ou la maladie bipolaire. En effet, la maladie bipolaire et la schizophrénie se manifestent par des déficits cognitifs touchant en particulier la mémoire de travail, les fonctions exécutives, et la cognition sociale (Bora 2016). Lorsque ces patients présentent une involution cognitive, il est souvent difficile de déterminer si le tableau observé est d'origine psychiatrique ou en lien avec une étiologie neurodégénérative surajoutée. **Ces situations problématiques et atypiques sont régulièrement rencontrées dans les consultations mémoires aussi bien en psychiatrie qu'en neurologie.** Actuellement, seuls les suivis réguliers dans la durée permettent parfois de redresser avec retard le diagnostic. En effet, aucun marqueur biologique n'est disponible ni pour l'une ni pour l'autre des étiologies.

Au cours de notre étude évaluant l'intérêt des Nfl pour le diagnostic des DLFT, nous avons pu observer que les patients choisis comme groupe contrôle et **atteints de pathologies psychiatriques primaires avaient les concentrations les plus basses** (Fourier et al. 2018b, Fourier et al. Submitted). Une concentration élevée pourrait alors éliminer une pathologie psychiatrique primaire dans un contexte de doute diagnostique. Les **Nfl pourraient être alors un marqueur prometteur d'exclusion d'une pathologie dégénérative** dans ces présentations psychiatriques difficiles. De plus, récemment,

le dosage des NfL dans le plasma a été développé sur une technologie innovante permettant d'atteindre les très faibles concentrations sanguines (Gisslen et al. 2016).

Ainsi, nous voulons **établir les performances du dosage des NfL plasmatiques pour le diagnostic différentiel des troubles psycho-comportementaux d'origine psychiatrique ou neurologique**. Pour réaliser cette étude, **nous avons obtenu en juin 2019 un financement de deux ans du Comité pour la Recherche du CHS Le Vinatier (Etude NFL-COG, CSRL09) pour réaliser ce travail**. Cette étude est multicentrique entre des services experts de psychiatrie et de neurologie de Lyon. Nous testerons également d'autres marqueurs sanguins plus en lien avec la physiopathologie des DLFT comme la TDP43 ou UCHL1. Si les résultats sont encourageants, nous envisageons de proposer une étude clinique de plus large envergure type PHRC pour valider ce travail sur de plus grandes cohortes.

2. Caractériser les profils moléculaires des protéines agrégées TDP43 et Tau

La caractérisation des profils moléculaires des protéines agrégées est un point clé pour la description des souches des protéines impliquées dans les différentes protéinopathies. Dans le cas des maladies à Prions par exemple, les lésions neuropathologiques sont très bien corrélées à la fois avec les différents types de PrPsc, caractérisés par leur profil moléculaire et leur caractéristiques biochimiques, et avec les phénotypes cliniques (pour revue (Baiardi et al. 2019)). Pour les autres protéinopathies, les classifications neuropathologiques font état de très nombreux types d'agrégats que l'on ne peut pas toujours relier à une conformation ou une isoforme particulière de la protéine impliquée (Kovacs and Budka 2010).

Un des enjeux majeurs pour la caractérisation de ces protéines est **la disponibilité d'anticorps de bonne qualité, affins et les plus spécifiques possibles des formes pathologiques**. Dans le domaine des DLFT, ces anticorps ne sont pas satisfaisants. En effet, les plus utilisés et décrits pour la TDP43 sont généralement anti protéine totale et pour les protéines Tau, les anticorps spécifiques des isoformes 3R et 4R ne sont pas très sensibles. Grâce à une collaboration de longue date avec la société allemande de bioréactifs Roboscreen® (Leipzig ; Allemagne), **nous avons déjà pu évaluer de nouveaux clones anti-TDP43** dans le travail de doctorat d'Anthony Fourier. Les premiers résultats étaient prometteurs mais de nombreuses optimisations sont toutefois nécessaires. Pour la poursuite de ce travail, je co-encadre le travail de doctorat de Jean Escal, commencé en novembre 2018 à l'Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé (EDISS).

Son projet est donc d'optimiser les premiers clones déjà sélectionnés et en parallèle de **développer de nouveaux anticorps plus spécifiques des formes de TPD43 impliquées dans la pathologie** telles que des formes tronquées ou phosphorylées. Ce travail est réalisé par Jean Escal pour partie en Allemagne dans les laboratoires dédiés à ces activités puisqu'il est nécessaire de réaliser de nouvelles immunisations de souris avec du matériel biologique ou des peptides de synthèse plus proches des formes pathologiques. Des anticorps anti protéine Tau seront également produits en parallèle. Ces nouveaux anticorps seront évalués à Lyon sur des tissus de patients bien caractérisés sur le plan neuropathologique.

Ils pourront alors être utilisés pour mieux **appréhender les modifications qualitatives et quantitatives de la TDP 43 chez les malades**. Cela nous permettra d'étudier les corrélations entre les types de lésions neuropathologiques et les modifications post traductionnelles associées. En parallèle, ce travail pourra être initié pour les DFLT-Tau, si certains clones s'avèrent prometteurs.

3. Caractériser les expansions *C9ORF72*

Les mutations identifiées sur le gène *C9ORF72* sont des **répétitions en très grand nombre d'un hexanucléotide (G₄C₂) dans une région non codante** du gène. La taille normale de cette répétition est comprise entre 2 et 20 dans la population générale, 30 répétitions (G₄C₂) étant généralement considérée comme le seuil pathologique. Toutefois, les patients porteurs de cette expansions et atteints de DLFT ou de SLA présentent en général plusieurs centaines voire plusieurs milliers de répétitions (G₄C₂) (Van Mossevelde et al. 2017). Les porteurs d'expansions de plus petite taille (de l'ordre de 28-40) seraient eux à risque de développer d'autres syndromes neurologiques comme par exemple des syndromes parkinsoniens atypiques (Nuytemans et al. 2013). Le phénotype et l'âge de survenue des patients atteints de DLFT et porteurs d'expansions (G₄C₂) est très variable, les corrélations entre la taille de l'expansion et le phénotype ne sont pas encore clairement établies, ce qui suggère la présence de facteurs modulateurs non encore identifiés.

A l'heure actuelle, **seule la technique de Southern Blot est aujourd'hui capable d'estimer la taille de la répétition** (Beck et al. 2013). Cette technique est très spécifique et sensible. Cependant, elle est aussi totalement manuelle, longue (plusieurs jours) et nécessite la mise en jeu de radioactivité. De plus, elle n'est pas du tout standardisée entre les laboratoires, ce qui peut rendre difficile la comparaison des données de la littérature (Akimoto et al. 2014). Enfin, le séquençage de ce type d'expansion n'étant pas possible avec les techniques de PCR conventionnelles, la nature

précise de l'expansion n'est pas connue. Or, dans d'autres pathologies à expansion, il a été montré que la séquence répétée pouvait être interrompue par d'autres motifs eux-mêmes répétés qui pouvaient jouer le rôle de modulateur du phénotype (Santoro et al. 2013).

Depuis quelques années sont apparues des technologies de séquençage d'ADN de 3^{ème} génération, sans amplification préalable, que l'on appelle aussi « séquençage simple molécule » (« single molecule sequencing ») (van Dijk et al. 2018). Ces technologies permettent de s'affranchir des difficultés des techniques conventionnelles pour séquencer des fragments d'ADN répétés de très nombreuses fois et riche en GC comme l'expansion du gène *C9ORF72*. Dans la continuité des travaux de doctorat d'Anthony Fourier, nous avons obtenu un financement interne aux HCL pour **réaliser une étude de ces expansions en utilisant ces technologies séquençage de 3^{ème} génération**. Par cette technique, nous pourrions connaître le nombre exact de répétitions, leur séquence précise et leur profil de méthylation, ces facteurs ayant été décrits comme des facteurs modificateurs pour d'autres pathologies avec la présence de grandes expansions de nucléotides.

4. Caractériser les souches de protéines pathologiques grâce à leurs caractéristiques *prion-like*

Les protéines impliquées dans ces TNC dégénératifs partagent cette caractéristique de propagation de proche en proche, comme cela a été décrit pour la physiopathologie des maladies à Prions. **On parle de caractéristiques *prion-like***. On peut identifier **deux notions dans ce concept : la propagation, ou *spreading*, et le recrutement, ou *seeding***.

La propagation correspond au phénomène de dissémination de cellules à cellules, caractérisée par les différents stades neuropathologiques, aussi bien sur le plan topographique que temporel. Pour que ce phénomène de propagation puisse se réaliser, une étape de recrutement (ou d'initiation) dite de *seeding* est au préalable nécessaire (Brettschneider et al. 2015).

Le mécanisme qui sous-tend cette première étape d'initiation, correspondant à la conversion d'une forme soluble de la protéine en une forme mal conformée, généralement insoluble et oligomérique, n'est actuellement pas bien compris. Ensuite, selon la théorie du modèle (« template »), cette protéine mal conformée interagit directement avec une protéine native et lui impose sa conformation. Le phénomène se propage ensuite de proche en proche.

Pour **étudier ce phénomène de seeding puis de propagation de la TDP43**, nous avons initié des travaux en collaboration avec le Dr P. Leblanc (Institut NeuroMyoGène, CNRS UMR5310 - INSERM U1217, Université de Lyon), qui a obtenu un financement de l'ARSLA (Association pour la recherche sur la SLA) pour mener à bien cette étude. Le principe repose sur l'utilisation de lignées cellulaires HEK293, SHSY5Y et U251MG indicatrices de la présence de la formation d'oligomères TDP-43 (détection de l'activité luciférase) lorsque ces dernières sont mises en contact avec des milieux biologiques porteurs de formes pathologiques de protéine TDP-43. Ainsi, les échantillons de patients vont être testés sur ces modèles cellulaires et la présence d'agrégats pourra être visualisée par la mesure de l'activité de la luciférase.

La propriété *prion-like* d'amplification de la PrP a été utilisée pour développer des tests de détection de cette protéine dans différents tissus et fluides biologiques. La première technique d'amplification décrite, la PMCA, était très longue (plusieurs jours d'amplification), très lourde à réaliser (plusieurs cycles de rechargement en matrice d'amplification) et très délicate à maîtriser. L'optimisation de cette technique a conduit à **l'émergence de la RT-QuIC**, qui a également pu être adaptée à d'autres protéines et plus particulièrement l'A-syn (Fairfoul et al. 2016). Un avantage majeur de cette technique par rapport à la PMCA réside dans son **système très simple de monitoring du signal dans un lecteur de fluorescence en microplaque**. Le principal désavantage est l'utilisation d'une très grande quantité de protéine recombinante, dont la qualité est critique pour le bon fonctionnement du système.

Nous avons **commencé à développer une expertise dans cette technologie spécifique d'amplification par RT-QuIC** grâce au travail de Master 2 Recherche de Flora Kackzorowski. Nous avons choisi de débiter ce travail sur la thématique des **α -synucléinopathies** car nous disposons au laboratoire de protéine A-syn recombinante provenant de plusieurs fournisseurs. Nous avons pu fixer des conditions opératoires qui permettent de détecter une **amplification d'A-Syn à partir d'un échantillon de tissu cérébral d'un patient atteint de DCL**. La confirmation par microscopie électronique du signal observé en RT-QuIC conforte la validité de ces premiers résultats. Notre objectif est maintenant de confirmer ces résultats et de tester ces protocoles pour **caractériser les souches d'A-Syn** présentes dans différentes α -synucléinopathies. La maîtrise de cette technologie nous permettra également de l'adapter progressivement aux autres protéinopathies afin de disposer d'outils de caractérisation des souches pour l'ensemble des protéines impliquées dans les TNC dégénératifs.

5. Conclusions

Le diagnostic étiologique des TNC est aujourd'hui encore très difficile en pratique quotidienne du fait de phénotypes cliniques similaires bien que les protéines impliquées dans les lésions soient en réalité de natures différentes, de l'absence de marqueurs pour un grand nombre d'entre eux et de la fréquence élevées de co-lésions protéiques au niveau cérébral.

La récente initiative d'harmonisation de la classification d'une pathologie TDP-43 limbique associée à des syndromes amnésiques hippocampiques vient souligner ces difficultés : ces patients étant auparavant classés fréquemment comme atteints de MA alors que l'on retrouve au niveau cérébral une pathologie TDP43 (Nelson et al. 2019). Un autre cas récent a également mis en lumière cette problématique d'identification des souches. En effet, jusqu'à présent, seuls les patients porteurs d'un génotype Méthionine/Méthionine au codon 129 du gène *PRNP* avaient été identifiés comme cliniquement susceptibles à la souche nv-MCJ. Or, un patient porteur d'un génotype Méthionine/Valine et classé comme un cas typique sporadique de MCJ sur les critères cliniques s'avère en réalité être une forme nv-MCJ après examen neuropathologique des lésions et du profil moléculaire de la PrPsc (Mok et al. 2017). **Disposer d'outils permettant une caractérisation précise de l'ensemble des souches protéiques impliquées dans ces TNC apparaît donc comme primordial.**

Mon expérience dans le domaine des maladies à Prions est un atout pour la compréhension des altérations protéiques impliquées dans les autres protéinopathies que sont les TNC dégénératifs. **Le travail que je souhaite mener s'articule donc principalement autour de deux axes complémentaires** : l'étude des profils moléculaires des protéines agrégées d'une part et l'étude des caractéristiques d'amplification / seeding de ces protéines d'autre part. Ces travaux permettront de **mieux comprendre la complexité protéique, d'identifier et caractériser des souches protéiques en lien avec les lésions histologiques, le génotype quand cela est pertinent et bien sûr le phénotype clinique.**

Je souhaite pouvoir mener ce projet de recherche translationnelle dans le but de proposer un panel de marqueurs diagnostiques utilisables en pratique clinique pour des maladies qui aujourd'hui n'en disposent pas. La convergence entre mon environnement hospitalier et mon équipe de recherche me permettront de mener à bien ces projets.

V. Sélection d'articles illustrant mon parcours

1. Streptomycine et caractérisation des souches de PrPsc

Rapid diagnosis of human prion disease using streptomycin in tonsil and brain tissues.

Isabelle Quadrio, Séverine Ugnon-Café, Maryline Dupin, Guillaume Esposito, Nathalie Streichenberger, Pierre Krolak-Salmon, Anne Vital, Jean-François Pellissier, Armand Perret-Liaudet and Hervé Perron.

Laboratory Investigation, 2009 Apr;89(4):406-13. [Epub 2009 Feb 2]

Cet article correspond à la partie d'innovation technologique réalisée pendant mon travail de doctorat. Le principal enjeu clinique était à l'époque (2004-2008) d'identifier avec précision la PrPsc dans des tissus périphériques tout en étant capable d'en décrire la souche. En effet, la souche nv-MCJ a la particularité d'envahir les tissus lymphoïdes périphériques avant de se disséminer au niveau central, ce qui engendre des risques différents des formes sporadiques classiques, notamment sur le plan sanguin. Nous avons donc développé une technique utilisant de la streptomycine comme agent de précipitation de la PrPsc, qu'elle soit cérébrale ou périphérique (amygdales), suivie d'une détection par Western Blot classique. Cette technique s'est avérée aussi sensible que la technique de référence à l'acide phosphotungstique et très efficace sur de petites quantités de tissu donc bien adapté aux tissus périphériques. Le profil protéique de la PrPres était bien conservé : les différentes souches humaines étaient tout à fait identifiables. De plus, cette technique était bien plus robuste et rapide que la technique de référence par ultracentrifugation.

2. Lésions neuropathologiques dans les formes génétiques E200K de MCJ

Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy.

Kovacs GG, Seguin J, **Quadrio I**, Höftberger R, Kapás I, Streichenberger N, Biacabe AG, Meyronet D, Sciot R, Vandenberghe R, Majtenyi K, László L, Ströbel T, Budka H, Perret-Liaudet A.

Acta Neuropathol. 2011 Jan;121(1):39-57. [Epub 2010 Jul 1]

Les formes génétiques de MCJ représentent environ 8 à 10% de l'ensemble des cas de MCJ, se transmettent sur un mode autosomique dominant et de nombreux variants pathogènes ont été rapportés sur le gène *PRNP*. Sur le plan phénotypique, elles sont très fréquemment identiques aux formes sporadiques. La plus fréquente des mutations est le variant c.532G>A hétérozygote (E200K). Dans cette étude multicentrique, nous avons décrits les phénotypes cliniques et de façon systématique les co-lésions neuropathologiques chez 39 patients porteurs de cette mutation et originaires de 4 pays européens. Nous avons pu ainsi décrire un profil protéique de la PrPres spécifique de ces formes E200K et un profil lésionnel spécifique notamment dans le cervelet. Les co-lésions sont très fréquentes et concernent plus particulièrement l'A-syn, des phosphorylations atypiques de Tau que nous avons pu confirmer par le profil moléculaire de Tau et les dépôts amyloïdes. Ces particularités sont importantes car elles doivent faire suspecter une forme génétique de MCJ chez un patient auparavant considéré comme atteint d'une forme sporadique pour qui une recherche génétique n'aurait pas été réalisée.

3. Profil des biomarqueurs du LCS dans une présentation focale de MA

CSF biomarkers in posterior cortical atrophy.

Seguin J, Formaglio M, Perret-Liaudet A, Quadrio J, Tholance Y, Rouaud O, Thomas-Anterion C, Croisile B, Mollion H, Moreaud O, Salzmann M, Dorey A, Bataillard M, Coste MH, Vighetto A, Krolak-Salmon P.

Neurology. 2011 May 24; 76(21):1782-8. Epub 2011 Apr 27.

Avec le développement de l'utilisation des biomarqueurs de la MA dans le LCS, il devenait possible d'identifier spécifiquement cette étiologie dans les différents phénotypiques des TNC dégénératifs. Les Atrophies Corticales Postérieures (ACP) sont précisément des syndromes neurologiques dont l'étiologie est multiple et pour lesquelles l'identification de la protéinopathie n'est pas toujours facile au stade précoce. On retrouve principalement la MA, la DCL, les syndromes cortico-basaux (SCB) et la MCJ (variant Heidenhain). Nous avons étudiés les profils LCS de 22 patients atteints d'ACP et bien caractérisés sur le plan clinique. Nous avons ainsi pu montrer que la plus fréquente des étiologies est de loin la MA, de l'ordre de 90% des cas. A l'inverse, les présentations cliniques motrices évocatrices de SCB ne sont pas associées à un profil évocateur d'une MA.

4. Nature des tubes et variations des dosages de biomarqueurs dans le LCS

Impact of harmonization of collection tubes on Alzheimer's disease diagnosis.

Lehmann S, Schraen S, Quadrio I, Paquet C, Bombois S, Delaby C, Dorey A, Dumurgier J, Hirtz C, Krolak-Salmon P, Laplanche JL, Moreaud O, Peoc'h K, Rouaud O, Sablonnière B, Thouvenot E, Touchon J, Vercruyse O, Hugon J, Gabelle A, Pasquier F, Perret-Liaudet A.

Alzheimers Dement. 2014 Oct;10(5 Suppl):S390-S394.e2. Epub 2013 Oct 23.

Dans le cadre du projet Neuroscreen débuté en 2006, nous avons identifié que la nature du plastic des tubes de prélèvement était un facteur très important de variabilité des résultats de dosages des biomarqueurs dans le LCS. Dans le cadre d'une étude nationale multicentrique, nous avons évalué l'impact de l'harmonisation du tube de prélèvement du LCS sur les seuils utilisés par nos différents laboratoires pour l'interprétation des résultats de dosages. Le peptide amyloïde A β 1-42 est le plus impacté par le changement de tube : sa concentration augmentait d'environ 40% avec le nouveau tube. Nous avons ainsi pu définir de nouveaux seuils harmonisés entre les différents sites.

5. Nouvelle technologie pour la détection de la P14-3-3 dans le LCS

Detection of CSF 14-3-3 Protein in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Patients Using a New Automated Capillary Western Assay.

Fourier A, Dorey A, Perret-Liaudet A, Quadrio I.

Mol Neurobiol. 2018 Apr;55(4):3537-3545. doi: 10.1007/s12035-017-0607-2. Epub 2017 May 16.

La protéine P14-3-3 reste un marqueur de choix pour le diagnostic des MCJ. La technique de référence reste son identification par Western Blot. Cependant, cette technique est lourde à mettre en œuvre, longue et dépend de l'habileté technique du personnel. Malgré tout, dans les contextes de fortes protéinorachies, le profil en Western Blot est perturbé (décalage des bandes d'intérêt) ce qui permet d'éviter certains faux positifs rendus par les techniques ELISA. Devant la forte augmentation de notre activité hospitalière, nous voulions cependant optimiser cette technique manuelle. Nous avons alors développé une technique d'identification de la P14-3-3 sur une plateforme haut débit, miniaturisée et automatisée d'analyse des protéines apparentée au Western Blot. Cette nouvelle technique, le Simple Western, a donné d'excellents résultats, similaires à la technique de référence. Elle est depuis utilisée en routine au laboratoire.

6. Détection de la PrP dans le LCS pour le diagnostic différentiel des MCJ

Association of Cerebrospinal Fluid Prion Protein Levels and the Distinction Between Alzheimer Disease and Creutzfeldt-Jakob Disease.

Dorey A, Tholance Y, Vighetto A, Perret-Liaudet A, Lachman I, Krolak-Salmon P, Wagner U, Struyfs H, De Deyn PP, El-Moualij B, Zorzi W, Meyronet D, Streichenberger N, Engelborghs S, Kovacs GG, **Quadrio I.**

JAMA Neurol 2015 Mar 1;72(3):267-75. doi: 10.1001 Epub 2015 Jan 5

Les phénotypes classiques des TNC dégénératifs ne posent en général pas de problème diagnostic. Ce n'est pas le cas des présentations atypiques, dans lesquelles les marqueurs biologiques manquent de spécificité et peuvent ajouter à la confusion diagnostic. Dans le cadre d'une collaboration européenne, nous avons développé un test ELISA très sensible et spécifique de la forme humaine de PrP, capable d'atteindre les faibles concentrations du LCS. Nous avons alors mené une étude internationale sur des cas confirmés par autopsies de MA et de MCJ et des patients atteints de forme probable de MA d'aggravation rapide pouvant suggérer un diagnostic de MCJ. Le dosage de la PrP dans le LCS s'avère être un bon marqueur diagnostique de MCJ et surtout un très bon marqueur pour le diagnostic différentiel des formes atypiques de MA. Sur le plan plus physiopathologique, la diminution de la concentration en PrP totale observée dans les MCJ pourrait s'expliquer par la séquestration de cette protéine dans les agrégats cérébraux.

7. Dosage des protéines C9orf72 dans les DLFT génétiques

C9orf72 protein plasmatic concentrations are similar between C9ORF72 expansion carriers and non-carriers in frontotemporal dementia.

A. Fourier, M. Formaglio, M. Sauvée, A. Perret-Liaudet, P. Latour, M. Bost, I. Quadrio
Dement Geriatr Cogn Disord. 2018 Sep 27;46(3-4):180-185. doi: 10.1159/000492963

Les expansions répétées (G₄C₂) présentes sur une partie non codante du gène *C9ORF72* sont les mutations les plus fréquemment rencontrées dans les DLFT. Le mécanisme physiopathologique associé n'est pas encore bien compris. Nous avons voulu explorer une des hypothèses avancées, l'haplo-insuffisance, qui conduirait alors à une diminution de la quantité de protéine produite. Pour cela, nous avons mesuré la concentration en protéine c9orf72 totale dans le plasma de patients atteints de DLFT porteurs et non porteurs de cette expansion. Les premiers résultats obtenus n'ont pas montré de différence de concentration entre nos deux groupes de patients, ce qui ne confortait pas cette hypothèse.

8. Identification d'un profil de TDP43 dans les plaquettes

Development of an automated capillary nano-immunoassay - Simple Western assay - to quantify total TDP43 protein in human platelet samples.

A. Fourier, J. Escal, E. Bernard, I. Lachman, A. Perret-Liaudet, P. Leblanc, **I. Quadrio**

Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019 Jan;411(1):267-275. doi: 10.1007/s00216-018-1437-4. Epub 2018 Oct 29.

Dans les protéinopathies, les protéines agrégées sont des protéines physiologiques dont le changement de conformation altère la stabilité et favorise la tendance à l'agrégation. Le dosage pondéral de ces isoformes pathologiques est souvent difficile du fait de la proximité entre les formes physiologiques et pathologiques d'une part et de leur faible concentration dans les fluides biologiques d'autre part. En revanche, la caractérisation des profils moléculaires de ces protéines apparaît pertinente pour étudier les corrélations avec les phénotypes cliniques et les éventuelles altérations génétiques associées. Dans cet objectif, nous avons développé une technique Simple Western, automatisée et miniaturisée, de caractérisation de la TDP43 dans différents tissus et éléments figurés du sang. Le profil identifié dans les lysats plaquettaires est similaire à celui obtenu dans des lysats cellulaires producteurs de TDP43 agrégée. Une validation à plus grande échelle de ces résultats est maintenant nécessaire pour valider le potentiel intérêt de ce marqueur en pratique clinique.

VI. Références

Aguzzi, A., M. Heikenwalder and M. Polymenidou (2007). "Insights into prion strains and neurotoxicity." Nat Rev Mol Cell Biol **8**(7): 552-561.

Aguzzi, A., C. Sigurdson and M. Heikenwaelder (2008). "Molecular mechanisms of prion pathogenesis." Annu Rev Pathol **3**: 11-40.

Akimoto, C., A. E. Volk, M. van Blitterswijk, M. Van den Broeck, C. S. Leblond, S. Lumbroso, W. Camu, B. Neitzel, O. Onodera, W. van Rheenen, S. Pinto, M. Weber, B. Smith, M. Proven, K. Talbot, P. Keagle, A. Chesi, A. Ratti, J. van der Zee, H. Alstermark, A. Birve, D. Calini, A. Nordin, D. C. Tradowsky, W. Just, H. Daoud, S. Angerbauer, M. DeJesus-Hernandez, T. Konno, A. Lloyd-Jani, M. de Carvalho, K. Mouzat, J. E. Landers, J. H. Veldink, V. Silani, A. D. Gitler, C. E. Shaw, G. A. Rouleau, L. H. van den Berg, C. Van Broeckhoven, R. Rademakers, P. M. Andersen and C. Kubisch (2014). "A blinded international study on the reliability of genetic testing for GGGGCC-repeat expansions in &em&C9orf72&/em&; reveals marked differences in results among 14 laboratories." Journal of Medical Genetics **51**(6): 419.

Alzheimer's Disease International (2015). World Alzheimer Report 2015 : The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.

Antoine, J. C., J. L. Laplanche, J. F. Mosnier, P. Beaudry, J. Chatelain and D. Michel (1996). "Demyelinating peripheral neuropathy with Creutzfeldt-Jakob disease and mutation at codon 200 of the prion protein gene." Neurology **46**(4): 1123.

Asante, E. A., J. M. Linehan, M. Desbruslais, S. Joiner, I. Gowland, A. L. Wood, J. Welch, A. F. Hill, S. E. Lloyd, J. D. F. Wadsworth and J. Collinge (2002). "BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein." The EMBO Journal **21**(23): 6358-6366.

Atarashi, R., J. M. Wilham, L. Christensen, A. G. Hughson, R. A. Moore, L. M. Johnson, H. A. Onwubiko, S. A. Priola and B. Caughey (2008). "Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking." Nat Methods **5**(3): 211-212.

Baiardi, S., M. Rossi, S. Capellari and P. Parchi (2019). "Recent advances in the histo-molecular pathology of human prion disease." Brain Pathol **29**(2): 278-300.

Beck, J., M. Poulter, D. Hensman, J. D. Rohrer, C. J. Mahoney, G. Adamson, T. Campbell, J. Uphill, A. Borg, P. Fratta, R. W. Orrell, A. Malaspina, J. Rowe, J. Brown, J. Hodges, K. Sidle, J. M. Polke, H. Houlden, J. M. Schott, N. C. Fox, M. N. Rossor, S. J. Tabrizi, A. M. Isaacs, J. Hardy, J. D. Warren, J. Collinge and S. Mead (2013). "Large C9orf72 hexanucleotide repeat expansions are seen in multiple neurodegenerative syndromes and are more frequent than expected in the UK population." Am J Hum Genet **92**(3): 345-353.

Bennett, D. A., J. A. Schneider, Z. Arvanitakis, J. F. Kelly, N. T. Aggarwal, R. C. Shah and R. S. Wilson (2006). "Neuropathology of older persons without cognitive impairment from two community-based studies." Neurology **66**(12): 1837.

Beringue, V., L. Herzog, F. Reine, A. Le Dur, C. Casalone, J. L. Vilotte and H. Laude (2008). "Transmission of atypical bovine prions to mice transgenic for human prion protein." Emerg Infect Dis **14**(12): 1898-1901.

Bieschke, J., A. Giese, W. Schulz-Schaeffer, I. Zerr, S. Poser, M. Eigen and H. Kretzschmar (2000). "Ultrasensitive detection of pathological prion protein aggregates by dual-color scanning for intensely fluorescent targets." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(10): 5468-5473.

Bora, E. (2016). "Differences in cognitive impairment between schizophrenia and bipolar disorder: Considering the role of heterogeneity." Psychiatry and Clinical Neurosciences **70**(10): 424-433.

Bougard, D., J.-P. Brandel, M. Bélontrade, V. Beringue, C. Segarra, H. Fleury, J.-L. Laplanche, C. Mayran, S. Nicot, A. Green, A. Welaratne, D. Narbey, C. Fournier-Wirth, R. Knight, R. Will, P. Tiberghien, S. Haïk and J. Coste (2016). "Detection of prions in the plasma of presymptomatic and symptomatic patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease." Science Translational Medicine **8**(370): 370ra182.

Bousset, L., L. Pieri, G. Ruiz-Arlandis, J. Gath, P. H. Jensen, B. Habenstein, K. Madiona, V. Olieric, A. Bockmann, B. H. Meier and R. Melki (2013). "Structural and functional characterization of two alpha-synuclein strains." Nat Commun **4**: 2575.

Brandel, J. P., L. Peckeu and S. Haik (2013). "The French surveillance network of Creutzfeldt-Jakob disease. Epidemiological data in France and worldwide." Transfus Clin Biol **20**(4): 395-397.

Brettschneider, J., K. Del Tredici, V. M. Lee and J. Q. Trojanowski (2015). "Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies." Nat Rev Neurosci **16**(2): 109-120.

Brown, P., J. P. Brandel, M. Preece and T. Sato (2006). "Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: the waning of an era." Neurology **67**(3): 389-393.

Bruce, M. E. (2003). "TSE strain variation." Br Med Bull **66**: 99-108.

Bruce, M. E., A. G. Dickinson and H. Fraser (1976). "Cerebral Amyloidosis in Scrapie in the Mouse: Effect of Agent Strain and Mouse Genotype." Neuropathology and Applied Neurobiology **2**(6): 471-478.

Buee, L., T. Bussiere, V. Buee-Scherrer, A. Delacourte and P. R. Hof (2000). "Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders." Brain Res Brain Res Rev **33**(1): 95-130.

Buratti, E. (2018). "TDP-43 post-translational modifications in health and disease." Expert Opinion on Therapeutic Targets **22**(3): 279-293.

Carrell, R. W. and D. A. Lomas (1997). "Conformational disease." Lancet **350**(9071): 134-138.

Chazot, G., E. Broussolle, C. Lapras, T. Blattler, A. Aguzzi and N. Kopp (1996). "New variant of Creutzfeldt-Jakob disease in a 26-year-old French man." Lancet **347**(9009): 1181.

Chen, Y., X. W. Xing, J. T. Zhang, R. X. Wang, W. Zhao, Q. C. Tan, R. Z. Liu, X. Q. Wang, X. S. Huang and S. Y. Yu (2016). "Autoimmune encephalitis mimicking sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A retrospective study." J Neuroimmunol **295-296**: 1-8.

Dorey, A., A. Perret-Liaudet, Y. Tholance, A. Fourier and I. Quadrio (2015a). "Cerebrospinal Fluid Abeta40 Improves the Interpretation of Abeta42 Concentration for Diagnosing Alzheimer's Disease." Front Neurol **6**: 247.

Dorey, A., Y. Tholance, A. Vighetto, A. Perret-Liaudet, I. Lachman, P. Krolak-Salmon, U. Wagner, H. Struyfs, P. P. De Deyn, B. El-Moualij, W. Zorzi, D. Meyronet, N. Streichenberger, S. Engelborghs, G. G. Kovacs and I. Quadrio (2015b). "Association of cerebrospinal fluid prion protein levels and the distinction between Alzheimer disease and Creutzfeldt-Jakob disease." JAMA Neurol **72**(3): 267-275.

Fairfoul, G., L. I. McGuire, S. Pal, J. W. Ironside, J. Neumann, S. Christie, C. Joachim, M. Esiri, S. G. Evetts, M. Rolinski, F. Baig, C. Ruffmann, R. Wade-Martins, M. T. Hu, L. Parkkinen and A. J. Green (2016). "Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies." Ann Clin Transl Neurol **3**(10): 812-818.

Favereaux, A., I. Quadrio, A. Perret-Liaudet, C. Vital, J. C. Ouallet, B. Brochet, A. G. Biacabe, K. G. Petry, N. Kopp and A. Vital (2003). "Prion protein accumulation involving the peripheral nervous system in a sporadic case of Creutzfeldt-Jakob disease." Neuropathol Appl Neurobiol **29**(6): 602-605.

Favereaux, A., I. Quadrio, C. Vital, A. Perret-Liaudet, O. Anne, J. L. Laplanche, K. G. Petry and A. Vital (2004). "Pathologic prion protein spreading in the peripheral nervous system of a patient with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease." Arch Neurol **61**(5): 747-750.

Fourier, A. (2018). Vers un marqueur biochimique des dégénérescences lobaires fronto-temporales : Variations quantitatives et profils protéiques de la protéine TDP43 dans différentes matrices biologiques. . Doctorat Neurosciences, Université Lyon 1.

Fourier, A., A. Dorey, A. Perret-Liaudet and I. Quadrio (2018a). "Detection of CSF 14-3-3 Protein in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Patients Using a New Automated Capillary Western Assay." Mol Neurobiol **55**(4): 3537-3545.

Fourier, A., J. Escal, E. Bernard, I. Lachman, A. Perret-Liaudet, P. Leblanc and I. Quadrio (2019a). "Development of an automated capillary nano-immunoassay-Simple Western assay-to quantify total TDP43 protein in human platelet samples." Anal Bioanal Chem **411**(1): 267-275.

Fourier, A., M. Formaglio, F. Kaczorowski, H. Mollion, A. Perret-Liaudet, M. Sauvée and I. Quadrio (Submitted). "Cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers coupled to neurofilaments discriminate between neurodegenerative diseases and primary psychiatric disorders." Eur J Neurol.

Fourier, A., M. Formaglio, H. Mollion, A. Perret-Liaudet, M. Sauvée and I. Quadrio (2018b). "Efficacité des biomarqueurs du LCR pour discriminer les troubles psychiatriques primaires des dégénérescences lobaires fronto-temporales (DLFT)." Revue Neurologique **174**: S9.

Fourier, A., M. Formaglio, M. Sauvée, A. Perret-Liaudet, P. Latour, M. Bost and I. Quadrio (2018c). "C9orf72 Protein Plasmatic Concentrations Are Similar between C9ORF72 Expansion Carriers and Noncarriers in Frontotemporal Dementia." Dementia and Geriatric Cognitive Disorders **46**(3-4): 180-185.

Fourier, A., F. Kaczorowski, M. Formaglio, E. Bernard, H. Mollion, M. Sauvée and I. Quadrio (2019b). "Profils des biomarqueurs du LCS dans les DLFT-TDP43 génétiques." Revue Neurologique **175**: S4-S5.

Franceschini, A., S. Baiardi, A. G. Hughson, N. McKenzie, F. Moda, M. Rossi, S. Capellari, A. Green, G. Giaccone, B. Caughey and P. Parchi (2017). "High diagnostic value of second generation CSF RT-QuIC across the wide spectrum of CJD prions." Sci Rep **7**(1): 10655.

Gendron, T. F. and L. Petrucelli (2018). "Disease Mechanisms of C9ORF72 Repeat Expansions." Cold Spring Harb Perspect Med **8**(4).

Geschwind, M. D., K. M. Tan, V. A. Lennon, R. F. Barajas, Jr., A. Haman, C. J. Klein, S. A. Josephson and S. J. Pittock (2008). "Voltage-gated potassium channel autoimmunity mimicking creutzfeldt-jakob disease." Arch Neurol **65**(10): 1341-1346.

Gisslen, M., R. W. Price, U. Andreasson, N. Norgren, S. Nilsson, L. Hagberg, D. Fuchs, S. Spudich, K. Blennow and H. Zetterberg (2016). "Plasma Concentration of the Neurofilament Light Protein (NFL) is a Biomarker of CNS Injury in HIV Infection: A Cross-Sectional Study." EBioMedicine **3**: 135-140.

Goodbrand, I. A., J. W. Ironside, D. Nicolson and J. E. Bell (1995). "Prion protein accumulation in the spinal cords of patients with sporadic and growth hormone associated Creutzfeldt-Jakob disease." Neurosci Lett **183**(1-2): 127-130.

Grau-Rivera, O., E. Gelpi, C. Nos, C. Gaig, I. Ferrer, A. Saiz, A. Llado, J. L. Molinuevo, F. Graus, R. Sanchez-Valle and G. Neurological Tissue Bank Collaborative (2015). "Clinicopathological Correlations and Concomitant Pathologies in Rapidly Progressive Dementia: A Brain Bank Series." Neurodegener Dis **15**(6): 350-360.

Graus, F., M. J. Titulaer, R. Balu, S. Benseler, C. G. Bien, T. Cellucci, I. Cortese, R. C. Dale, J. M. Gelfand, M. Geschwind, C. A. Glaser, J. Honnorat, R. Hoftberger, T. Iizuka, S. R. Irani, E. Lancaster, F. Leypoldt, H. Pruss, A. Rae-Grant, M. Reindl, M. R. Rosenfeld, K. Rostasy, A. Saiz, A. Venkatesan, A. Vincent, K. P. Wandinger, P. Waters and J. Dalmau (2016). "A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis." Lancet Neurol **15**(4): 391-404.

Guo, J. L. and V. M. Lee (2014). "Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases." Nat Med **20**(2): 130-138.

Hainfellner, J. A. and H. Budka (1999). "Disease associated prion protein may deposit in the peripheral nervous system in human transmissible spongiform encephalopathies." Acta Neuropathologica **98**(5): 458-460.

HAS (2011). *Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge. Recommandation de bonne pratique.* Paris Haute Autorité de Santé 49.

Hasegawa, M., T. Arai, T. Nonaka, F. Kametani, M. Yoshida, Y. Hashizume, T. G. Beach, E. Buratti, F. Baralle, M. Morita, I. Nakano, T. Oda, K. Tsuchiya and H. Akiyama (2008). "Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis." Ann Neurol **64**(1): 60-70.

Head, M. W. (2013). "Human prion diseases: Molecular, cellular and population biology." Neuropathology.

Hsich, G., K. Kenney, C. J. Gibbs, K. H. Lee and M. G. Harrington (1996). "The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies." N Engl J Med **335**(13): 924-930.

Irwin, D. J., N. J. Cairns, M. Grossman, C. T. McMillan, E. B. Lee, V. M. Van Deerlin, V. M. Lee and J. Q. Trojanowski (2014). "Frontotemporal lobar degeneration: defining phenotypic diversity through personalized medicine." Acta Neuropathol.

Jaumain, E., I. Quadrio, L. Herzog, F. Reine, H. Rezaei, O. Andreatti, H. Laude, A. Perret-Liaudet, S. Haik and V. Beringue (2016). "Absence of Evidence for a Causal Link between Bovine Spongiform Encephalopathy Strain Variant L-BSE and Known Forms of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease in Human PrP Transgenic Mice." J Virol **90**(23): 10867-10874.

Junttila, A., M. Kuvaja, P. Hartikainen, M. Siloaho, S. Helisalmi, V. Moilanen, A. Kiviharju, L. Jansson, P. J. Tienari, A. M. Remes and S. K. Herukka (2016). "Cerebrospinal Fluid TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients with and without the C9ORF72 Hexanucleotide Expansion." Dement Geriatr Cogn Dis Extra **6**(1): 142-149.

Kasai, T., T. Tokuda, N. Ishigami, H. Sasayama, P. Foulds, D. J. Mitchell, D. M. Mann, D. Allsop and M. Nakagawa (2009). "Increased TDP-43 protein in cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis." Acta Neuropathol **117**(1): 55-62.

Kawakami, I., T. Arai and M. Hasegawa (2019). "The basis of clinicopathological heterogeneity in TDP-43 proteinopathy." Acta Neuropathol **138**(5): 751-770.

Kovacs, G. G., I. Alafuzoff, S. Al-Sarraj, T. Arzberger, N. Bogdanovic, S. Capellari, I. Ferrer, E. Gelpi, V. Kovari, H. Kretschmar, Z. Nagy, P. Parchi, D. Seilhean, H. Soininen, C. Troakes and H. Budka (2008). "Mixed brain pathologies in dementia: the BrainNet Europe consortium experience." Dement Geriatr Cogn Disord **26**(4): 343-350.

Kovacs, G. G., G. Botond and H. Budka (2010). "Protein coding of neurodegenerative dementias: the neuropathological basis of biomarker diagnostics." Acta Neuropathol **119**(4): 389-408.

Kovacs, G. G. and H. Budka (2010). "Current concepts of neuropathological diagnostics in practice: neurodegenerative diseases." Clin Neuropathol **29**(5): 271-288.

Kovacs, G. G., I. Milenkovic, A. Wohrer, R. Hoftberger, E. Gelpi, C. Haberler, S. Honigschnabl, A. Reiner-Concin, H. Heinzl, S. Jungwirth, W. Krampla, P. Fischer and H. Budka (2013). "Non-Alzheimer neurodegenerative pathologies and their combinations are more frequent than commonly believed in the elderly brain: a community-based autopsy series." Acta Neuropathol **126**(3): 365-384.

Kovacs, G. G., J. Seguin, I. Quadrio, R. Hoftberger, I. Kapas, N. Streichenberger, A. G. Biacabe, D. Meyronet, R. Sciot, R. Vandenberghe, K. Majtenyi, L. Laszlo, T. Strobel, H. Budka and A. Perret-Liaudet (2011). "Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy." Acta Neuropathol **121**(1): 39-57.

Kraus, A., E. Saijo, M. A. Metrick, 2nd, K. Newell, C. J. Sigurdson, G. Zanusso, B. Ghetti and B. Caughey (2019). "Seeding selectivity and ultrasensitive detection of tau aggregate conformers of Alzheimer disease." Acta Neuropathol **137**(4): 585-598.

Ladogana, A., M. Puopolo, E. A. Croes, H. Budka, C. Jarius, S. Collins, G. M. Klug, T. Sutcliffe, A. Giulivi, A. Alperovitch, N. Delasnerie-Laupretre, J. P. Brandel, S. Poser, H. Kretzschmar, I. Rietveld, E. Mitrova, P. Cuesta Jde, P. Martinez-Martin, M. Glatzel, A. Aguzzi, R. Knight, H. Ward, M. Pocchiari, C. M. van Duijn, R. G. Will and I. Zerr (2005). "Mortality from Creutzfeldt-Jakob disease and related disorders in Europe, Australia, and Canada." Neurology **64**(9): 1586-1591.

Lardeux, P. (2019). Profil des principaux biomarqueurs du LCR dans l'encéphalite à anti-LG1. Doctorat, Université Lyon 1.

Laurencin, C., E. Broussolle, N. Streichenberger, S. Thobois, I. Quadrio and A. Poisson (2014). "Parkinson's with tardive Creutzfeldt-Jakob disease: when there is more to it than meets the eye." Rev Neurol (Paris) **170**(2): 148-150.

Le Ber, I., A. Camuzat, D. Hannequin, F. Pasquier, E. Guedj, A. Rovelet-Lecrux, V. Hahn-Barma, J. van der Zee, F. Clot, S. Bakchine, M. Puel, M. Ghanim, L. Lacomblez, J. Mikol, V. Deramecourt, P. Lejeune, V. de la Sayette, S. Belliard, M. Vercelletto, C. Meyrignac, C. Van Broeckhoven, J. C. Lambert, P. Verpillat, D. Campion, M. O. Habert, B. Dubois, A. Brice and F. F.-M. French research network on (2008). "Phenotype variability in progranulin mutation carriers: a clinical, neuropsychological, imaging and genetic study." Brain **131**(Pt 3): 732-746.

Lehmann, S., S. Schraen, I. Quadrio, C. Paquet, S. Bombois, C. Delaby, A. Dorey, J. Dumurgier, C. Hirtz, P. Krolak-Salmon, J. L. Laplanche, O. Moreaud, K. Peoc'h, O. Rouaud, B. Sablonniere, E. Thouvenot, J. Touchon, O. Vercruysee, J. Hugon, A. Gabelle, F. Pasquier and A. Perret-Liaudet (2014). "Impact of harmonization of collection tubes on Alzheimer's disease diagnosis." Alzheimers Dement **10**(5 Suppl): S390-S394 e392.

McKhann, G. M., D. S. Knopman, H. Chertkow, B. T. Hyman, C. R. Jack, Jr., C. H. Kawas, W. E. Klunk, W. J. Koroshetz, J. J. Manly, R. Mayeux, R. C. Mohs, J. C. Morris, M. N. Rossor, P. Scheltens, M. C. Carrillo, B. Thies, S. Weintraub and C. H. Phelps (2011). "The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease." Alzheimers Dement **7**(3): 263-269.

Meyer, R. K., M. P. McKinley, K. A. Bowman, M. B. Braunfeld, R. A. Barry and S. B. Prusiner (1986). "Separation and properties of cellular and scrapie prion proteins." Proc Natl Acad Sci U S A **83**(8): 2310-2314.

Meyne, F., S. F. Gloeckner, B. Ciesielczyk, U. Heinemann, A. Krasnianski, B. Meissner and I. Zerr (2009). "Total Prion Protein Levels in the Cerebrospinal Fluid are Reduced in Patients with Various Neurological Disorders." J Alzheimers Dis.

Mok, T., Z. Jaunmuktane, S. Joiner, T. Campbell, C. Morgan, B. Wakerley, F. Golestani, P. Rudge, S. Mead, H. R. Jäger, J. D. F. Wadsworth, S. Brandner and J. Collinge (2017). "Variant Creutzfeldt–Jakob Disease in a Patient with Heterozygosity at PRNP Codon 129." New England Journal of Medicine **376**(3): 292-294.

Moussa, A., A. W. Coleman, A. Bencsik, E. Leclere, F. Perret, A. Martin and H. Perron (2006). "Use of streptomycin for precipitation and detection of proteinase K resistant prion protein (PrPsc) in biological samples." Chem Commun (Camb)(9): 973-975.

Nelson, P. T., D. W. Dickson, J. Q. Trojanowski, C. R. Jack, P. A. Boyle, K. Arfanakis, R. Rademakers, I. Alafuzoff, J. Attems, C. Brayne, I. T. S. Coyle-Gilchrist, H. C. Chui, D. W. Fardo, M. E. Flanagan, G. Halliday, S. R. K. Hokkanen, S. Hunter, G. A. Jicha, Y. Katsumata, C. H. Kawas, C. D. Keene, G. G. Kovacs, W. A. Kukull, A. I. Levey, N. Makkinejad, T. J. Montine, S. Murayama, M. E. Murray, S. Nag, R. A. Rissman, W. W. Seeley, R. A. Sperling, C. L. White lji, L. Yu and J. A. Schneider (2019). "Limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy (LATE): consensus working group report." Brain **142**(6): 1503-1527.

Neumann, M., D. M. Sampathu, L. K. Kwong, A. C. Truax, M. C. Micsenyi, T. T. Chou, J. Bruce, T. Schuck, M. Grossman, C. M. Clark, L. F. McCluskey, B. L. Miller, E. Masliah, I. R. Mackenzie, H. Feldman, W. Feiden, H. A. Kretschmar, J. Q. Trojanowski and V. M. Lee (2006). "Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis." Science **314**(5796): 130-133.

Nuytemans, K., G. Bademci, M. M. Kohli, G. W. Beecham, L. Wang, J. I. Young, F. Nahab, E. R. Martin, J. R. Gilbert, M. Benatar, J. L. Haines, W. K. Scott, S. Züchner, M. A. Pericak-Vance and J. M. Vance (2013). "C9ORF72 Intermediate Repeat Copies Are a Significant Risk Factor for Parkinson Disease." Annals of Human Genetics **77**(5): 351-363.

Parchi, P., S. Capellari, S. G. Chen, R. B. Petersen, P. Gambetti, N. Kopp, P. Brown, T. Kitamoto, J. Tateishi, A. Giese and H. Kretschmar (1997). "Typing prion isoforms." Nature **386**(6622): 232-234.

Parchi, P., R. Castellani, S. Capellari, B. Ghetti, K. Young, S. G. Chen, M. Farlow, D. W. Dickson, A. A. Sima, J. Q. Trojanowski, R. B. Petersen and P. Gambetti (1996). "Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease." Ann Neurol **39**(6): 767-778.

Parchi, P., R. Castellani, P. Cortelli, P. Montagna, S. G. Chen, R. B. Petersen, V. Manetto, C. L. Vnencak-Jones, M. J. McLean, J. R. Sheller and et al. (1995). "Regional distribution of protease-resistant prion protein in fatal familial insomnia." Ann Neurol **38**(1): 21-29.

Parchi, P., L. de Boni, D. Saverioni, M. L. Cohen, I. Ferrer, P. Gambetti, E. Gelpi, G. Giaccone, J. J. Hauw, R. Hoftberger, J. W. Ironside, C. Jansen, G. G. Kovacs, A. Rozemuller, D. Seilhean, F. Tagliavini, A. Giese and H. A. Kretzschmar (2012). "Consensus classification of human prion disease histotypes allows reliable identification of molecular subtypes: an inter-rater study among surveillance centres in Europe and USA." Acta Neuropathol **124**(4): 517-529.

Perret-Liaudet, A., M. Pelpel, Y. Tholance, B. Dumont, H. Vanderstichele, W. Zorzi, B. ElMoualij, S. Schraen, O. Moreaud, A. Gabelle, E. Thouvenot, C. Thomas-Anterion, J. Touchon, P. Krolak-Salmon, G. G. Kovacs, A. Coudreuse, I. Quadrio and S. Lehmann (2012a). "Cerebrospinal fluid collection tubes: a critical issue for Alzheimer disease diagnosis." Clin Chem **58**(4): 787-789.

Perret-Liaudet, A., M. Pelpel, Y. Tholance, B. Dumont, H. Vanderstichele, W. Zorzi, B. ElMoualij, S. Schraen, O. Moreaud, A. Gabelle, E. Thouvenot, C. Thomas-Anterion, J. Touchon, P. Krolak-Salmon, G. G. Kovacs, A. Coudreuse, I. Quadrio and S. Lehmann (2012b). "Risk of Alzheimer's disease biological misdiagnosis linked to cerebrospinal collection tubes." J Alzheimers Dis **31**(1): 13-20.

Pinel, F. (2010). Détection de la protéine prion pathologique à partir de nerf humain pour un diagnostic précoce de la maladie de Creutzfeldt-Jakob : Intérêts et limites de la trousse commerciale TeSeE™ Sheep/goat Western-Blot BioRad® Doctorat Pharmacie, Université Lyon 1.

Pottier, C., T. A. Ravenscroft, M. Sanchez-Contreras and R. Rademakers (2016). "Genetics of FTL: overview and what else we can expect from genetic studies." J Neurochem **138 Suppl 1**: 32-53.

Puzzo, D. and O. Arancio (2013). "Amyloid-beta peptide: Dr. Jekyll or Mr. Hyde?" J Alzheimers Dis **33 Suppl 1**: S111-120.

Quadrio, I. (2008). Nouveaux développements moléculaires et technologiques pour le diagnostic des maladies à prions du vivant du patient. . Doctorat Neurosciences, Université Lyon 1.

Quadrio, I. and A. Perret-Liaudet (2010). Marqueurs diagnostiques dans le LCR : Maladie de Creutzfeldt-Jakob et diagnostic différentiel. Journées de Neurologie de Langue Française, Lyon.

Quadrio, I. and A. Perret-Liaudet (2012). Tests biologiques et diagnostic des maladies à prions. 1ères Journées d'actualité sur les maladies à Prions, Paris.

Quadrio, I., A. Perret-Liaudet and G. G. Kovacs (2011). "Molecular diagnosis of human prion disease." Expert Opin Med Diagn **5**(4): 291-306.

Quadrio, I., S. Ugnon-Cafe, M. Dupin, G. Esposito, N. Streichenberger, P. Krolak-Salmon, A. Vital, J. F. Pellissier, A. Perret-Liaudet and H. Perron (2009). "Rapid diagnosis of human prion disease using streptomycin with tonsil and brain tissues." Lab Invest **89**(4): 406-413.

Rahimi, J. and G. G. Kovacs (2014). "Prevalence of mixed pathologies in the aging brain." Alzheimers Res Ther **6**(9): 82.

Saborio, G. P., B. Permanne and C. Soto (2001). "Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding." Nature **411**(6839): 810-813.

Saijo, E., B. Ghetti, G. Zanusso, A. Oblak, J. L. Furman, M. I. Diamond, A. Kraus and B. Caughey (2017). "Ultrasensitive and selective detection of 3-repeat tau seeding activity in Pick disease brain and cerebrospinal fluid." Acta Neuropathol **133**(5): 751-765.

Santoro, M., M. Masciullo, R. Pietrobono, G. Conte, A. Modoni, M. L. Bianchi, V. Rizzo, M. G. Pomponi, G. Tasca, G. Neri and G. Silvestri (2013). "Molecular, clinical, and muscle studies in myotonic dystrophy type 1 (DM1) associated with novel variant CCG expansions." J Neurol **260**(5): 1245-1257.

Seguin, J., M. Formaglio, A. Perret-Liaudet, I. Quadrio, Y. Tholance, O. Rouaud, C. Thomas-Anterion, B. Croisile, H. Mollion, O. Moreaud, M. Salzmann, A. Dorey, M. Bataillard, M. H. Coste, A. Vighetto and P. Krolak-Salmon (2011). "CSF biomarkers in posterior cortical atrophy." Neurology **76**(21): 1782-1788.

Snowden, J. S., S. Rollinson, J. C. Thompson, J. M. Harris, C. L. Stopford, A. M. Richardson, M. Jones, A. Gerhard, Y. S. Davidson, A. Robinson, L. Gibbons, Q. Hu, D. DuPlessis, D. Neary, D. M. Mann and S. M. Pickering-Brown (2012). "Distinct clinical and pathological characteristics of frontotemporal dementia associated with C9ORF72 mutations." Brain **135**(Pt 3): 693-708.

Tagliavini, F., F. Prelli, M. Porro, M. Salmona, O. Bugiani and B. Frangione (1992). "A soluble form of prion protein in human cerebrospinal fluid: implications for prion-related encephalopathies." Biochem Biophys Res Commun **184**(3): 1398-1404.

Thevenet, E. (2017). Diagnostic différentiel entre les encéphalites auto-immunes et les maladies de Creutzfeldt-Jakob : apport du dosage de la protéine prion dans le LCR. . Docteur en Pharmacie Pharmacie, Université Lyon 1.

van Dijk, E. L., Y. Jaszczyszyn, D. Naquin and C. Thermes (2018). "The Third Revolution in Sequencing Technology." Trends Genet **34**(9): 666-681.

Van Mossevelde, S., J. van der Zee, M. Cruts and C. Van Broeckhoven (2017). "Relationship between C9orf72 repeat size and clinical phenotype." Curr Opin Genet Dev **44**: 117-124.

Viaccoz, A., F. Ducray, Y. Tholance, G. K. Barcelos, L. Thomas-Maisonneuve, H. Ghesquieres, D. Meyronet, I. Quadrio, S. Cartalat-Carel, G. Louis-Tisserand, E. Jouanneau, J. Guyotat, J. Honnorat and A. Perret-Liaudet (2015). "CSF neopterin level as a diagnostic marker in primary central nervous system lymphoma." Neuro Oncol.

Voigtlander, T., S. Kloppel, P. Birner, C. Jarius, H. Flicker, S. Verghese-Nikolakaki, T. Sklaviadis, M. Guentchev and H. Budka (2001). "Marked increase of neuronal prion protein immunoreactivity in Alzheimer's disease and human prion diseases." Acta Neuropathol **101**(5): 417-423.

Wadsworth, J. D., S. Joiner, A. F. Hill, T. A. Campbell, M. Desbruslais, P. J. Luthert and J. Collinge (2001). "Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay." Lancet **358**(9277): 171-180.

Wallin, A. K., K. Blennow, N. Andreasen and L. Minthon (2006). "CSF biomarkers for Alzheimer's Disease: levels of beta-amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival." Dement Geriatr Cogn Disord **21**(3): 131-138.

Wang, J. Z., Y. Y. Xia, I. Grundke-Iqbal and K. Iqbal (2013). "Abnormal hyperphosphorylation of tau: sites, regulation, and molecular mechanism of neurofibrillary degeneration." J Alzheimers Dis **33** **Suppl 1**: S123-139.

WHO (2003). WHO manual for surveillance of human transmissible spongiform encephalopathies, including variant Creutzfeldt-Jakob disease. Geneva, Switzerland World Health Organization: 90.

Willem, M., S. Tahirovic, M. A. Busche, S. V. Ovsepijan, M. Chafai, S. Kootar, D. Hornburg, L. D. B. Evans, S. Moore, A. Daria, H. Hampel, V. Muller, C. Giudici, B. Nuscher, A. Wenninger-Weinzierl, E. Kremmer, M. T. Heneka, D. R. Thal, V. Giedraitis, L. Lannfelt, U. Muller, F. J. Livesey, F. Meissner, J. Herms, A. Konnerth, H. Marie and C. Haass (2015). "[eegr]-Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus." Nature **526**(7573): 443-447.

Wiltfang, J., H. Esselmann, M. Bibl, M. Hull, H. Hampel, H. Kessler, L. Frolich, J. Schroder, O. Peters, F. Jessen, C. Luckhaus, R. Perneczky, H. Jahn, M. Fiszer, J. M. Maler, R. Zimmermann, R. Bruckmoser, J. Kornhuber and P. Lewczuk (2007). "Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load." J Neurochem **101**(4): 1053-1059.

Woolley, J. D., B. K. Khan, N. K. Murthy, B. L. Miller and K. P. Rankin (2011). "The diagnostic challenge of psychiatric symptoms in neurodegenerative disease: rates of and risk factors for prior psychiatric diagnosis in patients with early neurodegenerative disease." J Clin Psychiatry **72**(2): 126-133.

Yuan, A., M. V. Rao, Veeranna and R. A. Nixon (2012). "Neurofilaments at a glance." J Cell Sci **125**(Pt 14): 3257-3263.

Yuan, A., M. V. Rao, Veeranna and R. A. Nixon (2017). "Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease." Cold Spring Harb Perspect Biol **9**(4).

Zeidler, M., C. J. Gibbs and F. Meslin (1998). WHO manual for strengthening diagnosis and surveillance of Creutzfeldt-Jakob disease. Geneva, World Health Organization: 75.

Zetterberg, H. and K. Blennow (2016). "Fluid biomarkers for mild traumatic brain injury and related conditions." Nature Reviews Neurology **12**: 563.