



Association des Aidants  
et Malades à Corps de Lewy

# Colloque A2MCL maladie à corps de Lewy

8 novembre 2024

**LE VINATIER**

PSYCHIATRIE UNIVERSITAIRE  
LYON MÉTROPOLE





Module 3

# Recherche et innovation dans la MCL

Module présidé par :

**Pr Claire PAQUET**

*Neurologue neuropathologiste – Paris*

**Dr Brice LAURENS**

*Neurologue – CHU CMRR Bordeaux*





## Module 3

# Actualités sur les biomarqueurs de la MCL

Focus sur la RT-QuIC

**Dr Isabelle Quadrio**

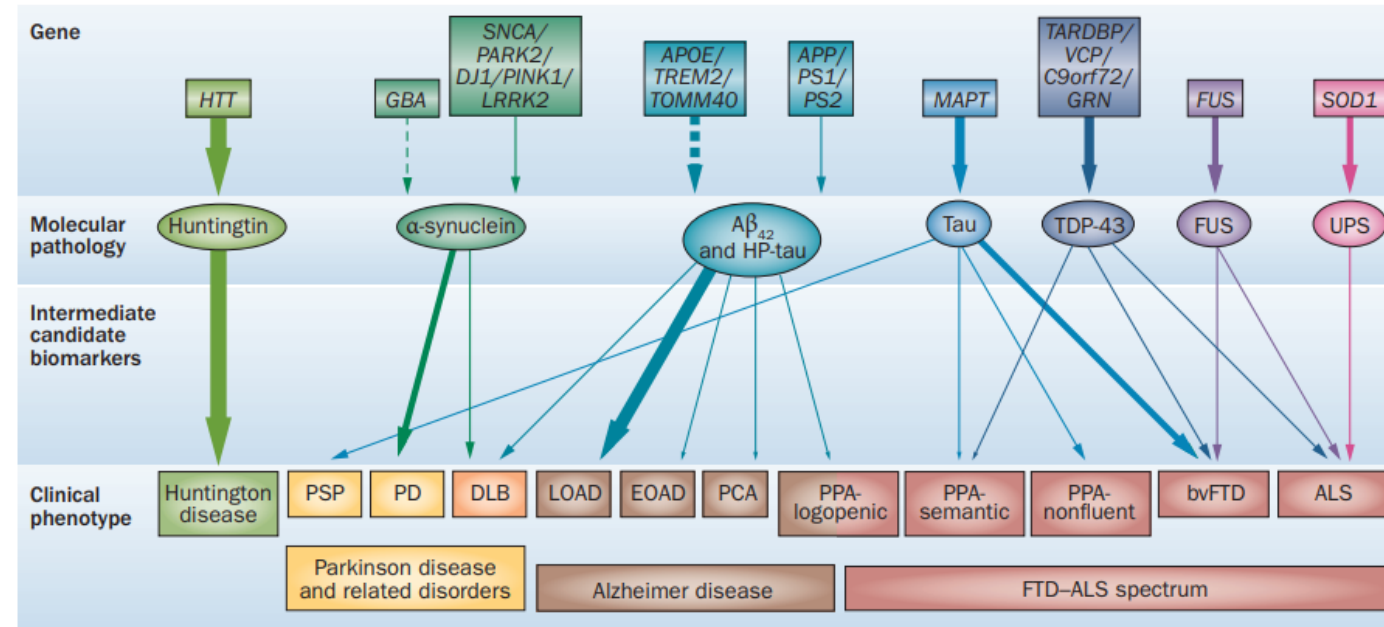
Biologiste – Lyon

Biochimie et Biologie Moléculaire - LBMMS - Hospices  
Civils de Lyon  
Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon -  
INSERM CNRS Université de Lyon



# CARACTÉRISTIQUES BIOLOGIQUES DES TNC DÉGÉNÉRATIFS

- Perte neuronale progressive + altération de la connectivité des réseaux de neurones
- Associés à des dépôts tissulaires de protéines mal repliées = « protéinopathies »
- Associés ou non à des anomalies génétiques / phénotypes cliniques polymorphes

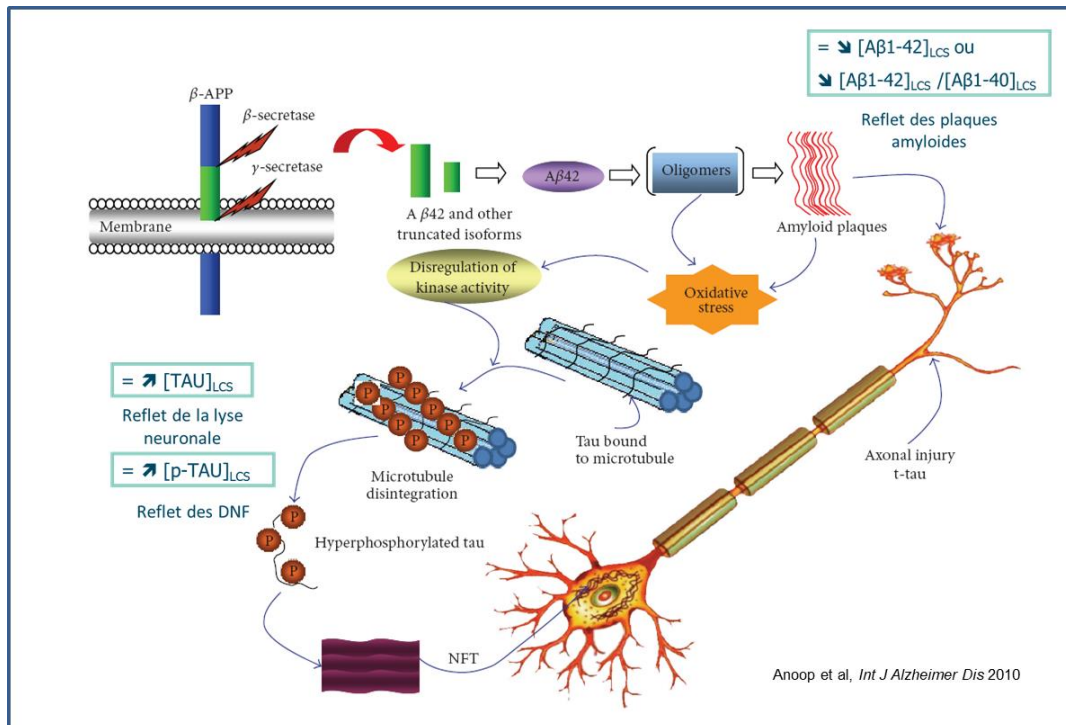


Pievani M et al, Nat Rev Neurol 2014

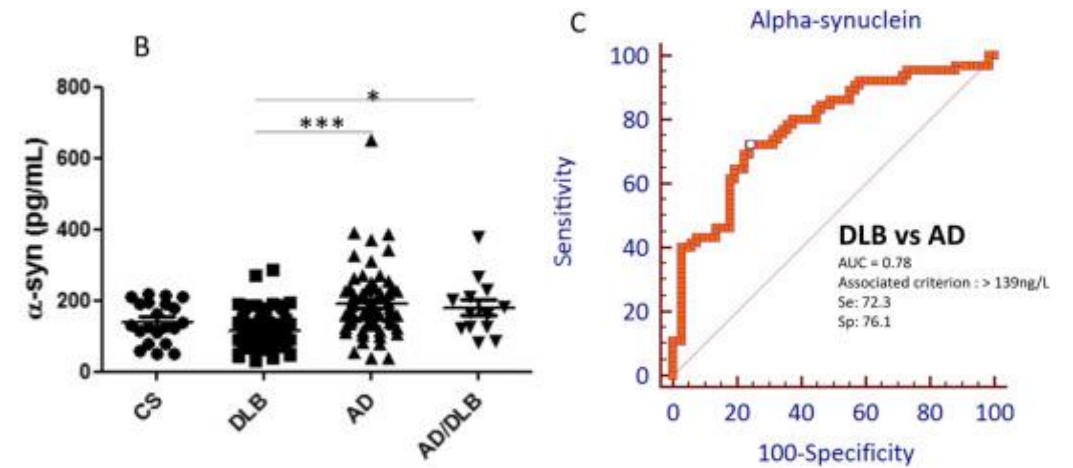
Classification diagnostique: probabiliste → certitude sur présence d'un variant moléculaire ou critères ACP = inclusions protéiques et profil lésionnel IHC (morphologie agrégats, distribution topographique et intensité lésions)

# MESURE DIRECTE DE LA PROTÉINE A-SYNUCLÉINE ?

- Pour la Maladie d'Alzheimer : mesure directe dans le LCS de biomarqueurs reflétant les lésions cérébrales  
→ Sensibilité et spécificité 95%



## Mesure directe de l' α-synucléine ?

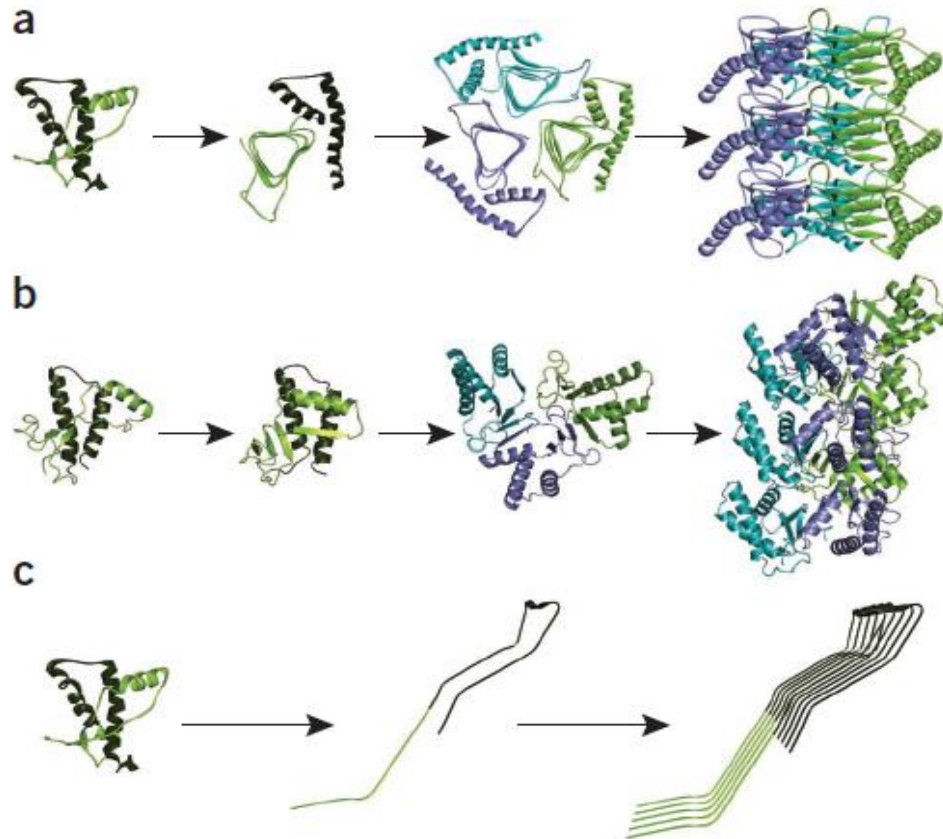


Bousiges O et al, *Alzheimers Res Ther* 2020

- Diminution [α-syn]totale → peu performant :
  - Quantité très faible donc tests ultrasensibles nécessaires
  - Forme agrégée liée à la pathologie → Modification conformationnelle, très difficile à différencier de la forme physiologique globulaire pour un Ac

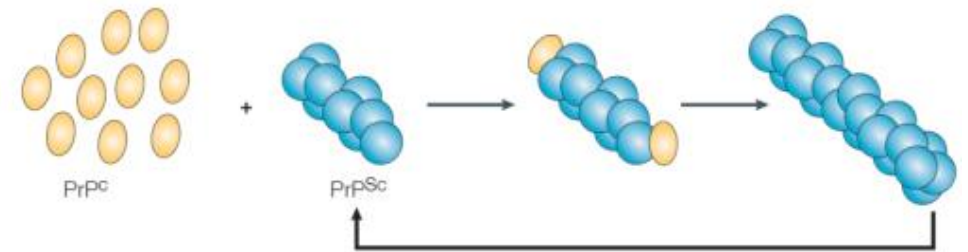
# LES DÉPÔTS PROTÉIQUES : LA PROTÉINE PRION COMME MODÈLE

Etape de conversion « normale » → agrégée  
« pathologique »  
+ Notion de diversité des agrégats « souches »



Diaz-Espinoza & Soto *nature structural & molecular biology* 2012

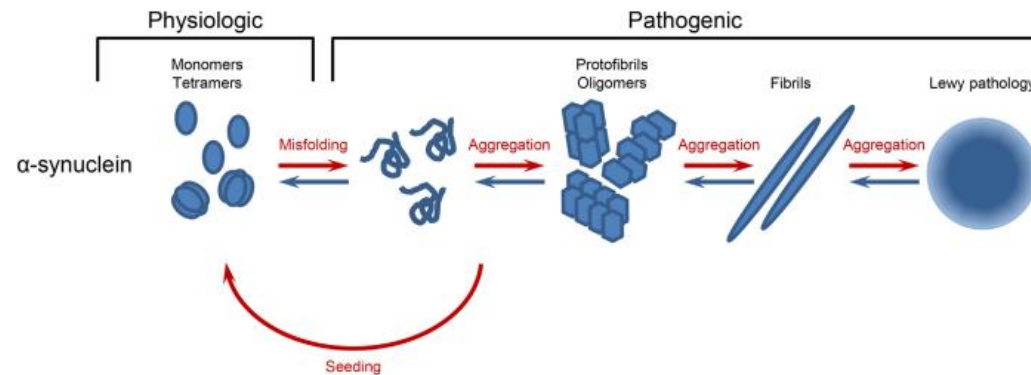
Etape d'amplification en fibrilles



Soto et al *NatRevMicr* 2004

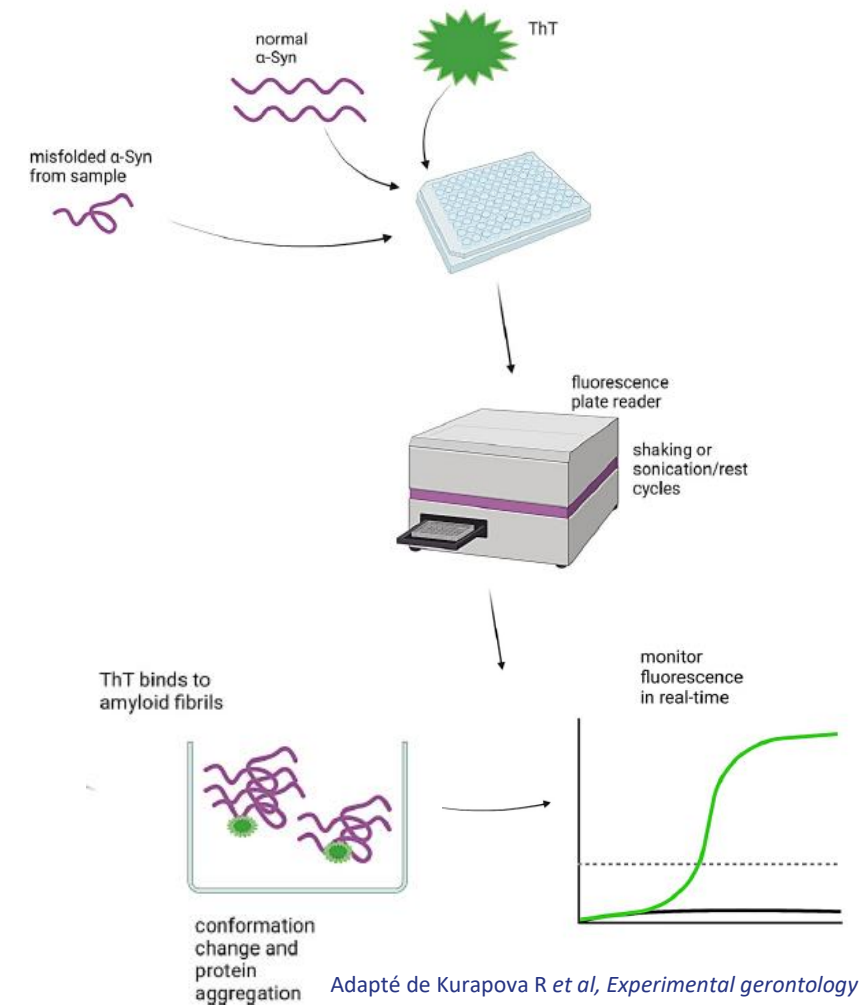
→ Recrutement d'une protéine « native »  
par une protéine agrégée et  
amplification du phénomène →  
« prion-like »

# DU CONCEPT « PRION-LIKE » IN VIVO À UNE MÉTHODE IN VITRO



Kalia et al Park. Rel. Dis. 2019

- Mélange l'échantillon contenant la protéine d'intérêt avec un excès de protéine « physiologique » (recombinante) dans un milieu contenant agent intercalant fluorescent
- Reproduit le phénomène d'amplification « prion-like » in vitro par succession de cycles d'agitation / repos
- Mesure en temps réel de la variation de fluorescence de l'agent intercalant (Thioflavine T) dans les feuillets  $\beta$  formés de novo = RT-QuIC

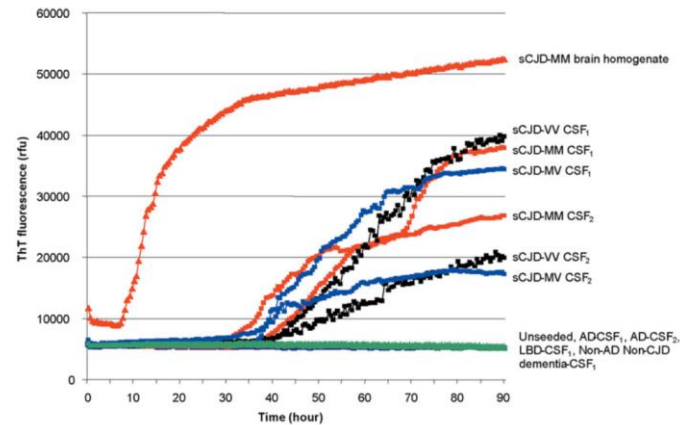


Adapté de Kurapova R et al, *Experimental gerontology* 2022

# DU CONCEPT « PRION-LIKE » IN VIVO À UNE MÉTHODE IN VITRO

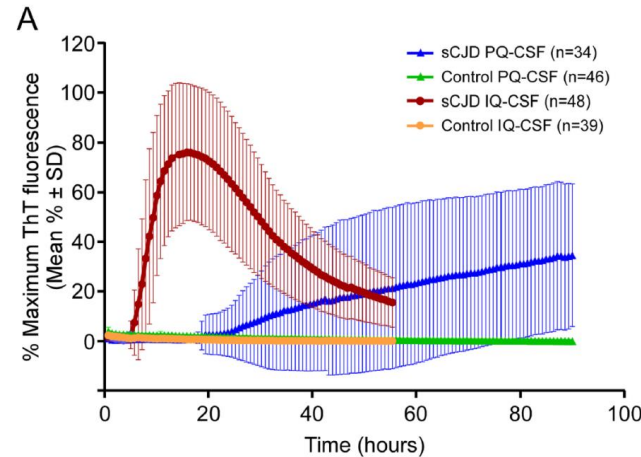
Maladie de Creutzfeldt-Jakob : développement dès ~ 2000 → Tissu cérébral 2010 Wilham J et al, PLoS Pathog 2010 → LCS en 2012

LCS PrPsc: 2012



McGuire L *et al* Ann Neurol 2012

2<sup>nd</sup> génération : 2015



Orru C MBio 2015

Critères EURO-CJD 2021  
MCJ sporadiques

**Definite:**  
Progressive neuropsychiatric syndrome and neuropathological or immunocytochemical, or biochemical confirmation

**Probable:**  
I + two of II and typical EEG\*  
or  
I + two of II and typical brain MRI†  
or  
I + two of II and positive CSF 14-3-3  
or  
progressive neuropsychiatric syndrome and positive RT-QuIC in CSF or other tissues  
**+ exclusion of other causes in complete diagnostic workup**

**Possible:**  
I + two of II + duration <2 years

- I**  
Rapidly progressive cognitive impairment
- II**  
A. Myoclonus  
B. Visual or cerebellar disturbance  
C. Pyramidal or extrapyramidal signs  
D. Akinetic mutism

Hermann P *et al* Lancet Neurol 2021

! Sensibilité dans les formes génétiques variables ( dépend de la variation moléculaire)

Sensibilité de 89% (id. P14-3-3) / spécificité de 95% : attention pathologies inflammatoires faux positifs

Hermann P *et al* J Neurol 2023



# AGRÉGATION IN VITRO DE L'ALPHA-SYNUCLEINE

- 1ère publication : 2016, par une équipe écossaise (Centre de référence Prion)
- Tissu cérébral et LCS

**ANNALS**  
of Clinical and Translational Neurology

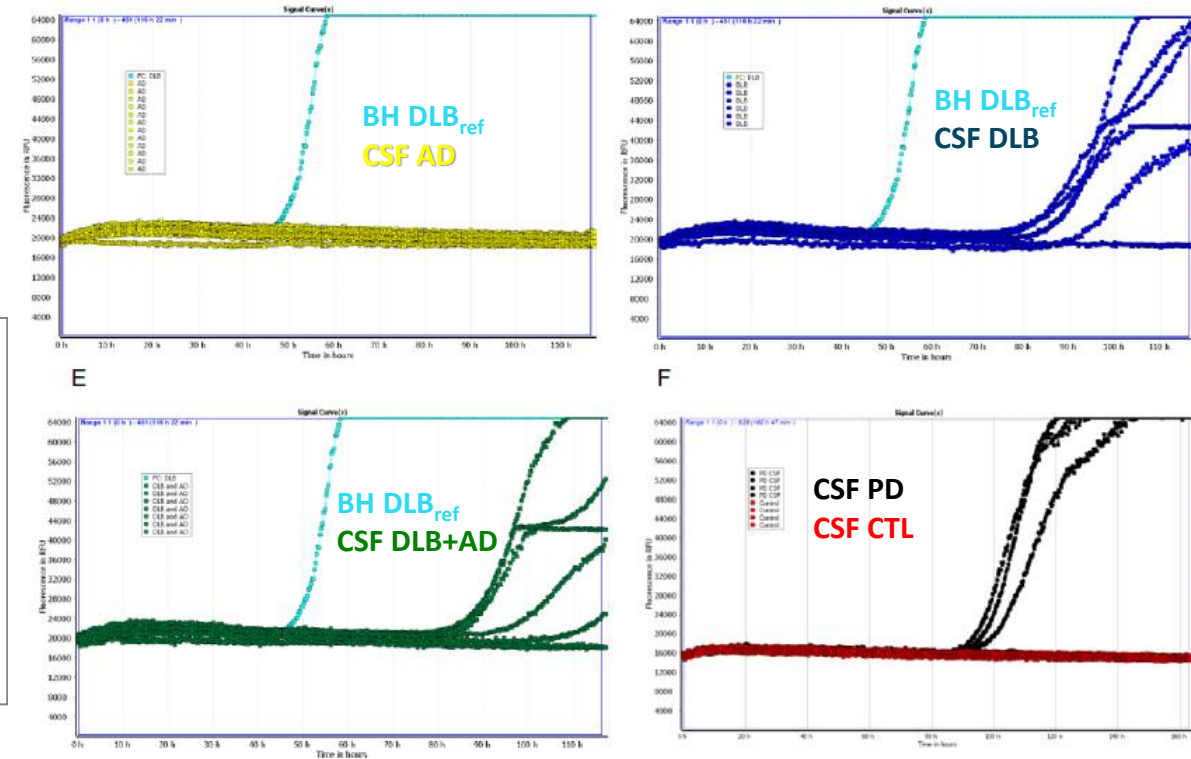
Open Access

AMERICAN NEUROLOGICAL ASSOCIATION

BRIEF COMMUNICATION

**Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies**

Graham Fairfoul<sup>1</sup>, Lynne I. McGuire<sup>1</sup>, Suvankar Pal<sup>1,2</sup>, James W. Ironside<sup>1</sup>, Juliane Neumann<sup>3</sup>, Sharon Christie<sup>4</sup>, Catherine Joachim<sup>4</sup>, Margaret Esiri<sup>4</sup>, Samuel G. Evetts<sup>3</sup>, Michal Rolinski<sup>3</sup>, Fahd Baig<sup>3</sup>, Claudio Ruffmann<sup>3</sup>, Richard Wade-Martins<sup>5</sup>, Michele T. M. Hu<sup>3</sup>, Laura Parkkinen<sup>3</sup> & Alison J. E. Green<sup>1</sup>

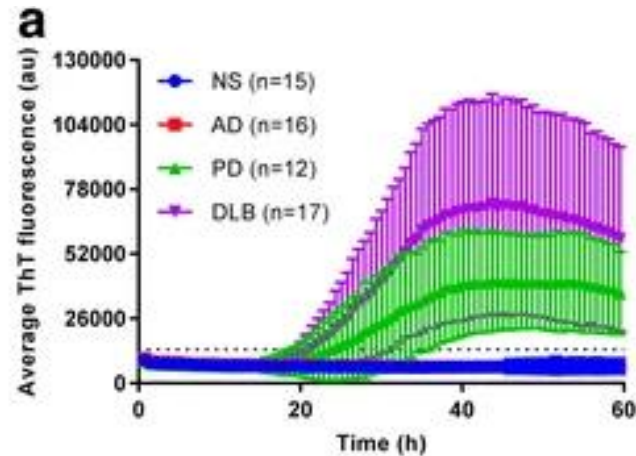


Fairful G et al, *Ann. Clin. Transl. Neurol* 2016

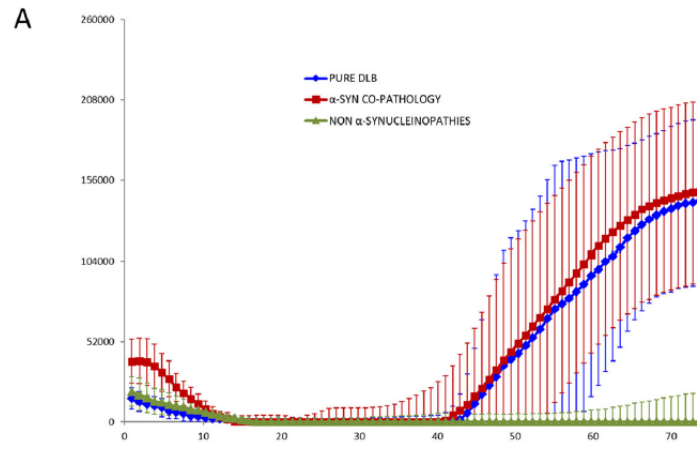
- Performances d'emblées excellentes : LCS de patients avec diag confirmé neuropathologie
  - Spécificité 100 % = aucun non s-syn ne s'amplifie
  - Sensibilité pour la MCL : 92%
  - Sensibilité de 100% pour la maladie de Parkinson

# AGRÉGATION IN VITRO DE L'ALPHA-SYNUCLEINE

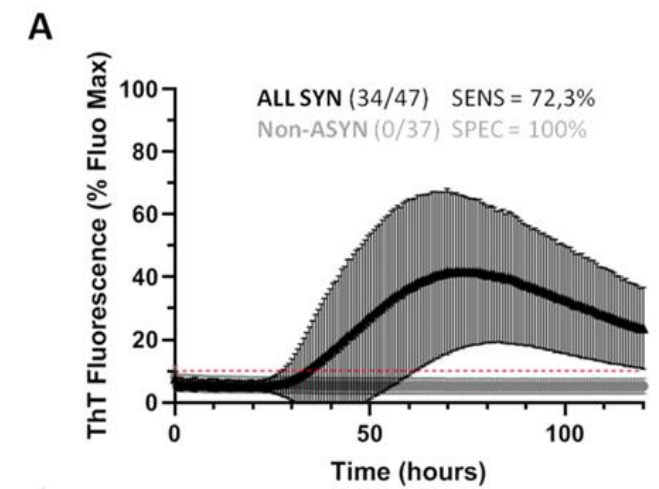
- Confirmation du potentiel depuis 2016
- Nombreuses études publiées avec des protocoles « maisons » très variés car technique complexe



Groveman B *et al*, *Acta Neuropath Comm* 2018



Bongianni M *et al*, *Ann. Clin. Transl. Neurol* 2019



Verdurand M *et al*, under review

- On conserve les très bonnes performances:

- **Spécificité très proche des 100 %**

- **Sensibilité** pour la MCL :

- **92-100% chez patients confirmés ACP** Fairful G *Ann. Clin. Transl. Neurol* 2016; Rossi M *Acta Neuropathol* 2020; Hall S *Acta Neuropathol Comm* 2022; Bentivenga GM *et al*, *Acta Neuropathol* 2024

- **74-100 % des patients sans confirmation ACP** Brockmann K *et al*, *Acta Neuropathol Comm* 2021;

Rossi M *Acta Neuropathol* 2020; Verdurand M *et al*, *Alz & Dem DADM* under review

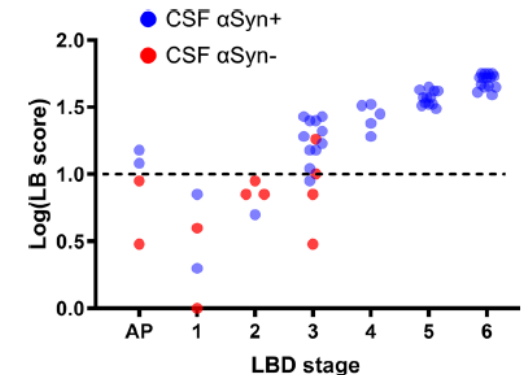
# A QUEL STADE DÉTECTE T'ON LES FORMES AGRÉGÉES ?

- Cohorte italienne de 269 LCS avec confirmation neuropathologique: 210 αSyn LB- et 59 αSyn LB+
- Stratification selon les stades neuropathologiques Braak
- Stade prodromique ? Stade « AP » = amygdala predominant : inclusions dans l'amygdale avec faible envahissement du tronc Fujishiro H et al, Acta Neuropathol 2008

Table 2 Demographic characteristics and CSF analysis results in the CSF cohort

	N	F (%)	Age at death (years)	Time LP-death (months)	N. αSyn RT-QuIC SAA-positive	N. αSyn RT-QuIC SAA-negative	Sensitivity (%)	Specificity (%)
αSyn LB-	210	47.1	70.1±9.4	1.8±2.7	3	207		
αSyn LB+	59	42.3	73.0±7.9	5.0±12.4	48	11	81.4	98.6
McKeith stage								
Neocortical	15	53.3	77.5±4.7	8.2±12.2	15	0	100	
Limbic	17	47.0	72.8±7.1	3.5±11.9	17	0	100	
Brainstem	23	39.1	70.3±8.5	1.9±5.4	14	9	60.9	
Braak stage								
1	4	50.0	66.5±5.9	0.5±0.5	2	2	50.0	
2	4	50.0	69.7±9.2	1.0±0.8	1	3	25.0	
3	15	33.3	71.4±9.0	2.5±6.7	11	4	73.3	
4	5	60.0	73.6±9.1	0.4±0.5	5	0	100	
5	12	41.6	72.5±6.6	4.9±14.2	12	0	100	
6	15	53.3	77.5±4.7	8.2±12.2	15	0	100	
Amygdala-predominant	4	0	72.7±11.9	16.7±31.5	2	2	50	

1 MCJ, 1 MA et 1 Gayet-Wernicke ; sans inclusions synucléine NP

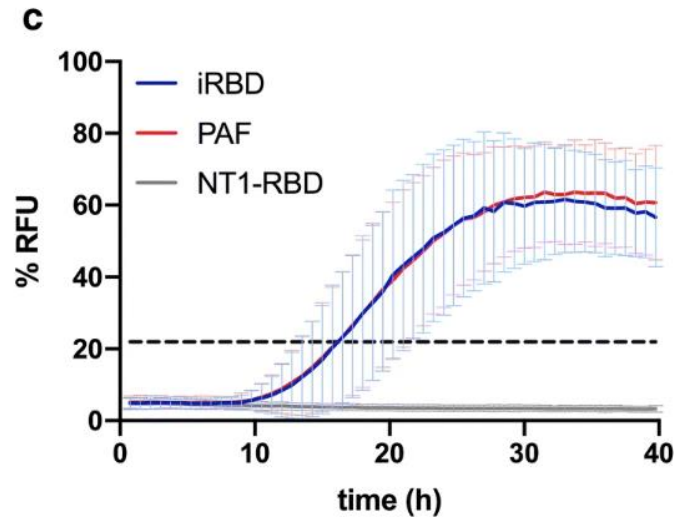


Bentivenga GM et al, Acta Neuropathol 2024

→ Plus on avance dans les stades NP, plus la RTQuic LCS est positive

# A QUEL STADE DÉTECTE T'ON LES FORMES AGRÉGÉES ?

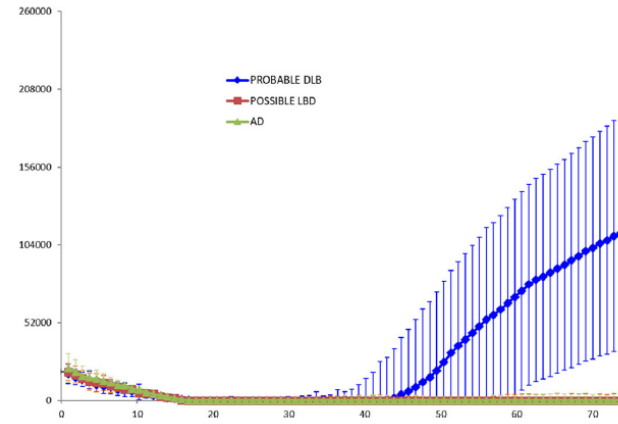
- Stades précoces : atteintes isolées dysautonomiques = PAF et TCSP (iRBD)



Rossi M et al, Acta Neuropathol 2020

- Oui détection précoce : sensibilité : PAF = 92,9% et iRBD = 100%
- Spécificité 95,2% : 1 Gayet-Wernicke, 1 MA, 1 NP sensitive

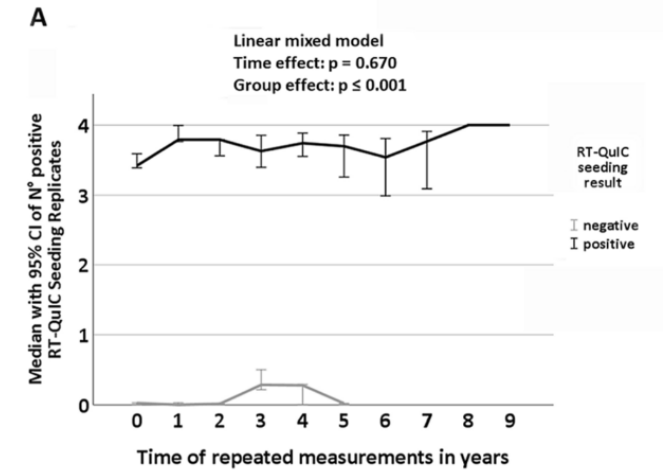
- MCL stade probable vs stade possible



Bongianni M et al, Ann. Clin. Transl. Neurol 2019

- Sensibilité : 17/20 probable (85%)
- Sensibilité : 0/6 possible (0%)

- Suivi longitudinal avec PL répétées (n=100 patients, 61 MP sporadique et 39 MP génétiques)

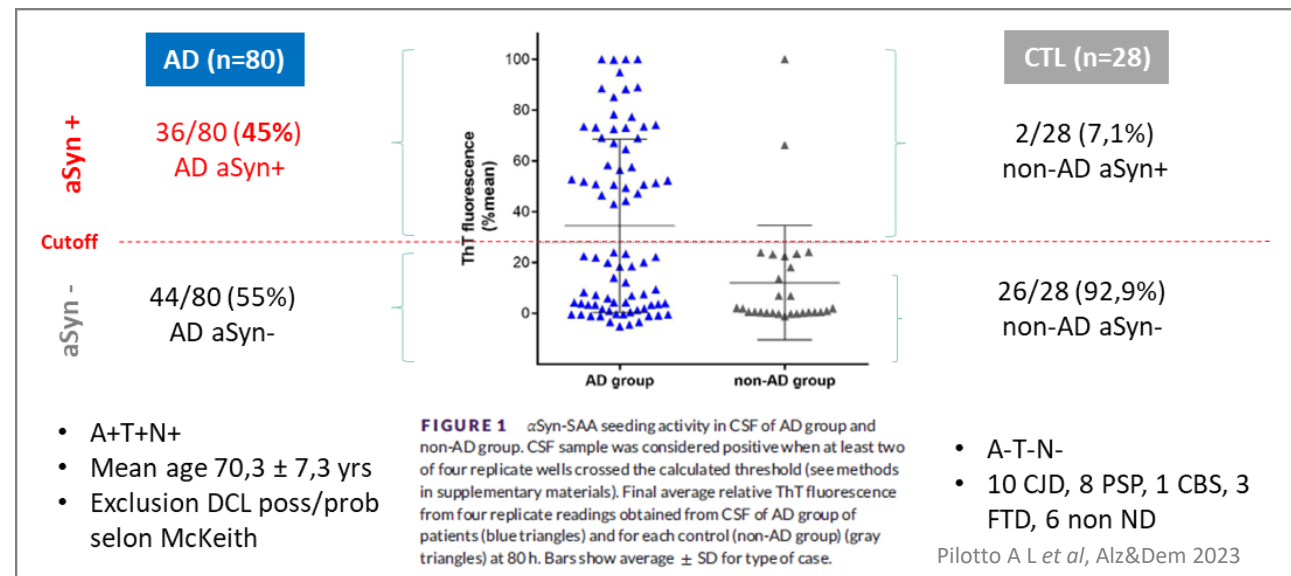


Brockman K et al, Acta Neuropathol Comm 2021

- Pas de changement dans les critères d'agrégation au cours du temps (PL répétées)
- 86% sensibilité pour DCL dans cette étude (n=49; probable)

# DÉTECTION « PRÉ-CLINIQUE » : LE CAS DES CO-LÉSIONS DANS LA MA

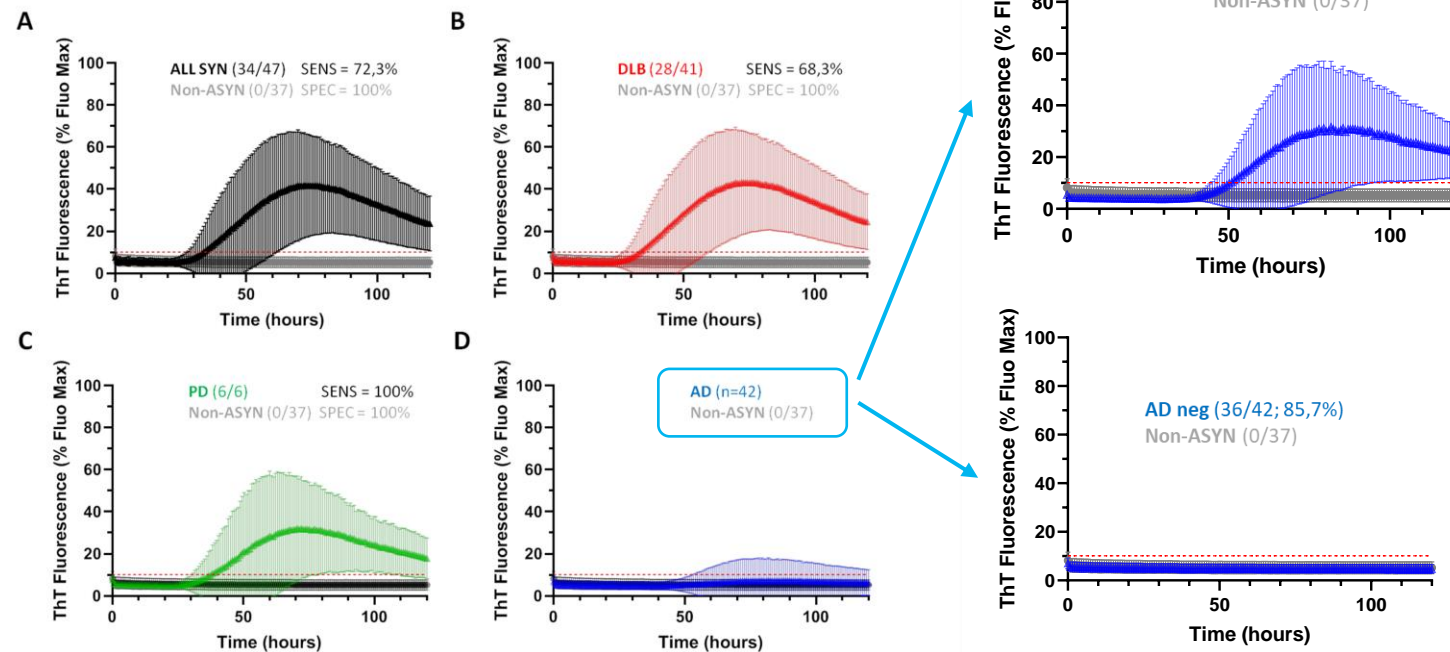
- Spécificité n'est pas complètement de 100%...
- Études neuropathologiques : association de lésions dans 40% à 70% des cas Brenowitz et al Alz & Dem 2017 ; Kovacs G Curr Opin 2019
- Étude d'une cohorte de patients atteints de maladie d'Alzheimer avec exclusion des patients compatibles MCL selon critères McKeith (possible; probable)



- RTQuiC Asyn positive dans 45% des MA étudiés  
→ les patients « MA » sont des « mauvais » contrôles pour la mise au point technique
- Chaque marqueur n'est pas exclusif des autres lésions neuropathologiques

# DÉTECTION « PRÉ-CLINIQUE » : LE CAS DES CO-LÉSIONS DANS LA MA

- Protocole développé au laboratoire de Lyon (M Verdurand, F Kaczoroswki) : sensibilité : 72,3% et spécificité : 100%
- Mais : MA: 6/42 positif en Asynucléine



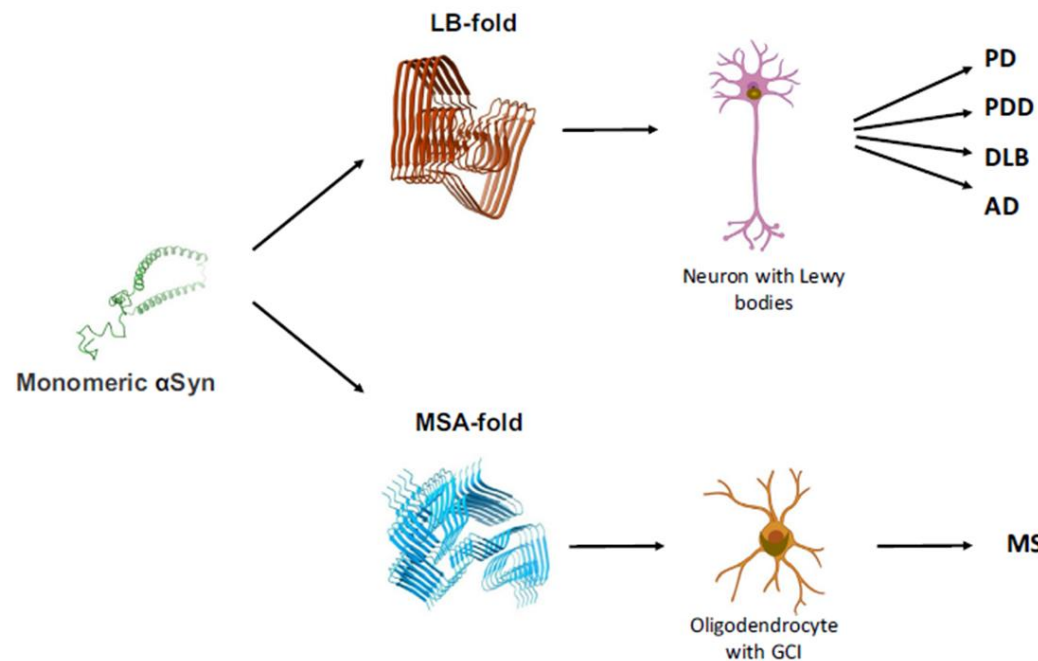
McKeith's clinical criteria in AD aSyn+	number/total
Fluctuating cognition	1/6
Recurrent visual hallucinations	1/6
REM sleep behavior disorders	1/6
One or more spontaneous cardinal features of parkinsonism	3/6
1 out of 4	4/6
2 out of 4	1/6
3 out of 4	0/6
All 4 clinical criteria	0/6
Reduced dopamine transporter uptake in basal ganglia demonstrated by SPECT or PET	1/1
Biological AD profile	6/6

- A la relecture des dossiers, tous les MA Asyn+ présentait soit un signe isolé s'inscrivant dans les critères de McKeith; soit l'ont présenté au cours du suivi

Verdurand M et al, under review

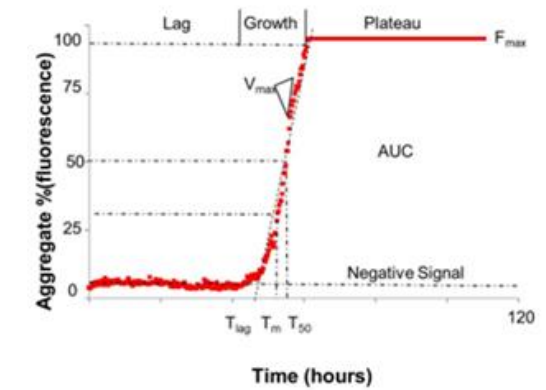
# DIFFÉRENCIER LES SYNUCLEINOPATHIES ENTRE ELLES ?

- Les agrégats sont différents sur le plan histo-pathologique
- Hypothèse : les critères d'agrégation pourraient différencier ces « souches » entre elles

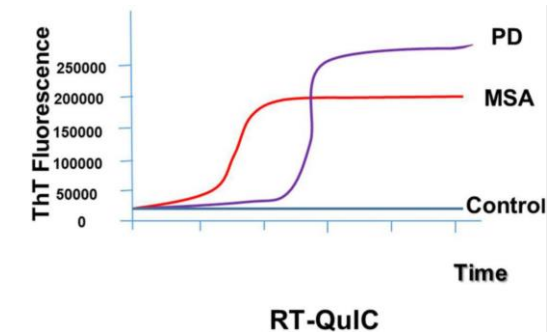


Trends in Biotechnology

Soto C, Trends in Biotechno 2024



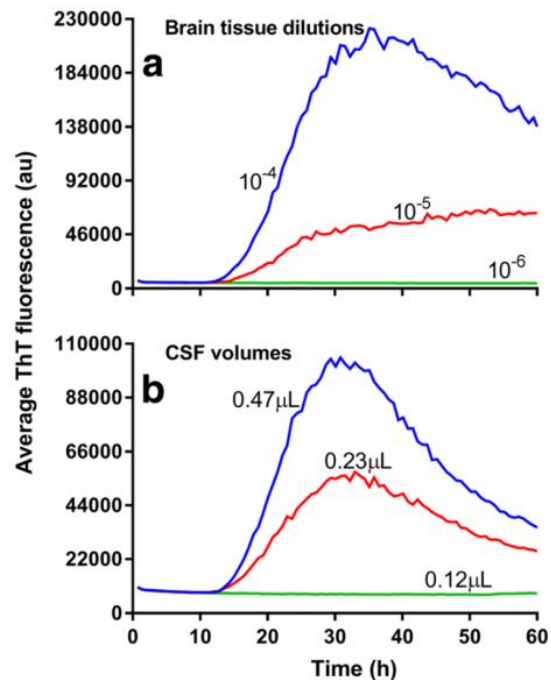
Poggiolini I et al, Brain 2022



Li J et al, Front. Mol. Neurosci. 2022

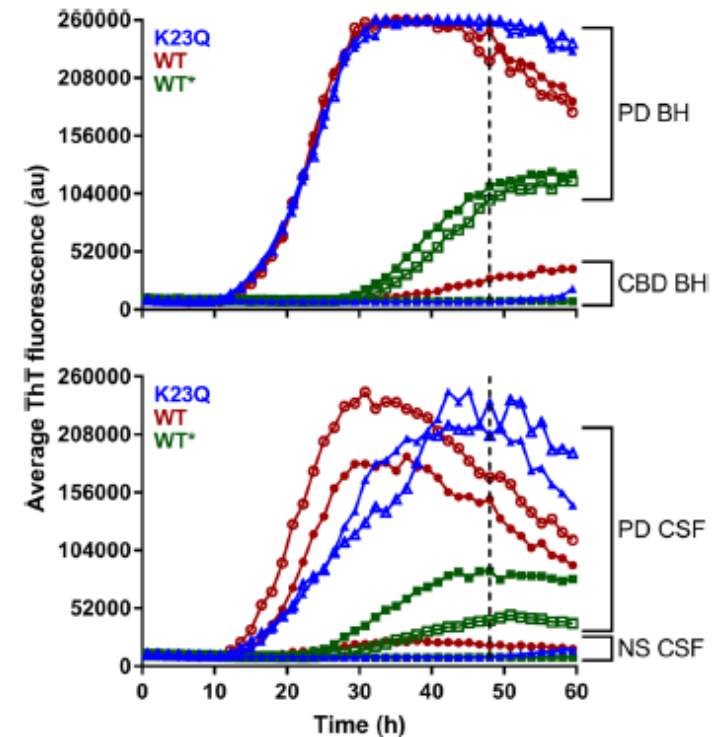
# DIFFÉRENCIER LES SYNUCLEINOPATHIES ENTRE ELLES ?

- Effet-dose :
  - Intensité relative de la réaction proportionnelle à la quantité d' $\alpha$ -synucléine présente dans l'échantillon



Groveman B et al, Acta Neuropath Comm 2018

- Effet de la recombinante utilisée :
  - Vitesse et intensité de réaction variable



Groveman B et al, Acta Neuropath Comm 2018



# DIFFÉRENCIER LES SOUCHES ? ET DONC LES MALADIES ?

- Variabilité de la méthode ++

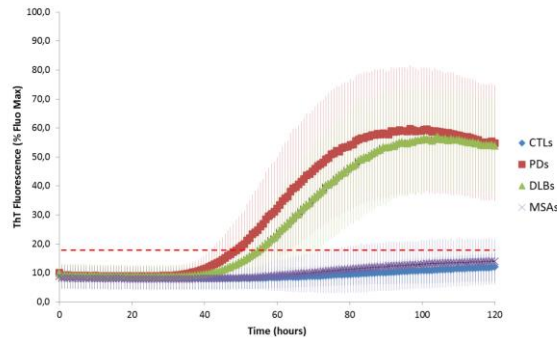
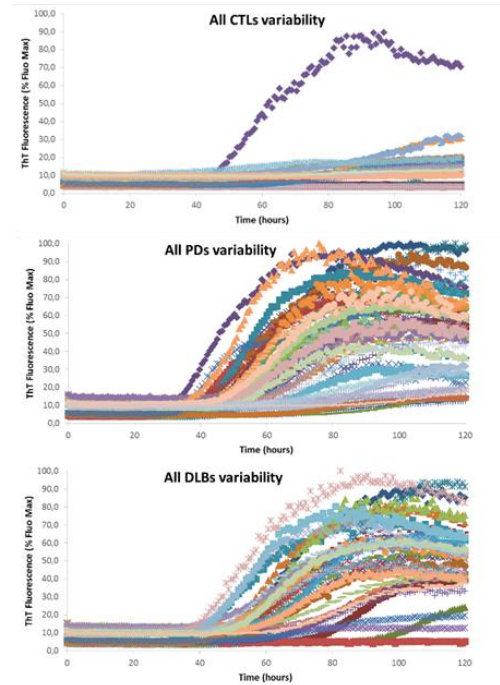
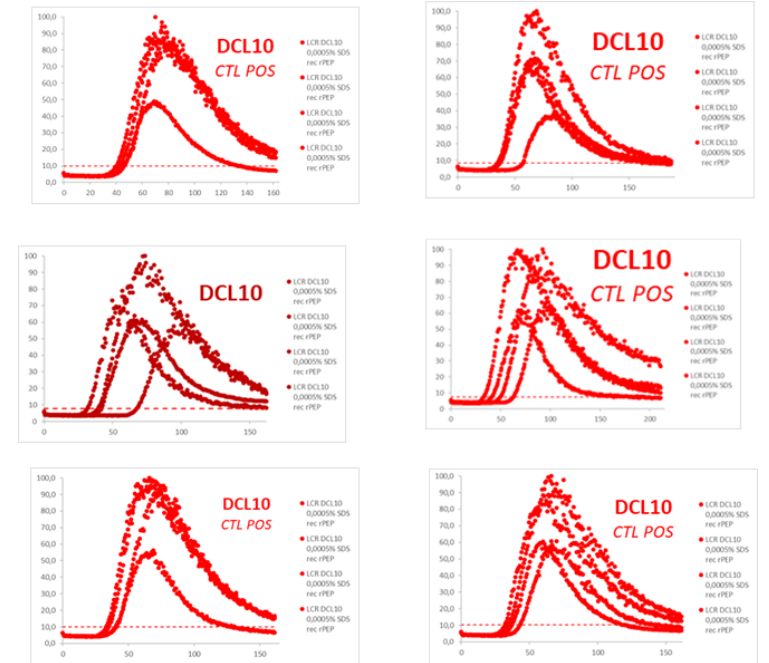


Figure 2. Detection of  $\alpha$ -synuclein (aSyn) activity in Brain Homogenates (BH) using a commercial aSyn recombinant protein (full-length human aSyn, AJ Roboscreen GmbH, Germany). Reactions were seeded in quadruplicate with BH from healthy controls (CTL; n=4), Parkinson's disease (PD; n=7), dementia with Lewy bodies (DLB; n=7), and multiple system atrophy (MSA; n=5) patients. All patients were assayed in quadruplicate. Cutoff was calculated as the mean of all CTLs during the first 10 hours plus 30 standard deviation (19%; red dashed line).



Neurochimie - HCL

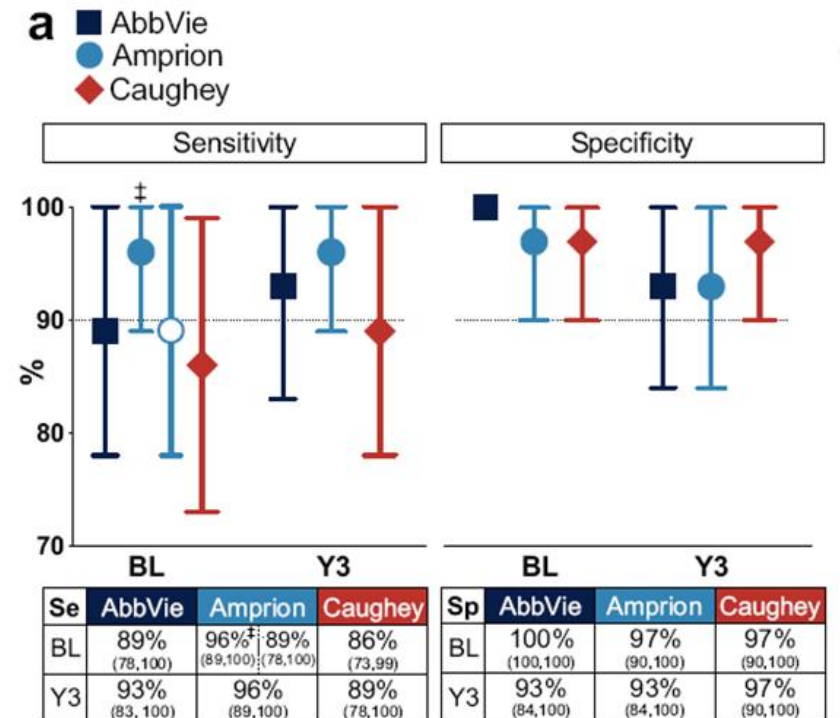


Neurochimie - HCL

- Hypothèse séduisante ... mais effet :
  - de la « dose » sur les critères d'agrégation, de la recombinante (voir lot ?), de l'automate (lecture fluo) sur les paramètres des courbes d'amplification...
- Différencier les souches semble difficile à ce stade ...

# COMPARAISON INTER-LABORATOIRES

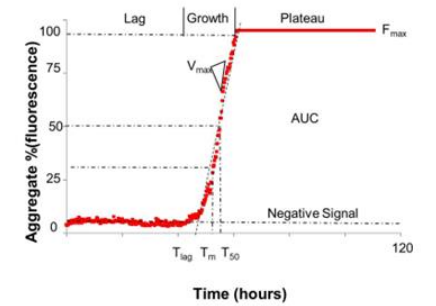
- **3 protocoles différents dans 3 laboratoires différents:**
  - Analyse en aveugle de 140 échantillons (MP et contrôles), collectés à l'inclusion et après 3 ans d'évolution
- **Résultats similaires et concordants**
- **Mais différents quand même....**



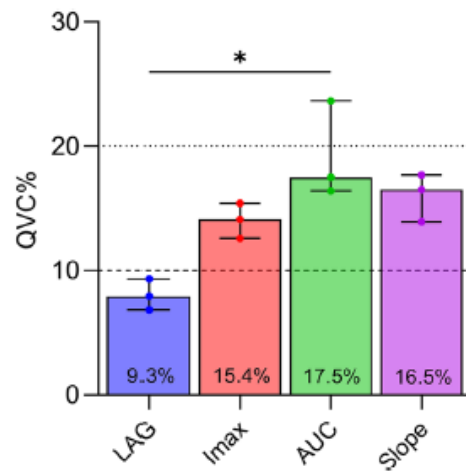
Russo M et al., *Acta Neuropathol Comm*, 2021

# CONSIDÉRATIONS PRÉ-ANALYTIQUES

- Critères qualité de la méthode: variations inter manip, stabilité cycles congélation / décongélation...

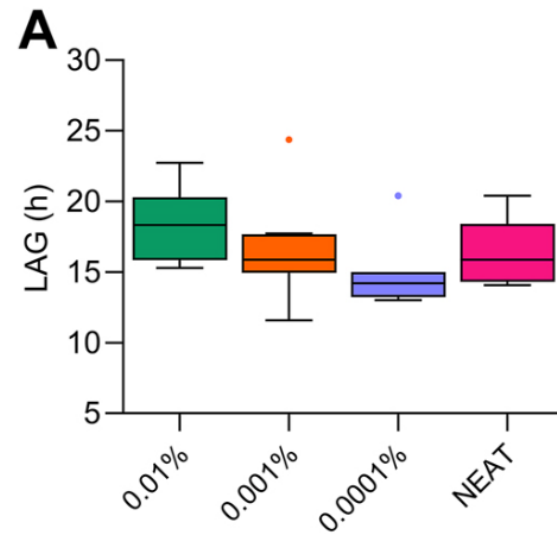


Poggiolini I et al, Brain 2022



Mammana A et al., CCLM 2024

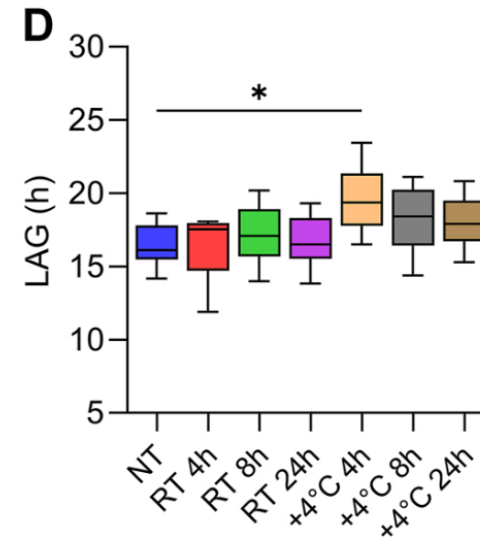
→ Lag phase = paramètre le moins variable



Mammana A et al., CCLM 2024

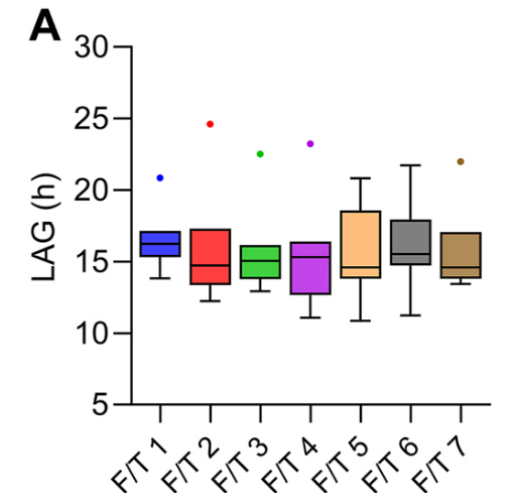
→ Effet inhibiteur du sang : 1% et 0,1% inhibition totale de la réaction

→ Plus concentration élevée, plus le temps de réaction est long



Mammana A et al., CCLM 2024

→ Rester à +4°C retarde le démarrage de la réaction



Mammana A et al., CCLM 2024

→ Pas d'effet des cycles de congélation / décongélation

# RTQUIC ASYN: POINTS IMPORTANTS & LIMITES

- **Technique séduisante avec potentiel énorme... mais...**
  - Technique difficile à maîtriser : prends du temps, mains expérimentées +++
  - Pas encore d'harmonisation internationale (protocole, critères de positivité...)
  - Qualité de la protéine recombinante : effet majeur de variabilité sensibilité / spécificité
  - Risque si rupture d'approvisionnement en protéine recombinante (permanence du diag.)
  - Énormément de développement et d'optimisation encore en cours
  - Comparaison inter-laboratoires indispensables
- Très spécifique (négatif chez non Asyn) mais sensibilité au mieux de l'ordre de 80-85% sur cohortes sélectionnées
- Données de la littérature à partir de cohortes hyper sélectionnées = pas du tout « vie réelle »

# RTQUIC ASYN: POINTS IMPORTANTS & LIMITES

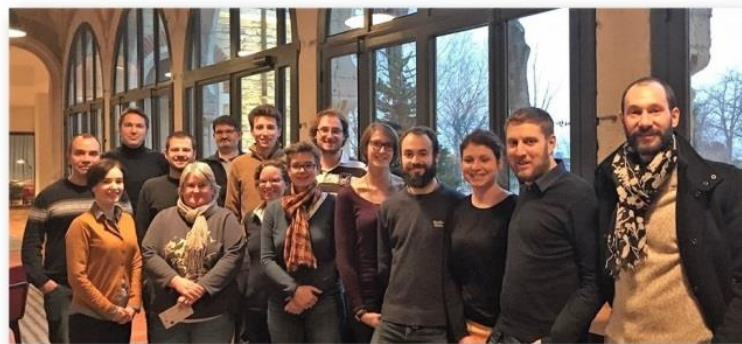
- Développement sur d'autres matrices que le LCS : peau, muqueuse olfactive, sang...
- Pas / peu d'amplification pour les AMS: notion de souches, localisation des agrégats, adaptation des protocoles ++ ??
- Technique non influencée par présence concomitante autres agrégats protéiques (pas de réactions croisées)
- Tellement porteur d'espoir que déjà proposé comme critère de preuve de lésions neuropathologiques *in vivo* dans les critères diagnostic pour la recherche dans la maladie de Parkinson Simuni T et al, Lancet Neurology 2024

# MERCI !



Pathologies Dégénératives  
Neurochimie - Biochimie et Biologie  
Moléculaire - LBMMS HCL HCL

Les équipes de Neuropathologie et les équipes cliniques



Equipe BIORAN; CNRS UMR 5292, INSERM U1028



GG. Kovacs



V. Beringue  
Equipe Macro-Assemblages  
Protéiques et Maladies à  
Prion (MAP<sup>2</sup>)



T. Honegger  
L. Miny



I. Lachman  
K. Waniek



MERCI POUR VOTRE  
ATTENTION



Module 3

# Actualités sur les biomarqueurs de MCL

Focus sur la RT-QuIC

**Dr Isabelle QUADRIO**

*Biologiste en Neurobiologie et  
Neurogénétique*



**LE VINATIER**  
PSYCHIATRIE UNIVERSITAIRE  
LYON MÉTROPOLE



Association des Aidants  
et Malades à Corps de Lewy

[www.a2mcl.org](http://www.a2mcl.org)

06 62 63 34 97

[contact@a2mcl.org](mailto:contact@a2mcl.org)



**LE VINATIER**

PSYCHIATRIE UNIVERSITAIRE  
LYON MÉTROPOLE

