

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2021

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Etude immunohistochimique post-mortem de l'expression de la portion
amino-terminale clivée de la protéine Tau dans le cerveau de vingt-cinq
patients atteints de paralysie supranucléaire progressive**

Présentée et soutenue publiquement le 25 octobre 2021 à 18h00
au Pôle Formation
par Alexandre LEPAGE

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Claude-Alain MAURAGE

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Vincent DERAMECOURT

Madame le Docteur Malika HAMDANE

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Romain PERBET

Avertissement

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises
dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

Liste des abréviations

DAB : Di-Amino-Benzidine (3,3'-Diaminobenzidine)

DCB : Dégénérescence Cortico-Basale

DLFT : Dégénérescence Lobaires Fronto-Temporales

DNF : Dégénérescence neurofibrillaire

ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*

GTP : Guanosine triphosphate

IHC : Immunohistochimie

MA : Maladie d'Alzheimer

MP : Maladie de Parkinson

PHF : *Paired Helical Filaments*

PSP : Paralyse supranucléaire progressive

PSP-P : PSP de forme parkinsonienne

PSP-RS : PSP de type syndrome de Richardson

SNC : Système nerveux central

TA : Touffe astrocytaire

Table des matières

RESUME	1
INTRODUCTION	2
1. LES TAUOPATHIES	2
1.1. La protéine Tau : généralités	3
1.2. Structure et aspects moléculaires	4
1.3. Principaux aspects fonctionnels	6
2. LA PSP : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES	7
3. LA PSP : PRESENTATION CLINIQUE	8
4. CARACTERISTIQUES HISTOPATHOLOGIQUES DE LA PSP	9
5. PROGRESSION DE LA PATHOLOGIE TAU DANS LA PSP	12
6. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES HISTOPATHOLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	13
7. LES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DE LA PROTEINE TAU	15
8. LES ISOFORMES TRONQUEES DE LA PROTEINE TAU	16
9. ISOFORME TRONQUEE ACMET11-TAU	17
10. OBJECTIFS DE CETTE ETUDE	19
MATERIEL ET METHODES	20
1. SELECTION DE LA COHORTE ET DES TISSUS CEREBRAUX	20
2. PROCEDURE IMMUNOHISTOCHEMIE ET SPECIFICITES DES ANTICORPS	21
3. INTERPRETATION DES IMMUNOMARQUAGES	23
3.1. Présentation du logiciel QuPath	23
3.2. Méthode d'interprétation des immunomarquages	24
3.2.1. Définition de la surface d'étude	24
3.2.2. Quantification des populations cellulaires	26
3.2.3. Détermination de la densité lésionnelle globale	29
4. ANALYSE DES DONNEES	31
RESULTATS	32
1. DESCRIPTION DES CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET HISTOPATHOLOGIQUES DE LA COHORTE	32
2. DESCRIPTION DES IMMUNOMARQUAGES	34
2.1. Immunomarquage avec l'anticorps 2C12	34
2.2. Immunomarquage avec l'anticorps Nter	36
3. SURFACE ANALYSEE	38
4. ETUDE DE LA FORME ACMET11-TAU DANS LA PSP	39
4.1. Comparaison des quantifications lésionnelles dans BA4	39
4.2. Comparaison des quantifications lésionnelles dans l'hippocampe	42
4.3. Analyses de corrélation	47
4.3.1. Corrélation entre AT8 et 2C12	47
4.3.2. Corrélation entre AT8 et Nter	50
5. EVALUATION DE LA SPECIFICITE DE L'ANTICORPS 2C12 POUR LES LESIONS DE TYPE ALZHEIMER	52
5.1. Tableaux récapitulatifs des quantifications lésionnelles pour les anticorps AT8 et 2C12	53
5.2. Diagramme de flux de l'étude	55
5.3. Analyse de la densité lésionnelle globale	56
5.3.1. Description des résultats	56
5.3.2. Analyses de corrélation	60
5.4. Analyse comparative des quantifications lésionnelles par groupes	64
5.4.1. Etude comparative pour l'anticorps 2C12	64
5.4.2. Etude comparative pour l'anticorps AT8	67
5.4.3. Etude comparative pour l'anticorps Nter	71
5.5. Analyses de corrélation sur les lésions neuronales	74
DISCUSSION	78
1. ETUDE DE LA FORME ACMET11-TAU DANS LA PSP	78
2. SPECIFICITE DE L'ANTICORPS 2C12 POUR LES LESIONS CEREBRALES DE MA	81
3. FORCES ET LIMITES DE CETTE ETUDE	83
4. PERSPECTIVES	85
CONCLUSION	86
REFERENCES	87

Résumé

Contexte :

La paralysie supranucléaire progressive (PSP) est une maladie neurodégénérative rare, affectant principalement la motricité, et considérée comme une tauopathie primaire. L'un des axes de recherche des tauopathies porte sur les modifications post-traductionnelles de la protéine Tau. Le laboratoire « Alzheimer et Tauopathies » a découvert l'isoforme AcMet11-Tau et développé un anticorps ciblant cette troncation : l'anticorps 2C12. Cette isoforme a principalement été étudiée sur la maladie d'Alzheimer (MA). L'objectif de ce travail était d'étudier la présence de cette isoforme dans les dépôts de protéine Tau des patients atteints de PSP. L'objectif secondaire était d'évaluer la spécificité de 2C12 pour les lésions cérébrales de MA.

Méthode :

Deux régions cérébrales ont été étudiées : le cortex moteur primaire et l'hippocampe. Trois anticorps ont été utilisés : 2C12 et les anticorps AT8 et Nter 12.21. L'analyse des tissus a été réalisée grâce au logiciel QuPath ©, en se basant sur la densité lésionnelle globale de l'immunomarquage calculée par le logiciel et les quantifications manuelles des populations lésionnelles. Deux groupes de patients ont ensuite été constitués, selon la présence (PSP+MA) ou non (PSP) de plaques neuritiques.

Résultats :

La cohorte comptait 25 patients. 15 patients (60%) comportaient des lésions de MA dans l'hippocampe, 3 patients (12%) en comportaient dans le cortex cérébral. Les quantifications des différentes lésions ont montré une différence significative de densités lésionnelles entre 2C12 et l'anticorps AT8, avec des densités lésionnelles très faibles pour 2C12. Ces résultats étaient en faveur de l'absence de l'isoforme clivée AcMet11-Tau dans la PSP. Néanmoins, la présence de rares lésions marquées par 2C12 chez ces patients atteints de PSP ne permettait pas d'assurer la spécificité de cet anticorps pour les lésions de type Alzheimer. L'analyse en sous-groupe a montré une différence significative pour la densité lésionnelle globale entre les deux groupes uniquement dans le cortex frontal. Aucune différence entre les groupes n'était observée dans l'hippocampe et pour les quantifications lésionnelles. Il existait cependant dans l'hippocampe une corrélation positive entre AT8 et 2C12 dans le groupe PSP+MA mais pas dans le groupe PSP. Ces données sont en faveur de la spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions cérébrales de MA.

Introduction

Les maladies neurodégénératives se caractérisent toutes par une perte neuronale progressive. Elles affectent des sujets de tous les âges et ont des symptômes variés. La majorité d'entre elles touchent les personnes âgées et sont responsables du déclin progressif et inéluctable de leur autonomie. Il en résulte de lourdes conséquences fonctionnelles, psychologiques et sociales. Leur évolution aboutit à une perte d'autonomie et représentent par conséquent un enjeu de santé publique majeur.

1. Les Tauopathies

Les maladies neurodégénératives sont aujourd'hui classées du point de vue histopathologique et biochimique selon la composition des agrégats observés (1,2). La paralysie supranucléaire progressive (PSP) est considérée comme une tauopathie appartenant au groupe des Dégénérescences Lobaires Fronto-Temporales (DLFT) (3). La protéine Tau est à ce jour identifiée comme étant le principal agent responsable d'où l'appellation de tauopathie primaire (2).

1.1. La protéine Tau : généralités

La protéine Tau (*Tubule associated unit*) a été identifiée dans les années 1970 comme un composant essentiel à la formation des fibrilles de microtubules à partir des monomères de tubuline (4–6).

Les microtubules sont des éléments du cytosquelette. Leur diamètre est d'environ 25 nm et leur longueur est variable du fait de leur activité de polymérisation et de dépolymérisation. Les microtubules sont en effet formés de dimères de tubuline, alpha et beta dont la dynamique nécessite l'hydrolyse du GTP. Les microtubules assurent le maintien de l'architecture neuronale, et ils exercent un rôle important dans le transport axonal d'organites et de vésicules sécrétoires. Ils font intervenir de nombreuses protéines associées, les MAP (Microtubule Associated Protein). Il existe des protéines motrices, les kinésines et les dynéines, qui permettent le transport d'éléments d'une extrémité à l'autre du microtubule, des protéines de séquestration des dimères de tubuline libres, des protéines de fragmentation, et des protéines stabilisatrices comme la protéine MAP2 et la protéine Tau.

La protéine Tau est exprimée dans le système nerveux central, mais également dans le rein, le poumon et le testicule (7). Dans le neurone, Tau est principalement localisée au niveau des axones pour réguler la stabilité des microtubules, leur dynamique et les systèmes de transports. (8,9).

1.2. Structure et aspects moléculaires

La protéine Tau est codée par le gène *MAPT* localisé sur le chromosome 17 en position 17q21 (10,11). Le gène *MAPT* comprend 16 exons. Les exons 1, 4, 5, 7, 9, 11 et 12 sont présents quel que soit l'isoforme, tandis que les autres sont soumis à un épissage alternatif (12). Il existe six isoformes de Tau qui sont exprimées physiologiquement dans le cerveau adulte humain (13). Elles sont issues de l'épissage alternatif des exons 2 et 3, et de l'exon 10 (9).

Ces isoformes sont désignées conventionnellement par le nombre d'exons qu'elle possède au niveau du domaine N-terminal et au niveau de la région répétée. Elles sont donc dénommées 2N/4R si elles possèdent les exons 2, 3 et 10. On retrouve de cette façon des formes 2N/3R, 1N/4R, 1N/3R, 0N/4R, et enfin 0N/3R si elles ne possèdent ni les exons 2 et 3 à la partie N-ter, ni l'exon 10 dans la région répétée.

Le ratio 3R/4R dans un cerveau humain adulte sain est de 1/1, et la forme 1N est prépondérante (54% d'isoforme 1N, 37% de 0N et 9% d'isoforme 2N) (14).

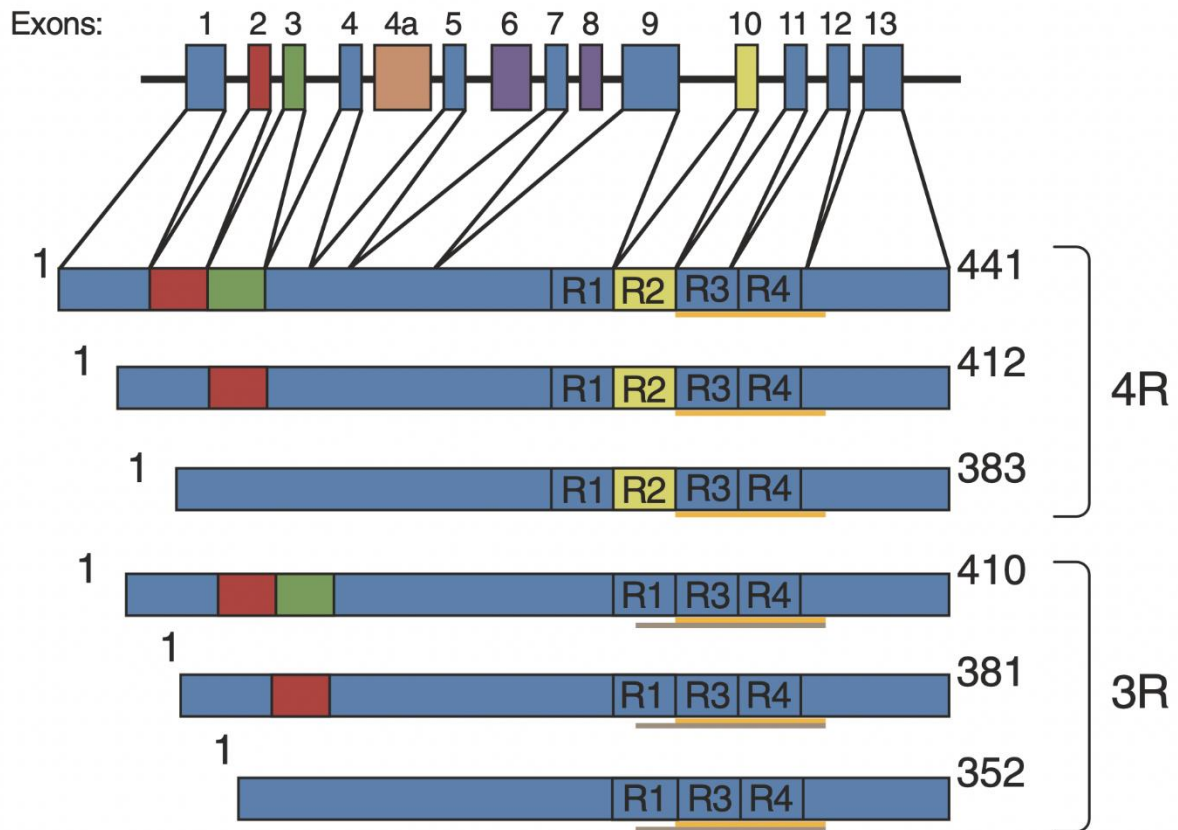


Figure 1. Epissage alternatif du transcrit primaire du gène *MAPT* au niveau du cerveau humain. Le transcrit primaire du gène *MAPT* est soumis à un épissage alternatif (inclusion ou non des exons 2, 3 et 10). Six isoformes sont ainsi générées dans le cerveau humain adulte, composées de 352 à 441 acides aminés. D'après Goedert et al., 2019.

1.3. Principaux aspects fonctionnels

La protéine Tau est formée de quatre domaines possédant des caractéristiques biochimiques propres et des fonctions spécifiques. Un domaine amino-terminal, constitué des acides aminés 1 à 150 et codé par les exons 1, 2, 3, 5 et 7, constitue le « domaine de projection » de la protéine. On trouve ensuite une région riche en proline, formée par les acides aminés 151 à 243, un domaine de liaison aux microtubules (acide aminés 244 à 369) et une queue carboxy-terminale (acide aminés 370 à 441) (15).

Le domaine N-terminal ne se lie pas directement aux microtubules. Il permet la régulation de la dynamique du microtubule (16), l'inhibition du transport axonal (17) la distribution subcellulaire de la protéine Tau (18,19) , l'association à la membrane plasmique via sa protéine de liaison annexine A2 (20).

La région riche en proline aurait une association particulière avec certaines protéines localisées au niveau dendritique et synaptique (21–23). Il a aussi été démontré l'implication de cette région comme un site de liaison à l'ADN et à l'ARN, agissant comme facteur protecteur en cas stress cellulaire (24).

Le domaine de liaison aux microtubules, permet l'interaction de la protéine Tau avec les microtubules et la tubuline, selon un mode d'association et de dissociation rapide ou « kiss and hop » (25). Elle est caractérisée par la présence de motifs répétés (R1, R2, R3 et R4). L'exon 10, soumis à un épissage alternatif, code ainsi le motif R2. Il a été démontré que d'autres protéines peuvent se lier au domaine de liaison aux microtubules, comme la F-actine (26), l'apolipoprotéine E (27), la présénilline (28), l'histone désacétylase 6 (29) ou encore l'alpha-synucléine (30).

Le rôle de la région carboxy-terminale n'est encore que partiellement connu. Quelques études ont proposé qu'une altération de cette région pourrait influencer sur la liaison avec certains partenaires, et la propension à la phosphorylation et à l'agrégation (31–33).

2. La PSP : données épidémiologiques

La PSP est une maladie neurodégénérative rare. Sa prévalence est estimée à environ 5 personnes pour 100 000 (34). En comparaison, la maladie d'Alzheimer, maladie neurodégénérative la plus fréquente, affecte environ 1,1 million de personnes en France. La maladie de Parkinson affecte en France environ 200 000 personnes et arrive en seconde position (d'après Santé publique France, 2016).

L'incidence de la PSP aurait augmentée au cours des dernières décennies (35). Les facteurs environnementaux pourraient être responsables de cette augmentation. Il a en effet été identifié un cluster de patients atteints de PSP dans le Nord de la France, au sein de la commune de Wattrelos et Leers (36). L'incidence y était 12,3 fois plus élevée qu'attendue. Les toxines issues des industries de métallurgie, du textile et du cuir pourraient expliquer ce cluster. Une contamination des plantes domestiques par l'arsenic ou le chromium hexavalent a aussi été évoquée. Cependant aucun de ces facteurs de risque pouvant expliquer cette surprenante incidence n'a été identifié à ce jour.

3. La PSP : présentation clinique

La PSP a été décrite en 1964 par Steele, Richardson et Olszewski (37). Cette maladie affecte principalement la motricité, se caractérisant par l'apparition d'une rigidité axiale, d'une bradykinésie et d'une ophtalmoplégie supranucléaire verticale. Ce dernier symptôme se traduit par l'impossibilité pour le patient d'effectuer un mouvement du regard de haut en bas, causé par la dégénérescence des noyaux rostraux interstitiels du faisceau longitudinal médian du tronc cérébral.

Le phénotype de cette maladie et son mode d'apparition peuvent être cependant très variables d'un patient à l'autre. Ainsi les critères diagnostiques ont été affinés en 1996 (NINDS-SPSP), 2009 (NNIPPS) puis 2017 pour aboutir aux critères MDS-PSP définis après revue de la littérature et d'après une cohorte anatomopathologique de 206 patients (38). Les critères MDS ont individualisés 8 présentations cliniques différentes de la maladie : par exemple la présentation classique, le syndrome de Richardson (PSP-RS), associe la présence de chutes précoces et une limitation de la verticalité du regard. On peut citer également la forme parkinsonienne PSP-P où la maladie se présente au début de son évolution comme un tableau de maladie de Parkinson dont la dopasensibilité est modérée. Les critères MDS-PSP ont également proposés trois degrés de certitude diagnostique : PSP probable, PSP possible et tableau clinique évocateur de PSP.

Le diagnostic de certitude est porté en post-mortem par examen neuropathologique.

4. Caractéristiques histopathologiques de la PSP

Il est fréquemment observé à l'examen macroscopique une atrophie du pallidum et du noyau sous-thalamique. Il peut être constaté une atrophie de l'hippocampe dans les stades avancés. Il est observé dans le mésencéphale une atrophie du tegmentum et une perte de la pigmentation de la substance noire. Il peut s'y associer une atrophie du noyau dentelé du cervelet (39).

L'examen microscopique sur coloration standard peut objectiver de façon non spécifique une perte neuronale régionale, et une gliose astrocytaire. Les lésions histopathologiques caractéristiques de la PSP se caractérisent par des agrégats de protéine Tau phosphorylée dont la forme 4R est prédominante. Ces agrégats sont observés dans les neurones, les astrocytes et les oligodendrocytes (40).

Les lésions neuronales se présentent sous la forme de dégénérescences neurofibrillaires (DNF) où l'on observe des enchevêtrements neurofibrillaires (*neurofibrillary tangles*) mis en évidence par coloration argentique ou en immunohistochimie. Il s'agit d'écheveaux épaissis et tortueux intracytoplasmiques, souvent localisés en périnucléaire. Ces derniers pourraient être à l'origine de l'altération des fonctions neuronales et de la perte de la plasticité synaptique, conduisant à la mort neuronale (12). Dans la PSP, les DNF se présentent de façon caractéristique sous la forme de « *globose tangles* » dans le tronc cérébral, le noyau sous thalamique et le noyau de Meynert. Les DNF corticales apparaissent quant à elle en flammèches « *flame-shaped* », enroulées ou curvilignes. Dans l'hippocampe, les DNF peuvent se présenter enfin sous la forme de « *ghost tangles* » (41).

Les lésions gliales caractéristiques de la PSP sont les touffes astrocytaires (TA). Elles sont décrites comme des arrangements radiaux de fibres ramifiées fines et longues, sans collatérales, qui parcourent le cytoplasme jusqu'au processus distaux des astrocytes, et dépourvues de noyaux amyloïdes (42). Les TA sont localisées fréquemment dans le cortex pré-moteur, les gyri frontaux moyens et supérieurs, et plus rarement dans le cortex temporal et limbique. Elles peuvent être observées aussi dans le putamen, le noyau caudé, la substance noire, le noyau dentelé du cervelet...(41) La fréquence des TA peut varier selon les cas (43). L'aspect stellaire et les fines ramifications des TA contrastent avec les « plaques astrocytaires » observées dans la dégénérescence cortico-basale (DCB), une autre tauopathie 4R. Les TA sont aussi à distinguer des astrocytes en formes d'épines « thorned-shaped » ou « spiny astrocytes » dont les processus prennent une forme de large cône. Ces derniers sont immunomarqués par la GFAP et sont observés chez les personnes âgées dans les régions périventriculaires, sous-épendymaires et sous-piales (41,44).

L'accumulation de protéine Tau peut aussi se matérialiser au niveau des oligodendrocytes par la présence d'un fin liseré cytoplasmique entourant leur noyau, appelé corps bobiné (*coiled body*). Ces lésions peuvent s'observer dans d'autres tauopathies comme la maladie à grains argyrophiles et la DCB (41,45,46). Dans la PSP ils peuvent être observés de façon non exhaustive dans la substance blanche, comprenant la capsule interne, le cortex, les noyaux gris sous corticaux, la substance blanche du cervelet (41).

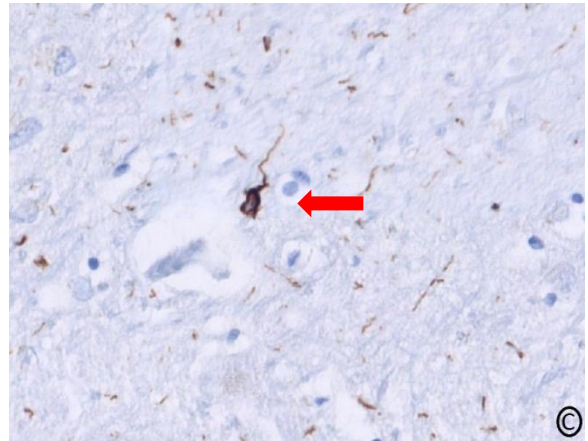
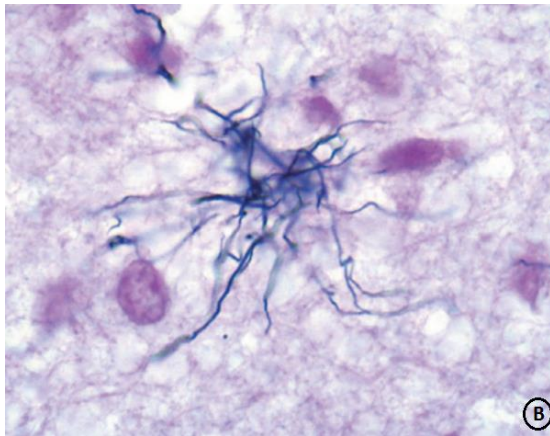
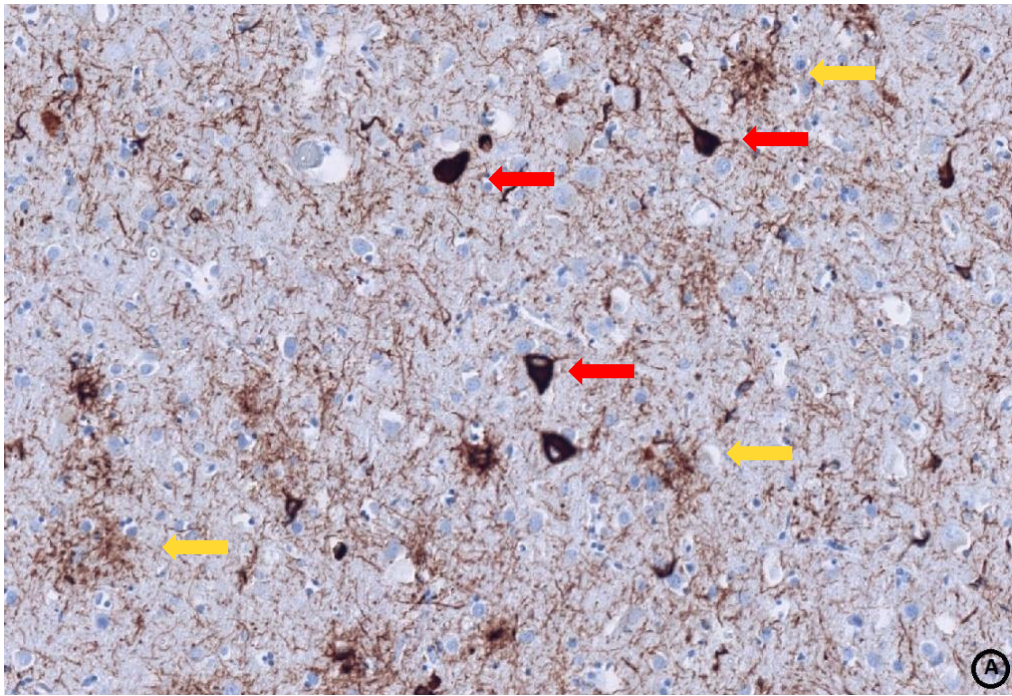


Figure 2. Lésions histologiques vues dans la PSP (les images A et C sont issues de l'immunomarquage par l'anticorps anti-Tau AT8 d'après la série étudiée).
A. Marquage de dégénérescences neurofibrillaires sous la forme de *globose tangle* dans BA4 (flèches rouges). Il s'y associe de nombreuses touffes astrocytaires (flèches jaunes).
B. Touffe astrocytaire constituée de fins prolongements ramifiés (imprégnation argentique de Gallyas). D'après Greenfield's Neuropathology 9th Edition.
C. Corps bobiné oligodendroglial (flèche rouge), à la jonction cortex/substance blanche de BA4.

5. Progression de la pathologie Tau dans la PSP

Il n'existe à l'heure actuelle pas de consensus sur l'évolution de la pathologie Tau dans la PSP. Il s'agit d'une pathologie rare en comparaison de la MA, dont les études se portent sur de plus petites séries. De plus les différentes présentations cliniques de la maladie pourraient impacter des régions spécifiques. Une récente étude de Kovacs et al, 2020 (3) qui a évalué la charge lésionnelle de la pathologie Tau à travers 206 cas, relevait par exemple une charge lésionnelle dans le cortex moins importante dans le type PSP-P que dans le type PSP-RS.

Cependant l'étude suggère également qu'il existerait un pattern précoce commun à tous les sous-types cliniques, ayant pour origine l'axe « pallido-nigro-luysien » (le pallidum, le locus niger et le noyau sous thalamique ou corps de Luys). La pathologie Tau se propagerait ensuite rostralement aux régions néocorticales et caudalement au cervelet et en particulier au noyau dentelé.

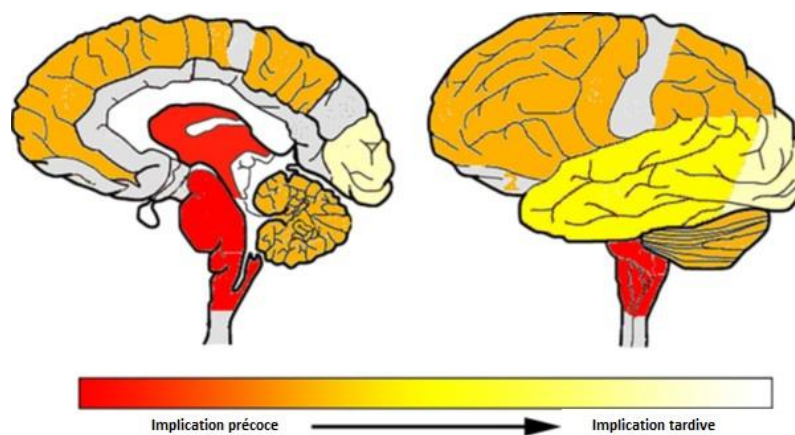


Figure 3. Pattern de progression de la pathologie Tau dans la PSP, adapté d'après Kovacs et al, 2020. Les noyaux gris centraux et les noyaux du tronc cérébral (représentant l'axe « pallido-nigro-luysien » supposés être impliqués précocement dans la pathologie sont colorés en rouge. Les régions néocorticales en particulier motrices et le cervelet sont colorés en orange. Les régions corticales temporales et occipitales sont colorées en jaune et jaune clair car supposées être impliquées tardivement dans l'évolution de la pathologie.

6. Principales caractéristiques histopathologiques de la maladie d'Alzheimer

En raison des lésions de maladie d'Alzheimer associées au diagnostic de PSP dans certains des cas de cette série ; et pour expliquer la méthode choisie pour conduire ce travail, le paragraphe suivant présente un résumé des principales caractéristiques histologiques de la maladie d'Alzheimer.

Bien qu'encore discuté, la MA serait considérée comme une tauopathie secondaire, où l'accumulation de dépôts de peptides β -amyloïde engendrerait un stress cellulaire conduisant à la pathologie Tau (47). Les lésions histologiques caractéristiques retrouvées dans la maladie d'Alzheimer sont les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) et les plaques neuritiques. Les plaques neuritiques sont constituées d'un noyau dense entouré par une couronne diffuse de peptides β -amyloïdes et de nombreuses neurites dystrophiques constituées de protéine Tau (39). En microscopie électronique les agrégats de protéine Tau apparaissent sous la forme de filaments appariés hélicoïdaux ou PHF pour *paired helical filaments* (48).

L'évolution de la pathologie Tau dans la MA a été décrite comme suivant un chemin séquentiel de propagation selon les 6 stades de la classification de Braak (49). L'atteinte du locus coeruleus puis du cortex entorhinal concerne les stades I et II. Il est fréquent de retrouver la présence d'une pathologie Tau à ces stades chez des patients de plus de 75 ans. Ces stades sont considérés comme cliniquement asymptomatiques (1). Le stade III se traduit par une atteinte débutante de l'hippocampe. Dans le stade IV, les lésions s'étendent au cortex temporal et aux régions limbiques. Ces stades III et IV vont se traduire cliniquement par des troubles cognitifs légers. L'atteinte de l'isocortex signe les stades V et VI et se traduit par un syndrome démentiel modéré à sévère.

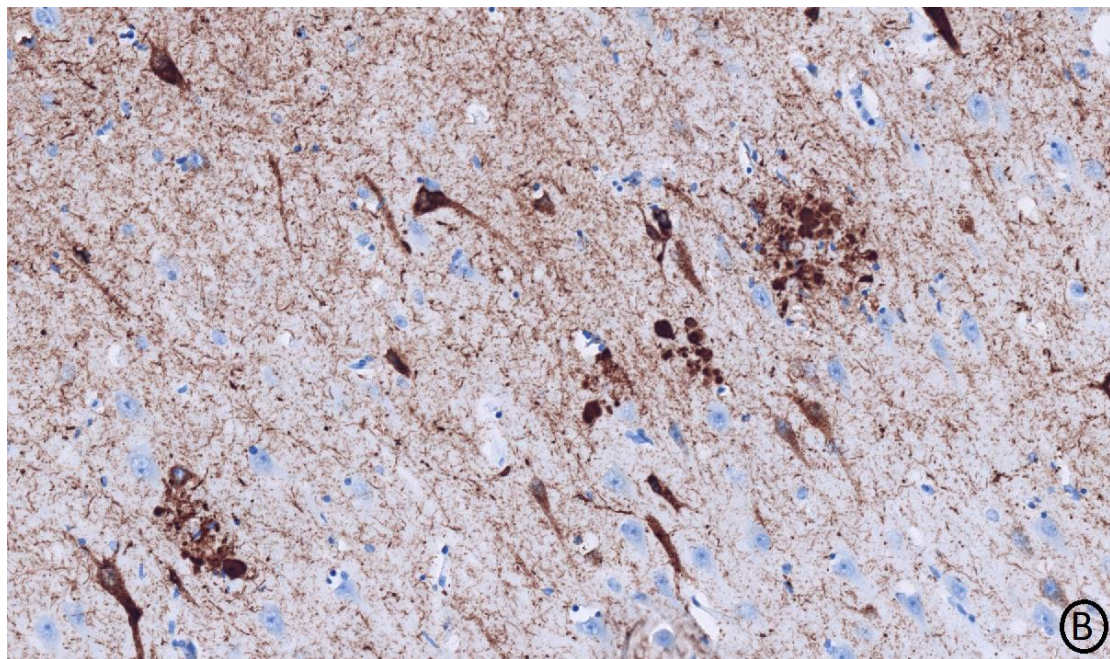
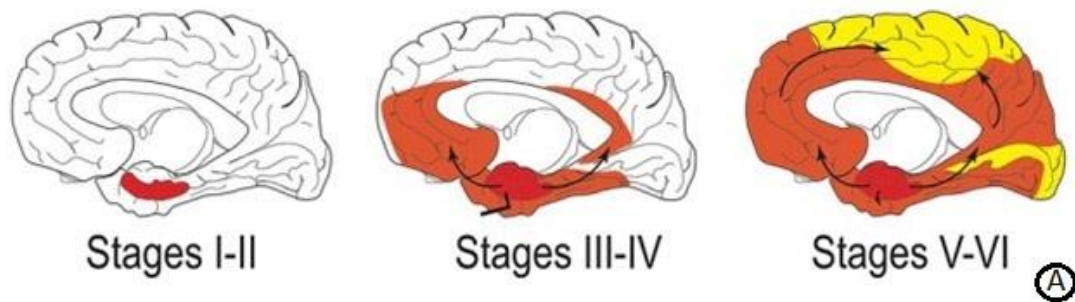


Figure 4. Pathologie Tau dans la maladie d'Alzheimer.

A. Progression de la pathologie Tau selon les 6 stades de Braak. Adaptée de Colin et al., 2019 (50). On observe en rouge l'atteinte limitée au locus coeruleus et au cortex entorhinal dans les stades I et II. Puis la pathologie Tau se propage à l'hippocampe et aux aires temporales matérialisés en orange dans les stade III et IV ; avant d'atteindre les régions motrices et visuelles matérialisées en jaune dans les stades V et VI.

B. Plaques neuritiques et DNF dans la corne d'Ammon (immunomarquage par l'anticorps anti-Tau AT8 d'après la série étudiée).

7. Les modifications post-traductionnelles de la protéine Tau

Les mécanismes aboutissant à la formation des agrégats de Tau ne sont que partiellement connus dans les tauopathies. Les modifications post-traductionnelles de la protéine sont une des principales pistes d'étude. Parmi elles, la dérégulation du processus de phosphorylation/déphosphorylation physiologique de Tau est le mécanisme le plus étudié et le plus décrit.

La phosphorylation peut avoir lieu sur les acides aminés sérine, thréonine ou tyrosine. Il existe plus de 85 sites phosphorylables identifiés sur Tau (1,51). Il a été montré la présence d'une phosphorylation anormale et excessive de la protéine Tau dans les tauopathies (52) et que cette dérégulation pourrait contribuer d'une part à la perte de liaison aux microtubules engendrant leur dépolymérisation ; et d'autre part à des anomalies de conformation délétères de Tau aboutissant à la formation d'espèces toxiques (53–55). Il pourrait exister une dérégulation de l'activité de déphosphorylation par les phosphatases : la protéine phosphatase A2 qui assure plus de 70% de l'activité de déphosphorylation dans le tissu cérébral, verrait son activité réduite de 50% dans la maladie d'Alzheimer (56).

De nombreuses autres modifications post-traductionnelles pourraient être impliquées. Il s'agit par exemple de la N-glycosylation qui pourrait être délétère en affectant la conformation de la protéine (57). Ces mécanismes sont principalement explorés dans la MA (58), mais restent peu décrits dans la PSP.

8. Les isoformes tronquées de la protéine Tau

La troncation de la protéine Tau est une modification post-traductionnelle dont la nature physiologique ou pathologique reste encore indéterminée. Ce processus a été supposé par la mise en évidence de fragments de petite taille au sein de DNF de patients atteints de MA (59). Il a été montré que la troncation de la protéine Tau à son extrémité C-terminale, ou conjointement à ses extrémités N-terminale et C-terminale, affecte ses propriétés biochimiques et fonctionnelles et entraînerait un gain de fonction toxique (60,61).

Il a été découvert, dans la MA, deux sites de clivage à la portion C-ter, au niveau de l'acide glutamique 391 (E391) et en regard de l'acide aspartique à la position 421 (D421) qui favorisent la polymérisation de la protéine Tau en filaments insolubles (39,62). La forme tronquée au niveau D421 serait associée à un stade précoce de la maladie (62).

En revanche dans la PSP, une récente étude a montré par IHC l'absence de ces deux troncations en E391 et D421, que ce soit sur les lésions de DNF ou les TA (39). La portion amino-terminale de Tau reste aujourd'hui peu explorée dans la PSP. Pourtant l'identification de nouvelles formes pathologiques de la protéine Tau tronquée pourrait permettre de développer de nouvelles cibles thérapeutiques en immunothérapie, par blocage de la formation d'espèces pathogènes, en empêchant leur propagation intercellulaire ou en facilitant leur dégradation (63).

9. Isoforme tronquée AcMet11-Tau

Il a été découvert en 2015 de nouvelles isoformes tronquées en N-terminal (60). Parmi elles la forme tronquée à la Méthionine 11 est d'un intérêt particulier puisqu'elle est localisée sur une région codée par l'exon 1, qui est partagé par toutes les isoformes de la protéine Tau.

Il existe peu de données sur les fonctions de l'exon 1. Son altération pourrait avoir un impact sur les fonctions de la protéine et aboutir à la pathologie Tau (60,64–66). L'extrémité aminotermine pourrait être impliquée dans la conformation de la protéine par des interactions entre les domaines N-ter et C-ter (67,68).

Le laboratoire Alzheimer & Tauopathies a démontré que cette isoforme tronquée était accompagnée d'une modification inédite dont la nature ne serait non pas post-traductionnelle mais co-traductionnelle, la N- α -acétylation.

Il a ainsi été développé un anticorps monoclonal dirigé contre cette isoforme (AcMet11-Tau) appelé 2H2D11. Des études complémentaires en immunohistochimie et en ELISA employant cet anticorps ont ainsi pu être conduites sur des échantillons de tissu cérébral de patients atteints de MA. Ces études ont confirmé la présence de cette isoforme dans les tissus issus des patients atteints de MA, et son absence dans les tissus des patients contrôles (brevet : WO 2018/178078).

D'autres études (IHC et ELISA) dirigées sur tissu cérébral murins de la lignée Thy-Tau 22 (modèle de souris transgéniques reproduisant une pathologie Tau de type MA) ont permis

la détection de cette isoforme dès le début de l'apparition des lésions de type Alzheimer. En effet, l'isoforme AcMet11-Tau a été détectée à 2 mois alors que le développement des lésions Tau débiterait de 3 à 10 mois, et les déficits de mémorisation débuteraient à 6 mois dans cette lignée murine (69,70).

De plus, l'évaluation en IHC de tissu murins de lignée Thy-Tau 30 réalisée deux mois après l'injection stéréotaxique hippocampique de vecteurs lentiviraux, engendrant l'expression neuronale de la protéine Met11-Tau ou soit de la protéine Tau totale (71), a mis en évidence l'expression de l'isoforme AcMet11-Tau dans les régions impliquées dans la plasticité synaptique et la mémoire : comme CA1, CA3, le gyrus denté et les fibres moussues. Aussi, d'autres marquages IHC par les anticorps AT8 et AT100 (pThr212/pSer214) sur ces mêmes tissus ont montrés une augmentation du nombre de DNF dans le groupe des souris exprimant l'isoforme clivée, comparée au groupe exprimant la protéine Tau totale. Cela pourrait donc suggérer que cette isoforme clivée pourrait être impliquée dans la progression de la pathologie, en favorisant au moins l'accélération du processus pathologique (brevet : WO 2020/193520A1).

Enfin, de part ces premiers résultats suggérant que l'isoforme AcMet11-Tau pourrait être considérée comme une espèce pathologique d'apparition précoce, et par conséquent constituer une potentielle cible thérapeutique, des études d'immunisation passives ont été réalisées à partir de l'anticorps 2H2D11 sur une lignée murine Thy-Tau 22. Les IHC réalisées après la fin du traitement (du 3ème au 7ème mois), par les anticorps AT100 et MC1 (espèce de Tau pathologique conformationnelle spécifique) ont montré une diminution significative de la pathologie Tau dans l'hippocampe des souris Thy-Tau22 injectées avec l'anticorps 2H12D11 (brevet : WO 2020/193520A1).

Par la même approche, l'impact de l'immunothérapie a été évaluée sur un plus grand nombre de souris. Après 4 mois de traitement, l'évaluation a porté sur la mémoire spatiale à court terme d'une lignée Thy-Tau 22. Conformément à ce qu'il était attendu pour le groupe murin injecté avec un IgG2A contrôle, les résultats ont montré une altération de la mémoire spatiale. A contrario, le groupe murin Thy-Tau 22 traité avec l'anticorps 2H2D11 obtenait des performances équivalentes au groupe sauvage, suggérant un effet bénéfique de l'immunothérapie par anticorps AcMet11-Tau sur la mémoire spatiale de ces souris (brevet : WO 2020/193520A1).

L'anticorps employé dans ce travail, l'anticorps 2C12, est un anticorps monoclonal dont la spécificité pour AcMet11-Tau a été validée par West Blot, en utilisant des extraits de protéines de lignées cellulaires surexprimant cet isoforme ou la protéine Tau totale (brevet : WO 2018/178078). L'anticorps 2C12 est d'un isotype différent (IgG1) que 2H2D11 qui est un anticorps IgG2a.

10. Objectifs de cette étude

L'objectif de l'étude est de déterminer si l'isoforme AcMet11-Tau est présente dans les dépôts de Tau de patients atteints de PSP.

L'objectif secondaire est d'évaluer la spécificité de l'anticorps 2C12 ciblant l'isoforme AcMet11-Tau pour les lésions cérébrales de type Alzheimer.

Matériel et méthodes

1. Sélection de la cohorte et des tissus cérébraux

Les patients ont été sélectionnés de manière rétrospective, par requête de la base de données du logiciel Diamic ©, logiciel utilisé pour l'édition des comptes rendus de l'Institut de Pathologie du CHRU de Lille. Vingt-cinq cas ont été identifiés, dont le diagnostic a été établi entre le 1er Janvier 2004 et le 31 Décembre 2016, par le Professeur Maurage ou le Professeur Deramecourt.

Une relecture de chaque cas a été effectuée de manière conjointe par un pathologiste sénior (RP) et junior (AL) afin de confirmer le diagnostic de PSP et d'éventuels autres diagnostics associés. Il a été décidé de conserver les cas présentant des lésions de maladie d'Alzheimer associées.

Deux aires cérébrales ont été sélectionnées pour répondre aux objectifs de ce travail. La principale difficulté étant de s'affranchir d'une éventuelle co-pathologie et en particulier de lésions de type Alzheimer : l'aire BA4 est une aire affectée à un stade précoce dans la PSP ; cette aire est atteinte dans les MA à des stades intermédiaires ou tardifs. Il existe néanmoins chez les patients atteints de MA et comportant une atteinte de cette aire la présence très fréquente de plaques neuritiques, lésions spécifiques de la maladie d'Alzheimer.

L'hippocampe est une région moins vulnérable dans la PSP, mais dans laquelle il peut exister des lésions de type Alzheimer dès le stade précoce. Ainsi la possibilité d'étudier l'hippocampe nous permet d'explorer l'hypothèse selon laquelle cette troncation se

produirait de façon région dépendante, spécifiquement dans l'hippocampe, quel que soit la pathologie.

2. Procédure immunohistochimique et spécificités des anticorps

L'anticorps ciblant la protéine Tau hyperphosphorylée (pSer202/pThr205 ; AT8) a été utilisé comme anticorps de référence afin de quantifier la totalité des lésions Tau de type PSP et MA. L'anticorps ciblant l'exon 1 de la protéine Tau totale (Nter 12.21) a été utilisé afin de différencier un clivage de tau en N-terminal de l'absence de la troncation AcMet11-Tau en cas d'absence de marquage par ce dernier anticorps.

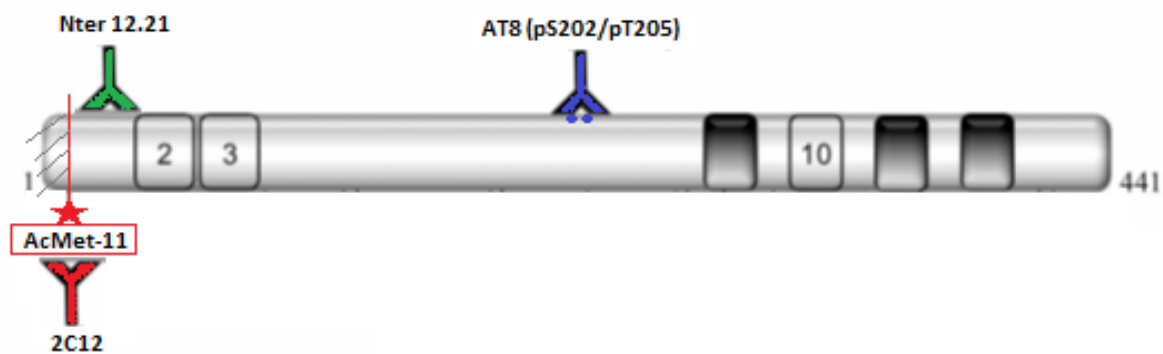


Figure 5. Cibles des anticorps de cette étude, représentées sur un schéma de la protéine Tau possédant la troncation AcMet11-Tau. L'anticorps 2C12, en rouge, cible spécifiquement la troncation aminoterminal. L'anticorps Nter 12.21, en vert, cible l'exon 1 de la protéine. L'anticorps AT8, en bleu, cible les sites phosphorylés de la protéine Tau à la sérine 202 et la thréonine 205. Adapté d'après Derisbourg et al., 2015.

Les tissus prélevés ont été préalablement fixés par le formol et inclus dans la paraffine. Les prélèvements, coupés à 5 µm d'épaisseur, ont été étalés sur lame et conservés à - 20°C avant leur utilisation.

L'ensemble des réactions immunohistochimiques a été réalisé sur un automate Benchmark Ultra © commercialisé par la société Ventana Roche (Etats-Unis). La procédure immunohistochimique se déroule par une première étape de déparaffinage au xylène. La fixation par le formol des tissus est responsable d'une modification des sites antigéniques des protéines cibles. Une procédure de démasquage des sites est donc nécessaire par la chaleur avec un tampon à base de citrate ou d'EDTA. Le protocole de démasquage utilisé pour l'anticorps AT8 est à base de tampon CC1 pendant 64 min. Le protocole utilisé pour les anticorps Nter et 2C12 est à base de tampon CC2 pendant 64 min. Les échantillons sont ensuite incubés avec l'anticorps primaire. Le protocole d'incubation pour AT8 est de 4 minutes à 37°C. Le protocole d'incubation pour Nter et 2C12 est de 88 minutes à 37°C. Puis les réactions sont détectées à l'aide des kits de révélation OptiView ou UltraView © (Ventana Roche), colorant en brun les sites antigéniques ayant fixé l'anticorps primaire par dépôt de di-amino-benzidine (DAB). Une contre-coloration est réalisée à l'hématoxyline pour apprécier la morphologie du prélèvement.

Pour la mise au point des anticorps il a été choisi un prélèvement de cortex frontal (BA 8/9) chez un patient présentant des lésions de maladie d'Alzheimer de stade de Braak VI. En guise de témoin négatif, il a été choisi un prélèvement de cortex frontal chez un patient d'âge similaire, décédé d'un syndrome de Korsakoff, présentant des lésions correspondant à un stade II de Braak.

Anticorps	AT8	2C12	Nter 12.21
Epitope	pSer202/pThr205	AcMet11-Tau	Exon 1 (tau totale)
Espèce	souris	souris	lapin
Fournisseur	ThermoFischer	Laboratoire	Laboratoire
Dilution	1/500	1/200	1/500

Tableau I. Résumé des spécificités techniques des anticorps de cette étude.

3. Interprétation des immunomarquages

Les lames ont été numérisées puis les fichiers, générés en format Tif, ont été intégrés au logiciel QuPath © pour l'interprétation.

3.1. Présentation du logiciel QuPath

QuPath est un logiciel en accès libre créé par le *Center for Research & Cell Biology* du *Queen's University* de Belfast, issus de fonds de *l'Invest Northern Ireland* et du *Cancer Research UK*. Son développement est assuré aujourd'hui par l'université d'Edimbourg (*The University of Edinburgh*). Il s'agit d'un logiciel permettant la visualisation de lames numérisées, mais possédant également des outils d'annotations et de segmentation par apprentissage interactif (*interactive machine learning*) se basant sur des paramètres géométriques ou d'intensité colorimétriques que l'utilisateur prédéfinit. Nous avons dans cette étude utilisé les fonctions de détection des immunomarquages par l'intensité de signal, et les fonctions de segmentation de surface.

3.2. Méthode d'interprétation des immunomarquages

L'analyse des immunomarquages s'est déroulée en deux étapes : une première étape d'identification de la densité de marquage pour chaque zone étudiée, de façon semi-automatisée. Puis secondairement une étape d'identification des populations cellulaires immunomarquées, leur compte dans une aire définie et le calcul de leur densité.

3.2.1. Définition de la surface d'étude

Après numérisation et intégration des images au logiciel QuPath, il a été nécessaire d'étalonner la taille du pixel en fonction de la taille du prélèvement. Cette étape a été effectuée manuellement et a permis de définir la taille d'un pixel à 0,25 μm .

Les zones d'intérêts ont ensuite été tracées sur les images numérisées : le cortex et la substance blanche pour l'aire BA 4. Pour l'hippocampe la segmentation a porté sur le gyrus denté, CA2/3 et le cortex entorhinal. La surface des aires d'intérêts a été pour certains cas échantillonnée, en fonction de l'homogénéité de dispersion des lésions et de leur richesse. Grâce à l'étalonnage réalisé préalablement le logiciel a pu déterminer l'aire de chacun des secteurs délimités, qui a été rapportée en mm^2 .



Figure 6. Méthode de segmentation de l'aire BA 4.

Les contours du cortex cérébral sont indiqués en noir ; les contours de la substance blanche en blanc. Cette illustration est obtenue après immunomarquage par l'anticorps AT8, à partir de l'aire BA4.

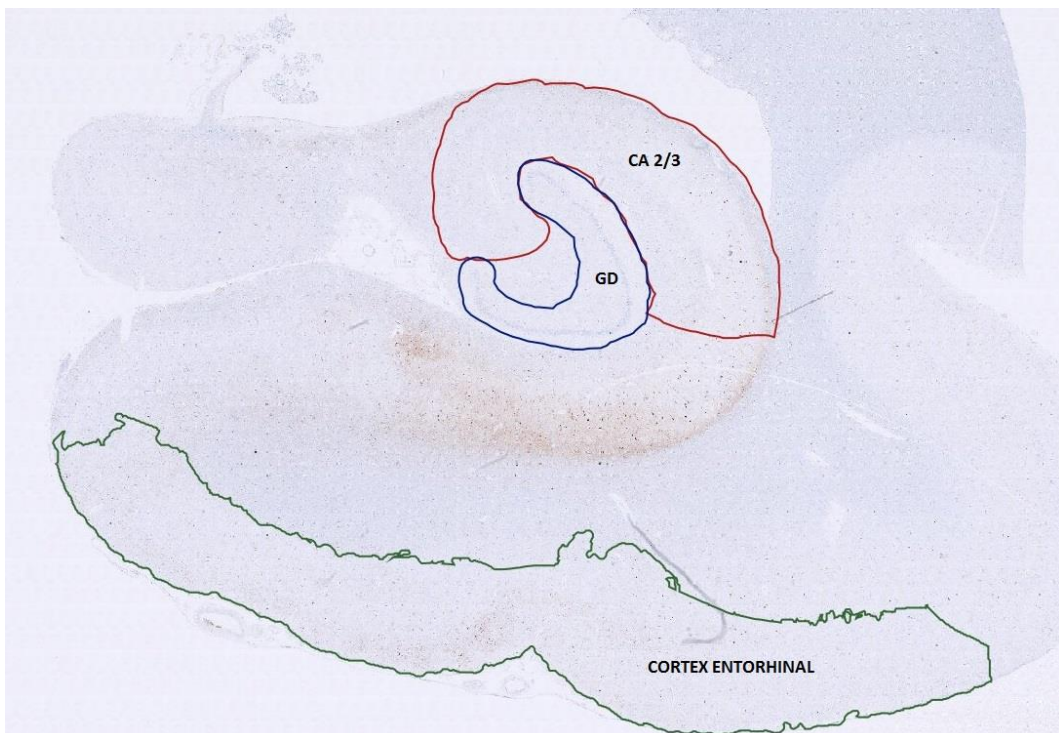
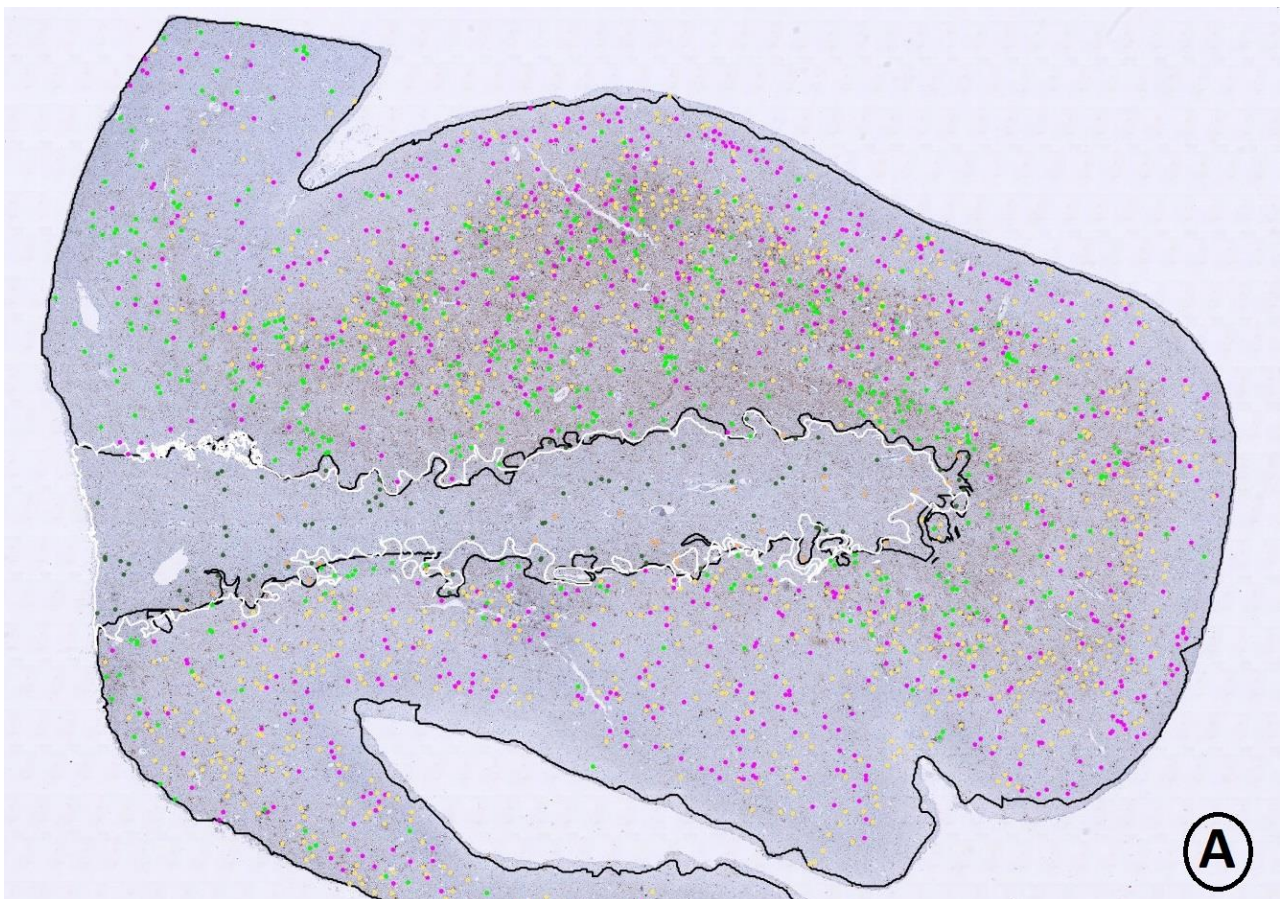


Figure 7. Méthode de segmentation de l'hippocampe.

Les contours du gyrus denté (GD sur l'illustration) sont indiqués en bleu ; les contours de CA 2/3 sont indiqués en rouge ; et ceux d'un échantillon du cortex entorhinal sont indiqués en vert. Cette illustration est obtenue après immunomarquage par l'anticorps AT8, à partir de l'hippocampe.

3.2.2. Quantification des populations cellulaires.

L'identification des lésions s'est basée sur la segmentation préalable des prélèvements de l'aire BA 4 et de l'hippocampe. La fonction d'annotation du logiciel QuPath, via l'onglet « *counting* » permet une quantification directe sur lame numérisée. Il a ainsi été répertorié manuellement pour les trois anticorps étudiés : les lésions neuronales, les touffes astrocytaires, les lésions oligodendrogiales et les plaques neuritiques éventuelles. Pour la substance blanche des prélèvements frontaux, seuls les oligodendrocytes, touffes astrocytaires et plaques neuritiques ont été comptées. Cette quantification a été réalisée par un pathologiste junior (AL).



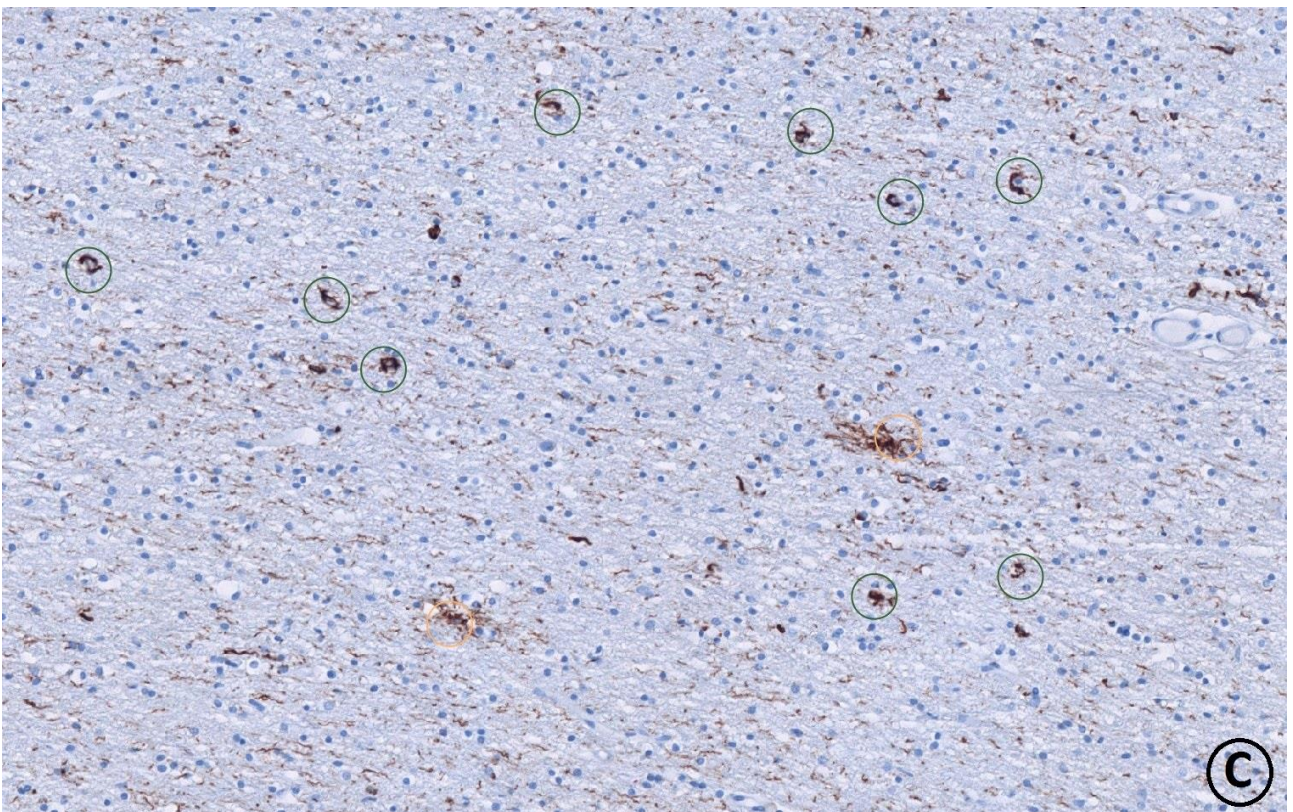
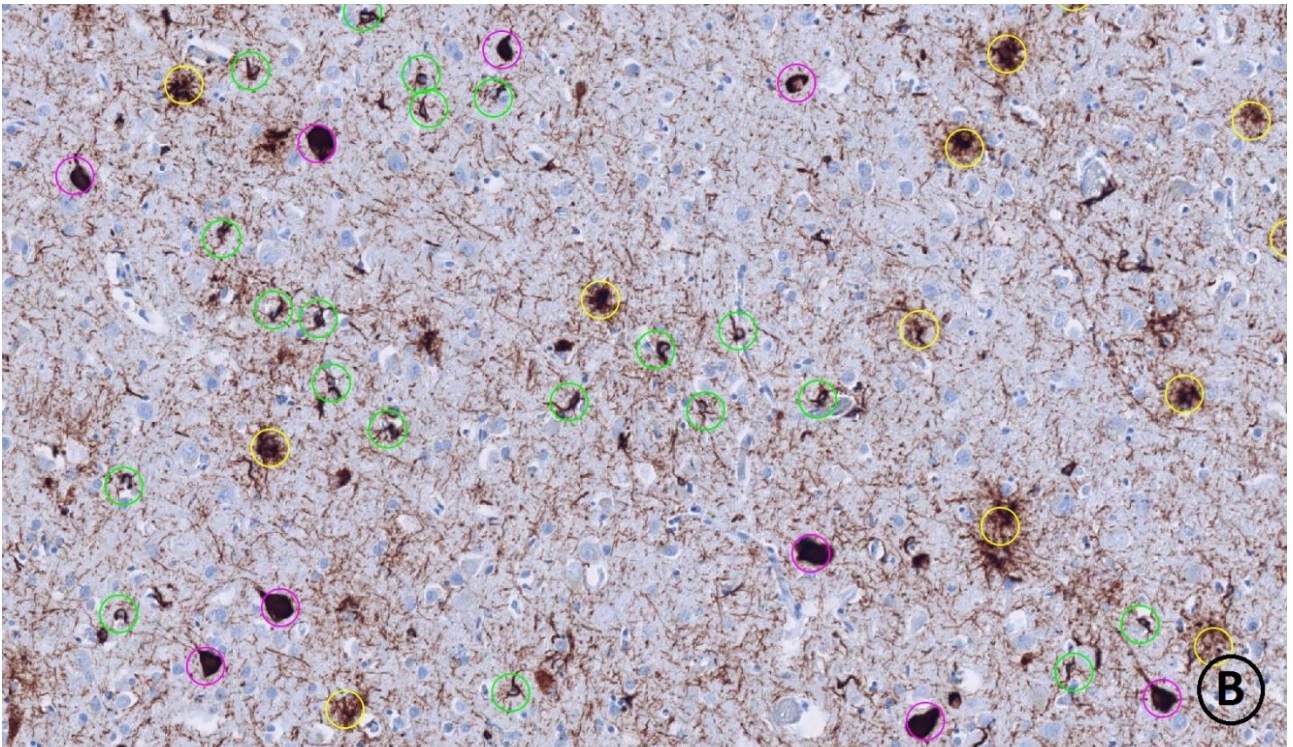


Figure 8. Méthode de quantification pour BA 4. Ces illustrations sont issues de l'immunomarquage par l'anticorps AT8 de l'aire BA 4. **A et B.** Mise en évidence de très nombreuses lésions corticales. Les neurones sont cerclés en mauve, les touffes astrocytaires en jaune et les oligodendrocytes en vert clair. **C.** Dans la substance blanche les oligodendrocytes sont cerclés en vert foncé et les touffes astrocytaires en orange.

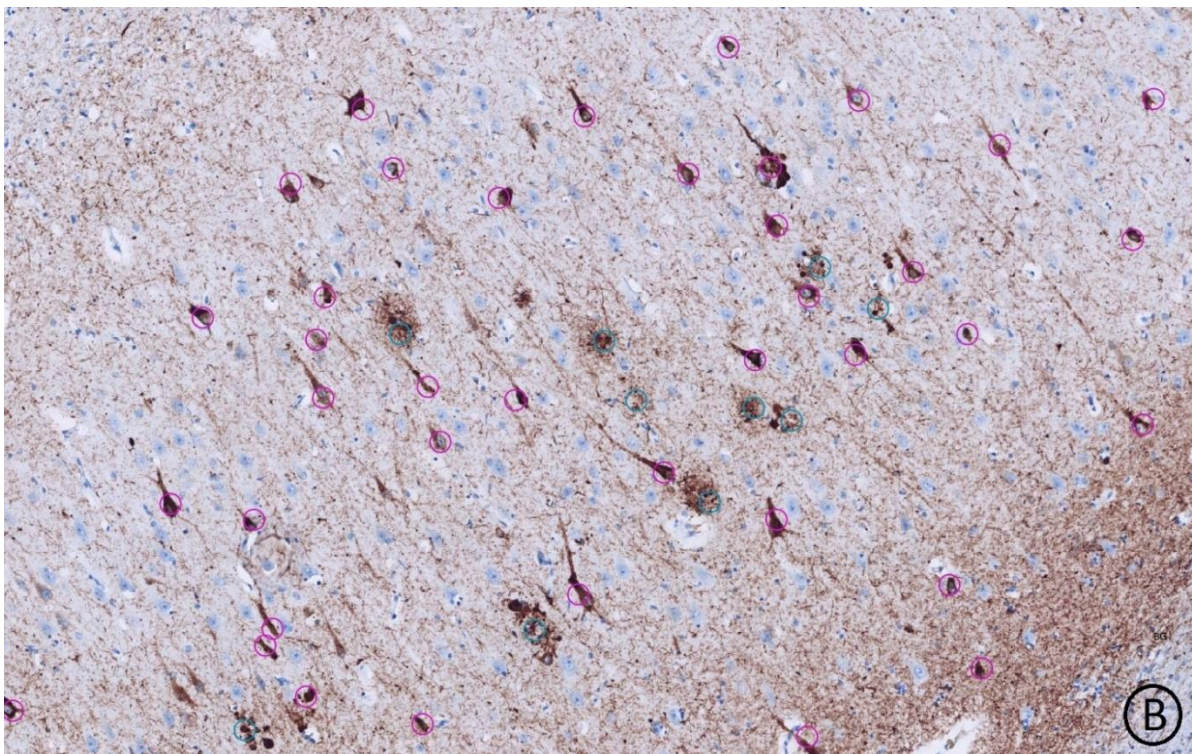
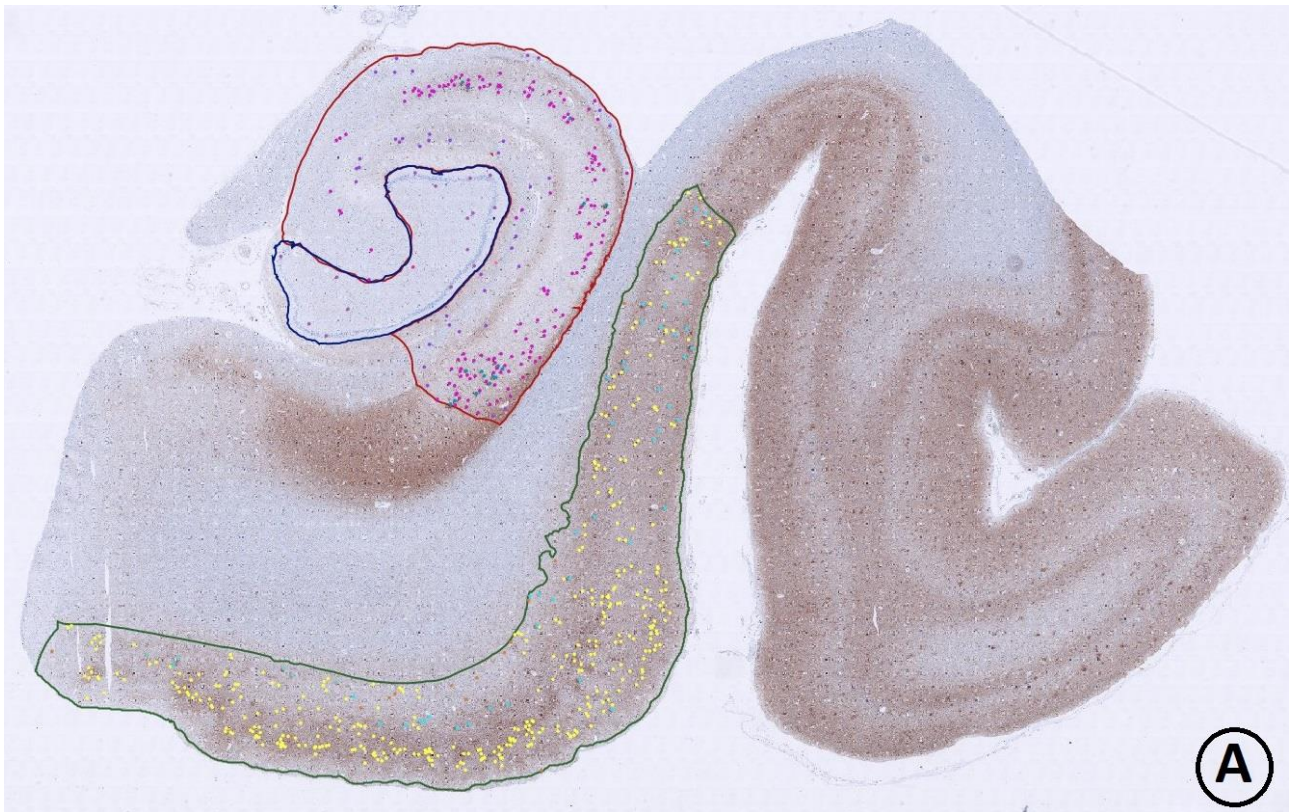


Figure 9. Méthode de quantification pour l'hippocampe. Ces illustrations sont issues de l'immunomarquage par l'anticorps AT8 de l'hippocampe. **A.** Les neurones du gyrus denté sont cerclés en violet, les neurones de CA 2/3 en mauve et les neurones du gyrus denté en jaune. **B.** CA2/3 à plus fort grandissement ; les neurones sont cerclés en mauve et les plaques neuritiques cerclées en bleus.

3.2.3. Détermination de la densité lésionnelle globale

Nous considérons la densité lésionnelle globale comme le nombre de pixel immunomarqués, rapporté au nombre de pixel total de la surface étudiée. Cette donnée est exprimée dans la section résultat en pourcentage de la surface totale. Cette étape a utilisé la fonction « *pixel classifier* » du logiciel QuPath. Cet outil nécessite au préalable d'indiquer au logiciel (fonction « *train pixel classifier* ») plusieurs secteurs lésionnels que nous considérons positifs et plusieurs secteurs considérés négatifs. Dans le cas d'interprétation de lame d'immunohistochimie, il s'agit de renseigner au logiciel un intervalle d'intensité de marquage brun du chromogène qu'il doit considérer positif, en veillant à ce qu'il considère comme négatif un bruit de fond plus ou moins marqué. Ce processus a été réalisé pour les trois anticorps étudiés.

Indépendamment des spécificités de détection d'intensité propres à chaque anticorps, le programme de détection utilisé (ou *classifier*) est « *l'Artificial neural network (ANN_MLP)* » et la résolution de détection a été fixée sur la valeur « *High* » à 0,97 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. Bien que la taille d'un pixel fût déterminée à 0,25 μm , la puissance de calcul de notre ordinateur ne permettait pas l'emploi d'une résolution de détection maximale.

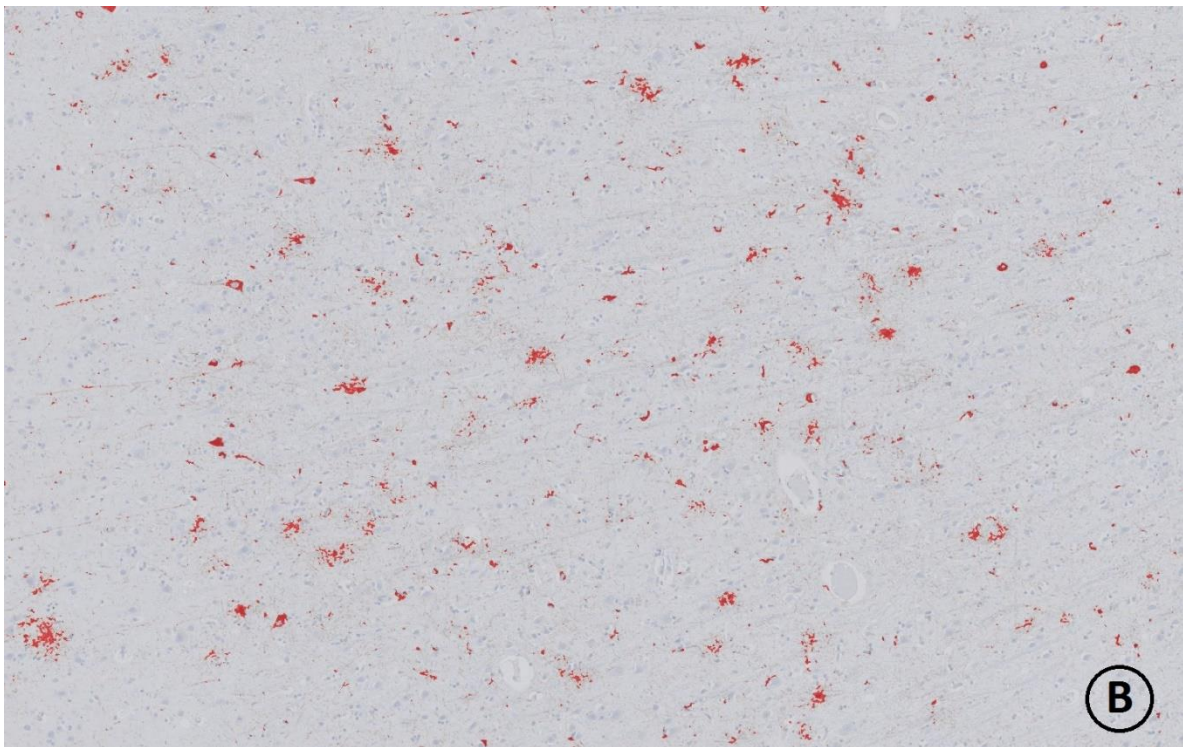
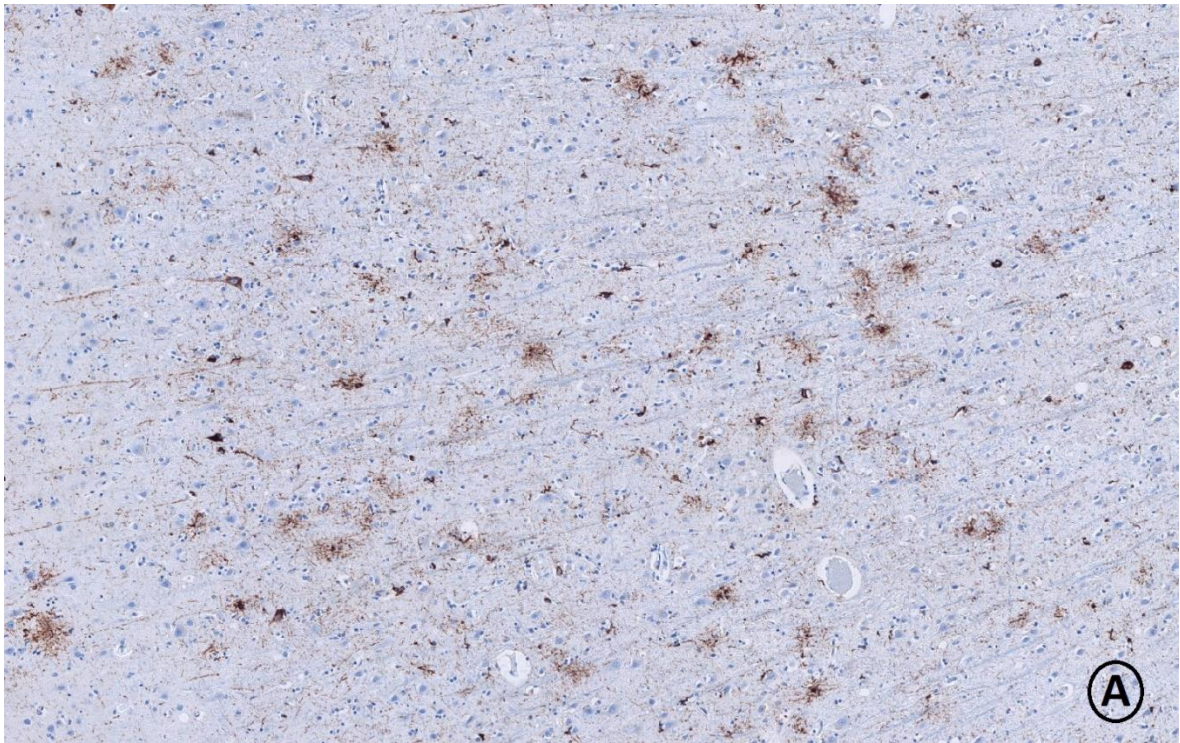


Figure 10. Méthode de détermination de la densité lésionnelle globale.

A. Immunomarquage par l'anticorps AT8 de l'aire BA 4.

B. Mise en évidence des lésions considérées positives par le logiciel, entraîné à la détection du marquage de l'anticorps AT8, sous la forme d'un signal rouge, tandis que les autres éléments considérés négatifs apparaissent en gris.

4. Analyse des données

Les données ont été analysées en discernant les cas présentant des lésions de MA associées à la PSP. Ainsi deux groupes ont été constitués pour l'analyse de l'hippocampe d'une part ; et pour l'analyse de BA4 d'autre part. Les groupes sont nommés dans la suite de ce travail PSP et PSP+MA.

Dans BA4 le groupe PSP était défini par l'absence de plaque neuritique et le groupe PSP+MA par l'observation de plaques neuritiques dans cette région. Dans l'hippocampe le groupe PSP était également défini par l'absence de plaque neuritique et le groupe PSP+MA par l'observation de plaques neuritiques.

Les données regroupées ont été analysées via le logiciel GraphPad Prism ©. La comparaison des moyennes a été effectuée grâce au test de rang de Mann-Whitney. Un test de Spearman a été réalisé pour les études de corrélation.

Résultats

1. Description des caractéristiques cliniques et histopathologiques de la cohorte

La cohorte est constituée de 13 hommes (52%) et 12 femmes (48%). La médiane d'âge au diagnostic est de 72 ans (50 à 86 ans). La médiane d'âge au décès est de 77 ans (57 à 92 ans). La durée d'évolution médiane est de 7 ans (2 à 16 ans). Sept patients (28%) présentent des antécédents familiaux de maladie neurodégénérative au premier et deuxième degré (MA concernant 4 patients, Maladie de Parkinson concernant 2 patients, et un antécédent familial de sclérose latérale amyotrophique pour un patient).

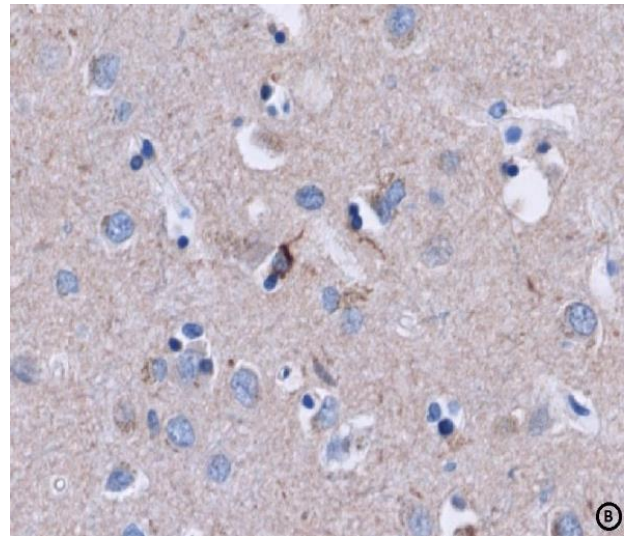
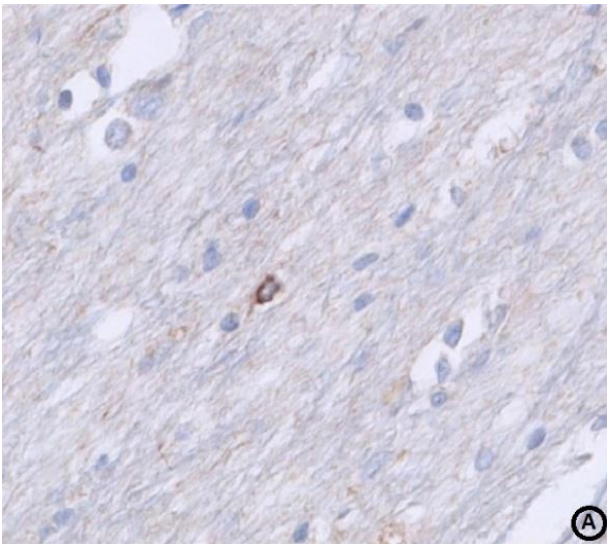
Quinze cas présentaient des lésions de MA associées au diagnostic de PSP localisées dans l'hippocampe. Parmi ceux-ci, trois cas présentaient des plaques neuritiques dans BA4. Le tableau suivant présente les principales caractéristiques cliniques et histopathologiques des patients de cette cohorte.

Tableau II : Caractéristiques cliniques et histopathologiques (n=25)			
Sexe (n, %)	Masculin	13	(52%)
	Féminin	12	(48%)
Age au diagnostic (médiane, écart type, min / max)		72	9,3 50 / 86
Age au décès (médiane, écart type, min / max)		77	8,6 57 / 92
Durée d'évolution (médiane, écart type, min/max)		7	3,8 2 / 16
Antécédent familial de maladie neurodégénérative (n, %)	Oui	7	(28%)
	Non	15	(60%)
	NC	3	(12%)
Lésions associées de MA à l'examen neuropathologique (n,%)	Non	10	(40%)
	Hippocampe	15	(60%)
	Hippocampe + BA4	3	(12%)

2. Description des immunomarquages

2.1. Immunomarquage avec l'anticorps 2C12

Après immunomarquage par l'anticorps 2C12, il a été observé dans le cortex de l'aire BA4 un marquage du cytoplasme de rares neurones et d'oligodendrocytes (de type corps bobinés). Il n'a pas été observé de touffe astrocytaire. Dans l'hippocampe, de rares neurones et oligodendrocytes étaient soulignés dans les régions du gyrus denté, de CA2/3 et du cortex entorhinal. L'anticorps 2C12 mettait également bien en évidence les plaques neuritiques. Les photographies suivantes illustrent ces observations.



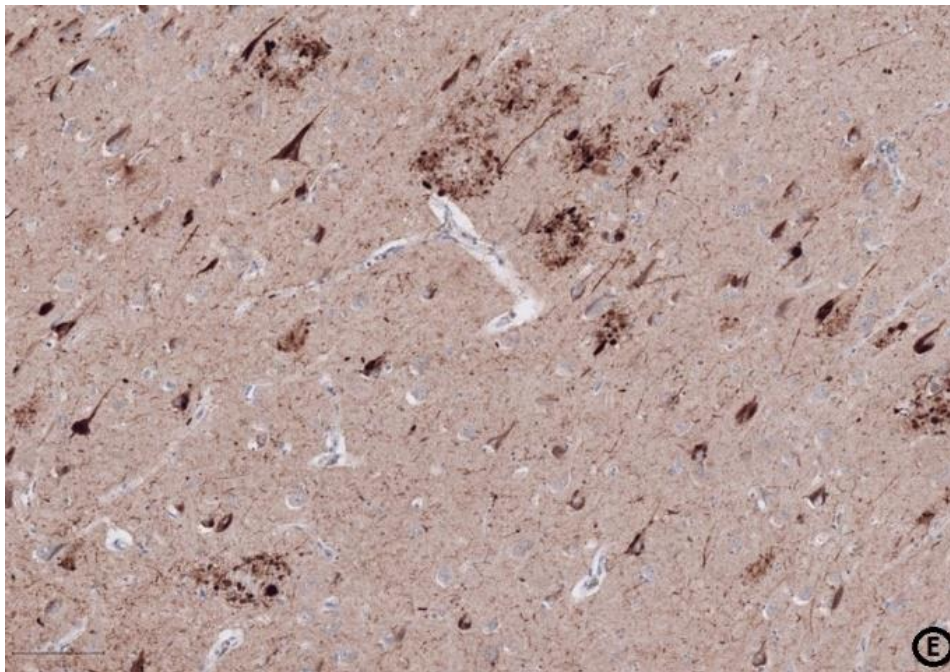
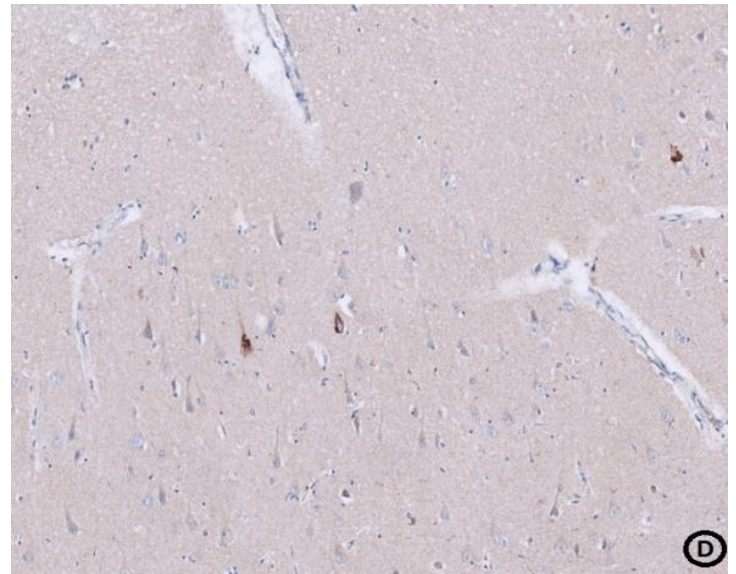
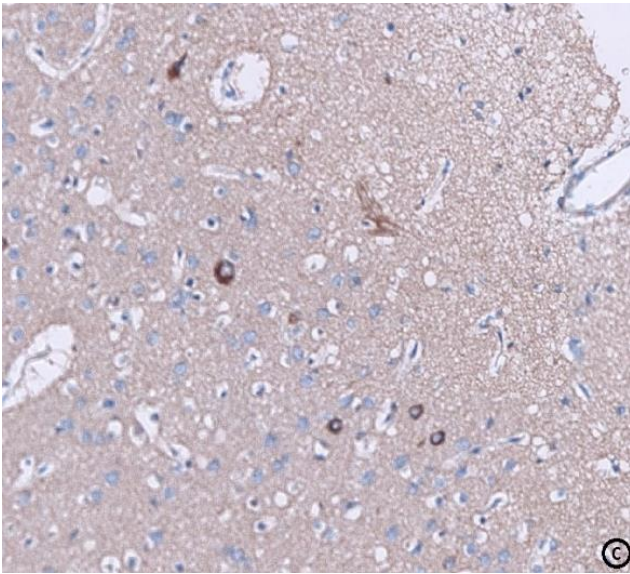
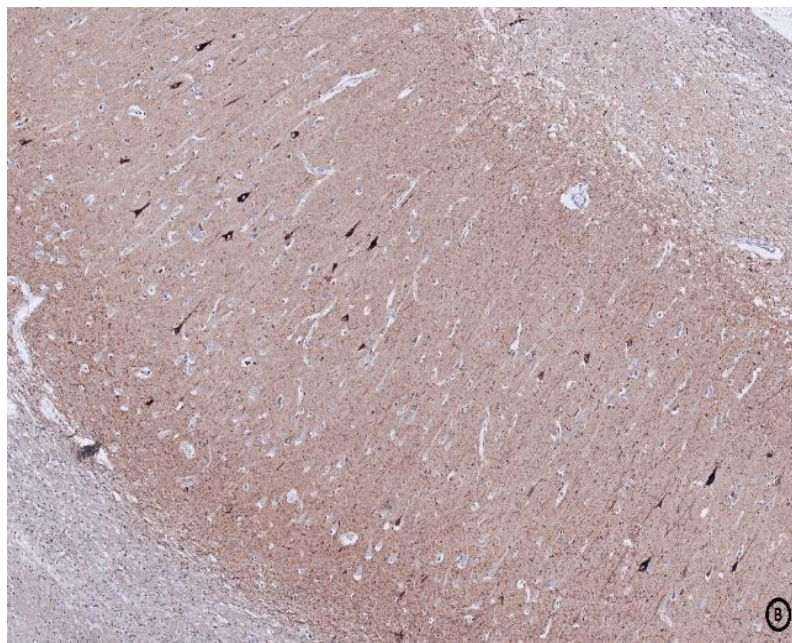
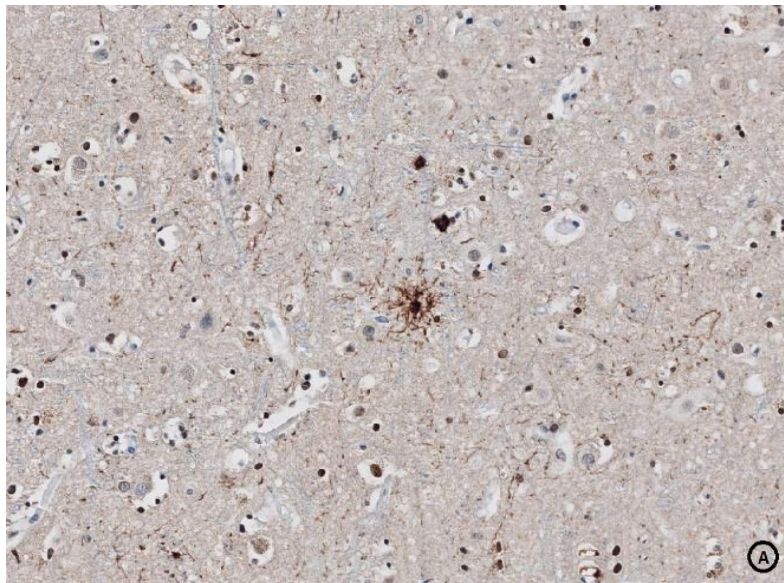


Figure 11. Immunomarquage par l'anticorps 2C12 de l'aire BA4 et de l'hippocampe.
A et B. Marquage d'oligodendrocytes dans la substance blanche de BA4.
C. Marquage de neurones dans le cortex de BA4.
D. Marquage de rares neurones pyramidaux dans l'hippocampe.
E. Marquage de plaques neuritiques et de nombreux neurones dans l'hippocampe.

2.2. Immunomarquage avec l'anticorps Nter

L'immunomarquage par l'anticorps Nter a mis en évidence un marquage neuronal, un marquage oligodendroglial et également un marquage des touffes astrocytaires. En outre, on observait un marquage de plaques neuritiques et de lésion de DNF abondantes dans l'hippocampe pour les cas présentant des lésions de MA.



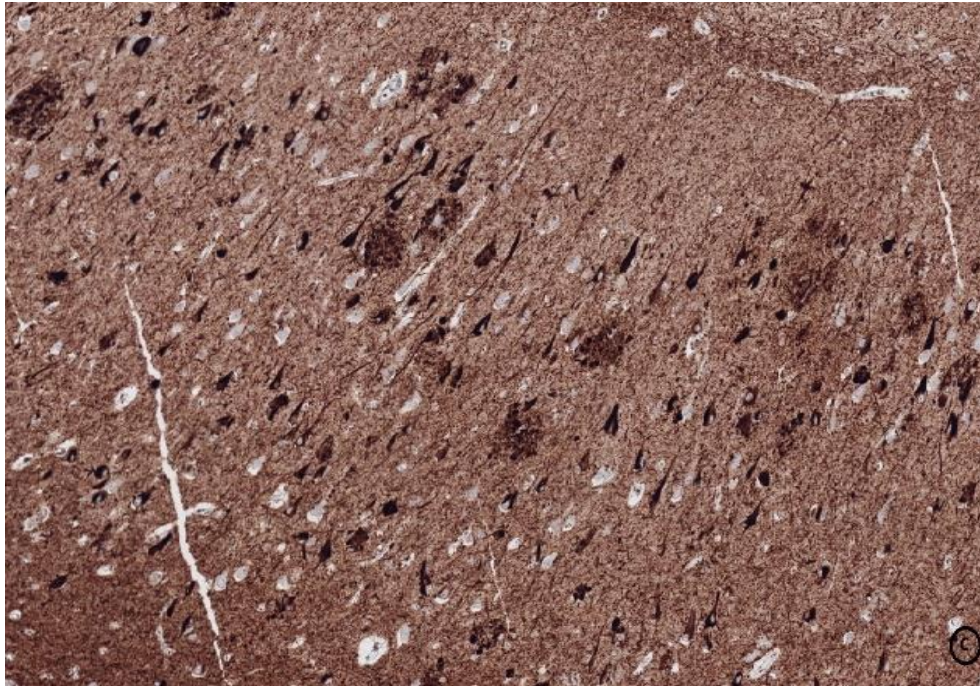


Figure 12. Immunomarquage par l'anticorps Nter de l'aire BA4 et de l'hippocampe.
A. Marquage d'une touffe astrocytaire et de neurones dans le cortex de BA4.
B. Marquage de quelques neurones pyramidaux dans l'hippocampe.
C. Marquage de forte intensité de plaques neuritiques et de nombreux neurones dans l'hippocampe, associé à un marquage intense du neuropile.

3. Surface analysée

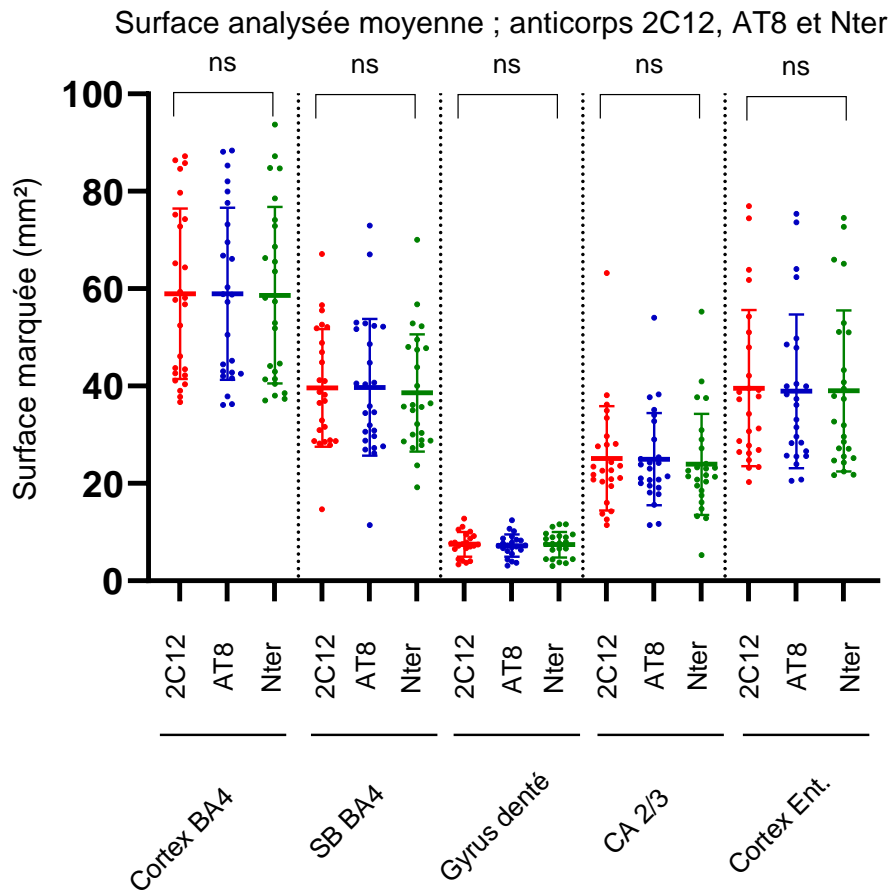


Figure 13. Surface analysée moyenne par région. Les points rouges indiquent les données de l'anticorps 2C12, les bleus celles de AT8, les verts Nter. La surface moyenne analysée dans le cortex de BA4 est de 59 mm² ; de 40 mm² dans la substance blanche de BA4 ; de 7,5 mm² dans le gyrus denté ; de 25 mm² dans CA 2/3 ; et de 39 mm² dans le cortex entorhinal. Il n'existe pas de différence significative entre les différents anticorps pour une même région après test statistique de Kruskal-Wallis.

4. Etude de la forme AcMet11-Tau dans la PSP

4.1. Comparaison des quantifications lésionnelles dans BA4

Les paragraphes suivants présentent les résultats des quantifications lésionnelles dans chaque région étudiée. Les résultats sont exprimés selon le nombre de lésions moyenne par mm².

Dans le cortex de BA4, la densité moyenne en lésions neuronales avec AT8 était de 6,03 [0,12-19,05] ; de 4,51 [0,15-19,26] pour Nter ; et de 0,62 [0,01-4,38] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et une différence significative entre Nter et 2C12 ($p < 0,0001$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,35$).

La densité moyenne en touffes astrocytaires avec AT8 était de 6,67 [0,05-29,2] ; de 2,65 [0-24,7] pour Nter ; et de 0,01 [0-0,11] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p < 0,0001$). Présence d'une différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,007$).

La densité moyenne en lésions oligodendrogiales avec AT8 était de 2,57 [0,18-18,5] ; de 1,86 [0,12-9,87] pour Nter ; et de 0,45 [0,01-2,49] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p < 0,0001$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,40$).

La densité moyenne en plaques neuritiques avec AT8 était de 0,08 [0-1,9] ; de 0,12 [0-2,9] pour Nter ; et de 0,15 [0-3,64] pour 2C12. Absence de différence significative entre AT8 et 2C12 ($p>0,99$) ; entre Nter et 2C12 ($p=0,83$) ; et entre AT8 et Nter ($p=0,90$).

Dans la substance blanche de BA4, la densité moyenne en touffes astrocytaires avec AT8 était de 0,76 [0-9,56] ; de 0,52 [0-9,82] pour Nter ; et $< 0,01$ [0-0,03] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p<0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p<0,0001$). Présence d'une différence significative entre AT8 et Nter ($p=0,03$).

La densité moyenne en lésions oligodendrogiales avec AT8 était de 3,69 [0,1-50,3] ; de 1,63 [0,14-9,2] pour Nter ; et de 0,57 [0,02-2,32] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p=0,0006$) et entre Nter et 2C12 ($p=0,01$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p=0,20$).

La densité moyenne en plaques neuritiques avec AT8 était de 0,03 [0-0,69] ; de 0,01 [0-0,28] pour Nter ; et de 0,02 [0-0,53] pour 2C12. Absence de différence significative entre AT8 et 2C12 ($p>0,99$) ; entre Nter et 2C12 ($p>0,99$) ; et entre AT8 et Nter ($p>0,99$).

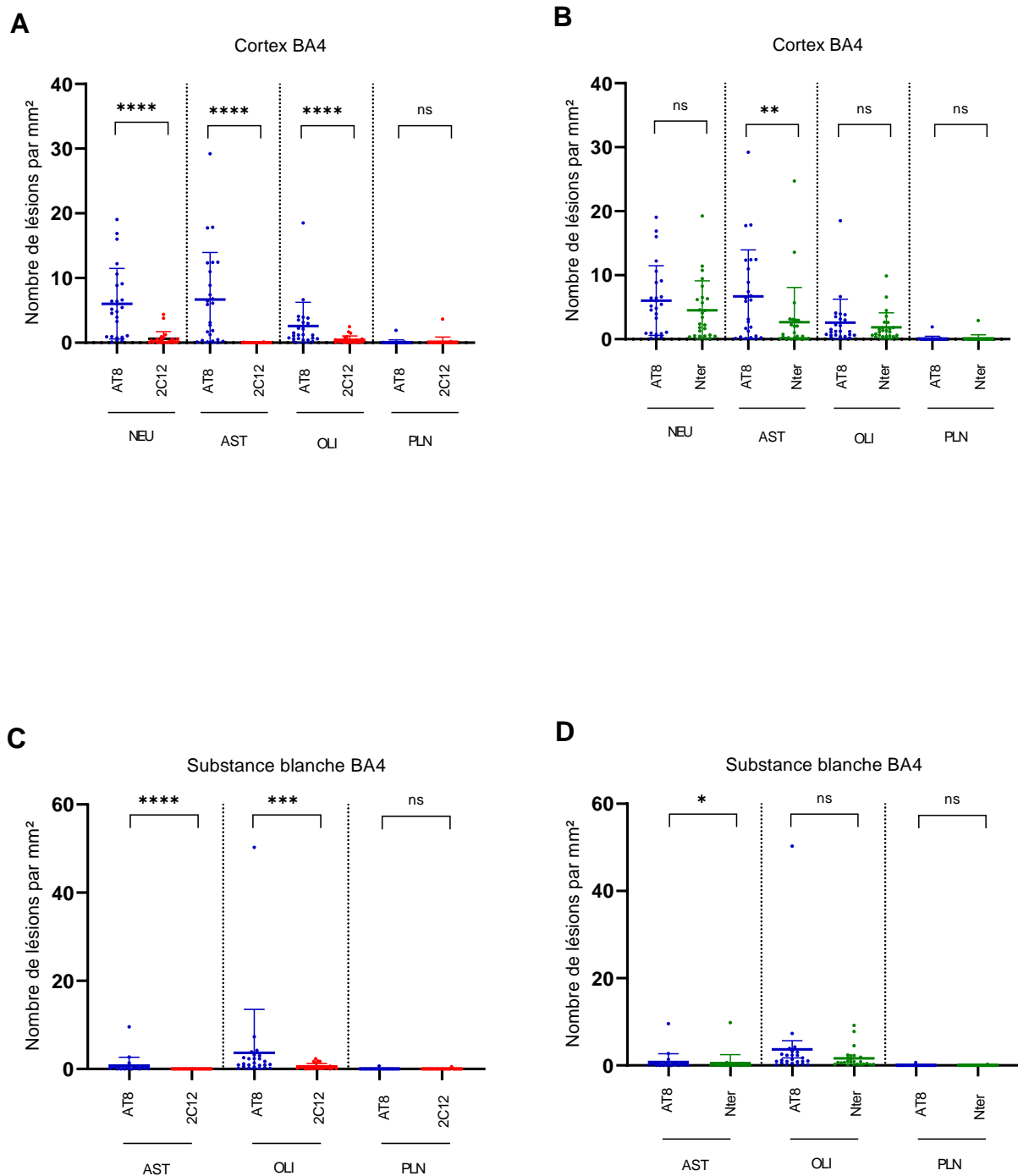


Figure 14. Quantifications lésionnelles dans BA4 pour les anticorps AT8, 2C12 et Nter. Après immunomarquage des coupes de tissu cérébral par différents anticorps ciblant des épitopes de Tau, le marquage a été quantifié sur lames virtuelles dans les différentes régions d'intérêt. Les points rouges indiquent les données de l'anticorps 2C12, les bleus AT8, les verts Nter. Les données sont exprimées en nombre de lésions par mm². Les différences entre les valeurs moyennes ont été déterminées par Mann-Whitney test.

A. Cortex BA4. Comparaison entre les densités lésionnelles moyennes obtenues pour les anticorps AT8 et 2C12. **B.** Cortex BA4. AT8 vs Nter. **C.** Substance blanche. AT8 vs 2C12. **D.** Substance blanche. AT8 vs Nter. *NEU* : lésions neuronales ; *AST* : touffes astrocytaires ; *OLI* : lésions oligodendrogiales ; *PLN* : plaques neuritiques.

4.2. Comparaison des quantifications lésionnelles dans l'hippocampe

Dans la région du gyrus denté les quantifications n'ont pu être réalisées pour 3 cas de la série (12%) en raison de l'absence de gyrus denté représenté sur le prélèvement.

Dans le gyrus denté, la densité moyenne en lésions neuronales avec AT8 était de 5,42 [0,34-26,7] ; de 3,03 [0,39-21,3] pour Nter ; et de 0,97 [0-8,82] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et une différence significative entre Nter et 2C12 ($p = 0,0001$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,20$).

La densité moyenne en touffes astrocytaires avec AT8 était de 0,38 [0-2,78] ; de 0,1 [0-0,63] pour Nter ; et de 0 pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,009$). Présence d'une différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,03$).

La densité moyenne en lésions oligodendrogiales avec AT8 était de 0,38 [0-1,42] ; de 0,29 [0-1,38] pour Nter ; et de 0,07 [0-0,48] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,0004$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,002$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,48$).

La densité moyenne en plaques neuritiques avec AT8 était de 0,48 [0-8,18] ; de 0,57 [0-9,42] pour Nter ; et de 0,23 [0-4,17] pour 2C12. Absence de différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,90$) ; entre Nter et 2C12 ($p = 0,52$) ; et entre AT8 et Nter ($p = 0,61$).

Dans CA 2/3, la densité moyenne en lésions neuronales avec AT8 était de 7,24 [0,39-34,5] ; de 5,78 [0,62-29,2] pour Nter ; et de 2,10 [0,06-18,8] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et une différence significative entre Nter et 2C12 ($p < 0,0001$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,33$).

La densité moyenne en touffes astrocytaires avec AT8 était de 0,40 [0-1,46] ; de 0,13 [0-1,25] pour Nter ; et de 0,02 [0-0,32] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,0004$). Présence d'une différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,002$).

La densité moyenne en lésions oligodendrogiales avec AT8 était de 1,59 [0,03-10,7] ; de 0,76 [0,07-4,98] pour Nter ; et de 0,40 [0-2,77] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,0006$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,001$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,33$).

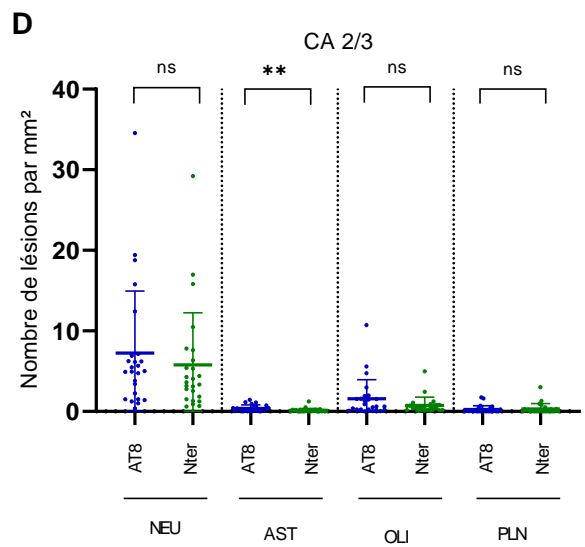
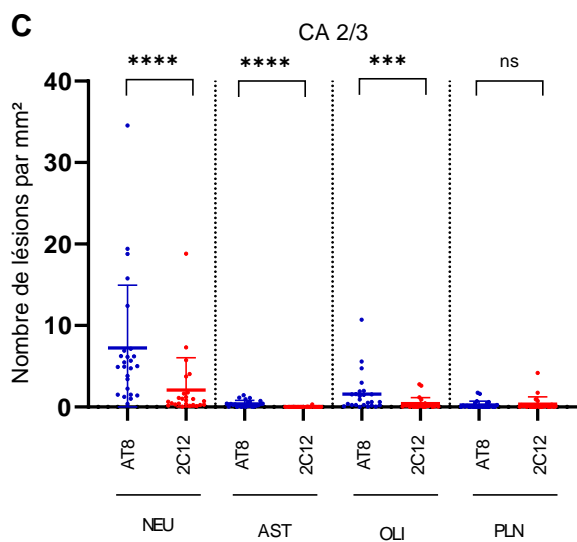
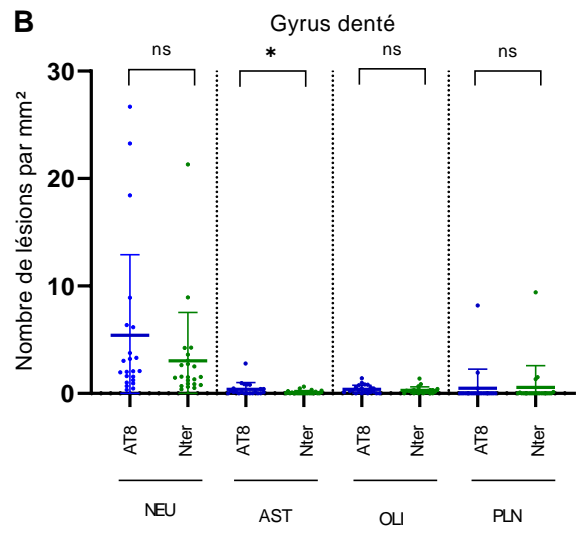
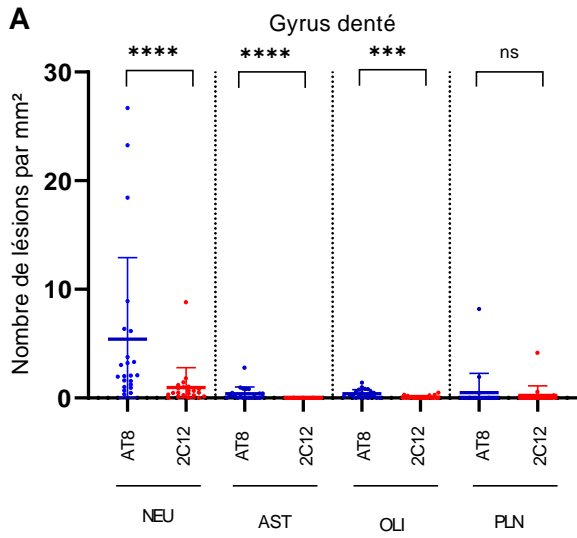
La densité moyenne en plaques neuritiques avec AT8 était de 0,26 [0-1,74] ; de 0,32 [0-3,02] pour Nter ; et de 0,36 [0-4,17] pour 2C12. Absence de différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,87$) ; entre Nter et 2C12 ($p > 0,99$) ; et entre AT8 et Nter ($p = 0,97$).

Dans le cortex entorhinal, la densité moyenne en lésions neuronales avec AT8 était de 8,45 [0,31-42,8] ; de 4,88 [0,27-18,3] pour Nter ; et de 2,15 [0,07-10,7] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,0002$) et une différence significative entre Nter et 2C12 ($p = 0,0048$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,13$).

La densité moyenne en touffes astrocytaires avec AT8 était de 0,75 [0-9,07] ; de 0,17 [0-1,21] pour Nter ; et de 0,03 [0-0,08] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p < 0,0001$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,001$). Présence d'une différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,01$).

La densité moyenne en lésions oligodendrogiales avec AT8 était de 0,68 [0-4,48] ; de 0,67 [0,03-6,10] pour Nter ; et de 0,26 [0-1,15] pour 2C12. Il existait une différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,003$) et entre Nter et 2C12 ($p = 0,005$). Absence de différence significative entre AT8 et Nter ($p = 0,60$).

La densité moyenne en plaques neuritiques avec AT8 était de 0,51 [0-5,29] ; de 0,65 [0-7,36] pour Nter ; et de 0,59 [0-7,66] pour 2C12. Absence de différence significative entre AT8 et 2C12 ($p = 0,84$) ; entre Nter et 2C12 ($p = 0,53$) ; et entre AT8 et Nter ($p = 0,44$).



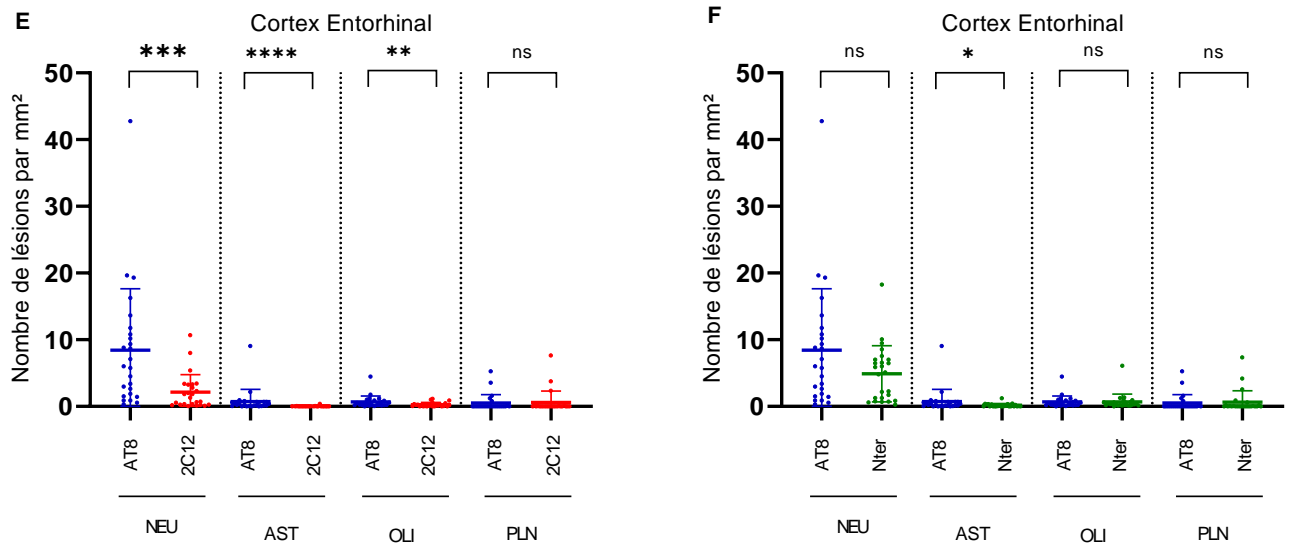


Figure 15. Quantifications lésionnelles dans l'hippocampe pour les anticorps AT8, 2C12 et Nter. Après immunomarquage des coupes de tissu cérébral par différents anticorps ciblant des épitopes de Tau, le marquage a été quantifié sur lames virtuelles dans les différentes régions d'intérêt. Les points rouges indiquent les données de l'anticorps 2C12, les bleus AT8, les verts Nter. Les données sont exprimées en nombre de lésions par mm². Les différences entre les valeurs moyennes ont été déterminées par Mann-Whitney test. **A.** Gyrus denté. Comparaison entre les densités lésionnelles moyennes obtenues pour les anticorps AT8 vs 2C12. **B.** Gyrus denté. AT8 vs Nter. **C.** CA 2/3. AT8 vs 2C12. **D.** CA 2/3. AT8 vs Nter. **E.** Cortex entorhinal. AT8 vs 2C12. **F.** Cortex entorhinal. AT8 vs Nter. *NEU* : lésions neuronales ; *AST* : touffes astrocytaires ; *OLI* : lésions oligodendrogiales ; *PLN* : plaques neuritiques.

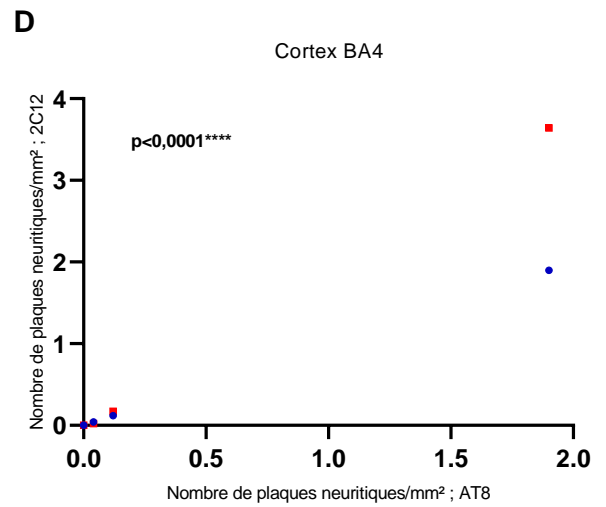
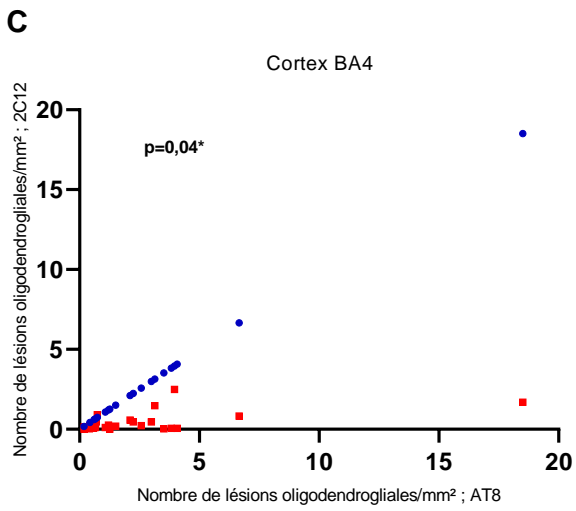
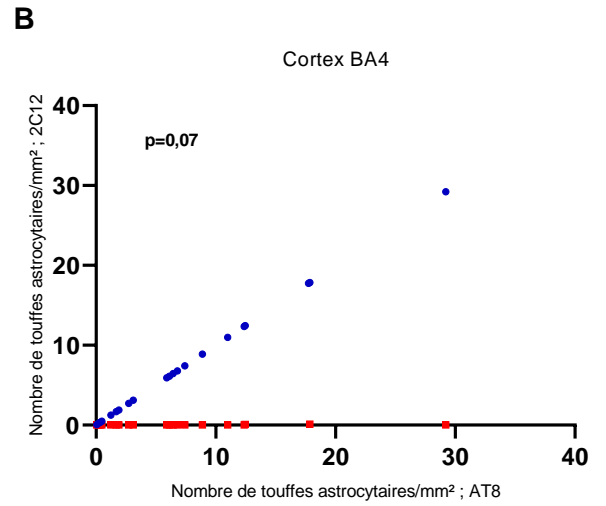
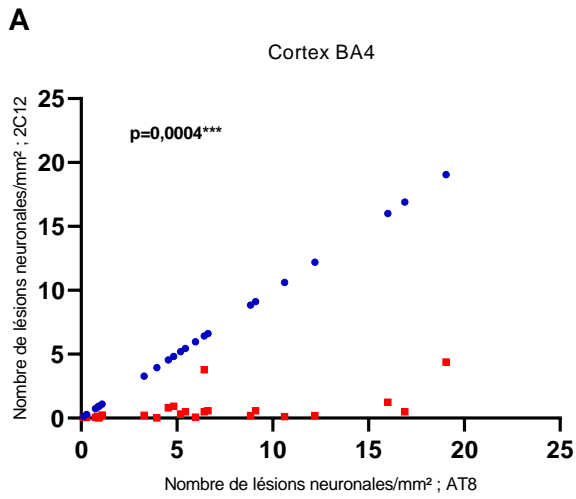
4.3. Analyses de corrélation

Afin de compléter l'analyse, des tests de corrélation (test du coefficient de Spearman) ont été réalisés entre les anticorps AT8/NTER et AT8/2C12, respectivement concernant le cortex de BA4 et CA2/3.

4.3.1. Corrélation entre AT8 et 2C12

Pour le cortex de BA4, il existait une corrélation positive et significative entre AT8 et 2C12 concernant les lésions neuronales ($\rho=0,65$ [0,34-0,84], $p=0,0004$), les lésions oligodendrogiales ($\rho=0,40$ [-0,01-0,69], $p=0,047$) et les plaques neuritiques ($\rho=1$ $p<0,0001$). Absence de corrélation concernant les touffes astrocytaires ($\rho=0,37$ [-0,04-0,68], $p=0,07$).

Pour CA 2/3, il existait une corrélation positive et significative entre AT8 et 2C12 concernant les lésions neuronales ($\rho=0,67$ [0,36-0,85], $p=0,0003$), les lésions oligodendrogiales ($\rho=0,62$ [0,29-0,82], $p=0,0009$) et les plaques neuritiques ($\rho=0,93$ [0,85-0,97], $p<0,0001$). Absence de corrélation concernant les touffes astrocytaires ($\rho=-0,0008$; $p=0,99$).



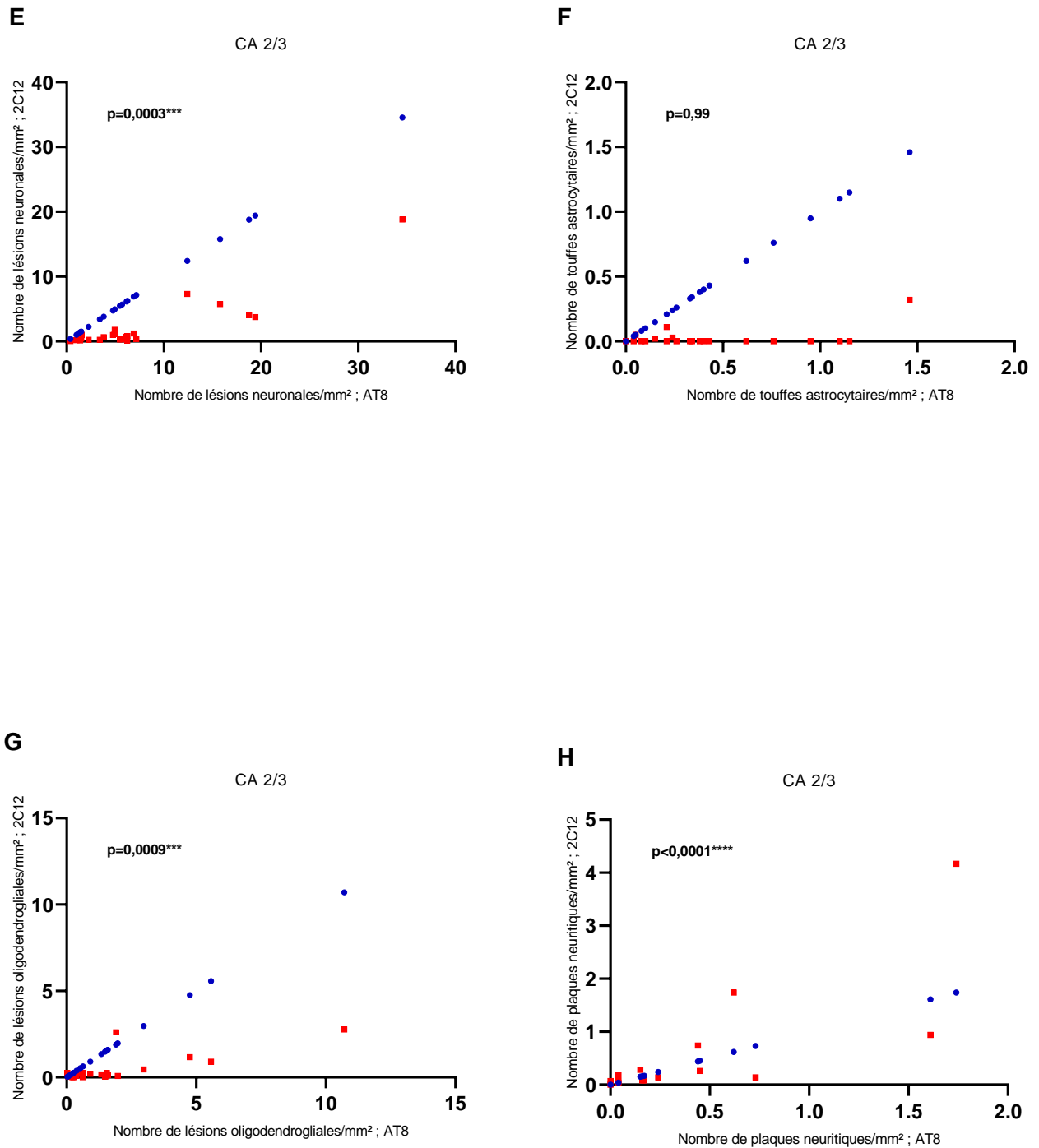
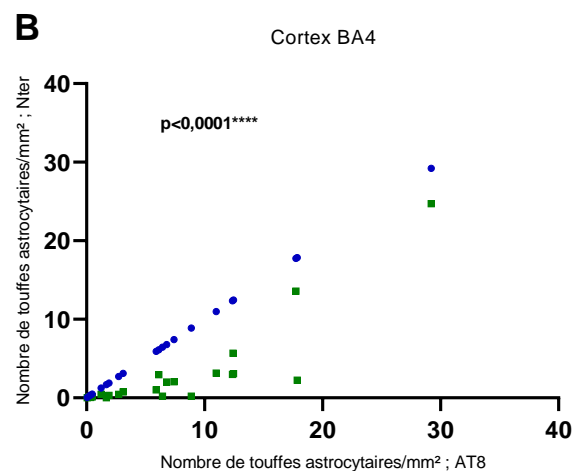
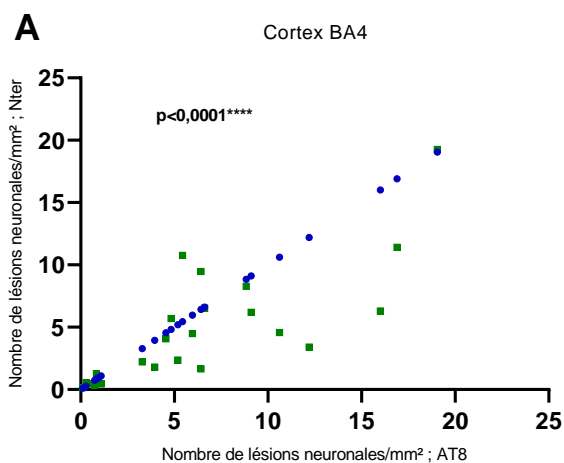


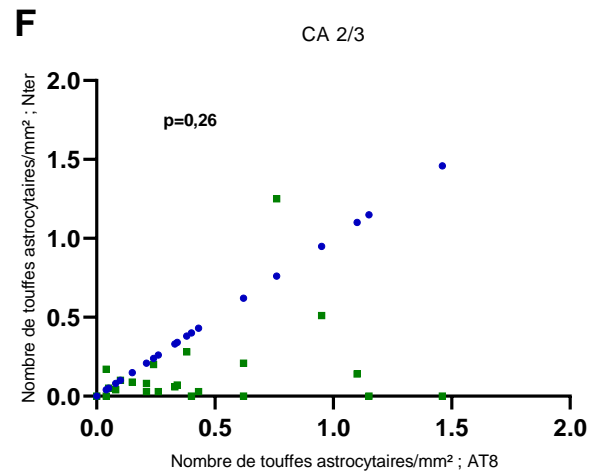
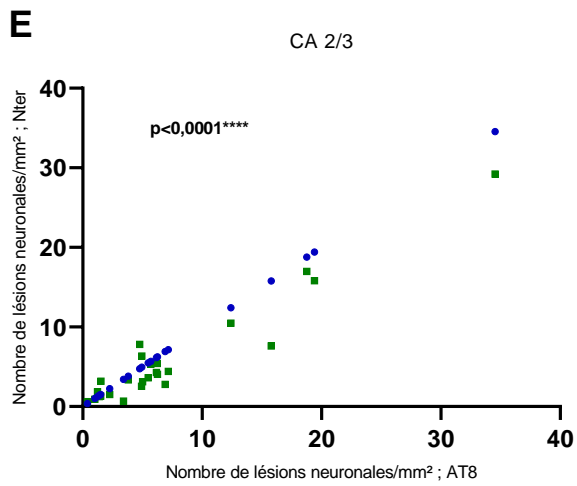
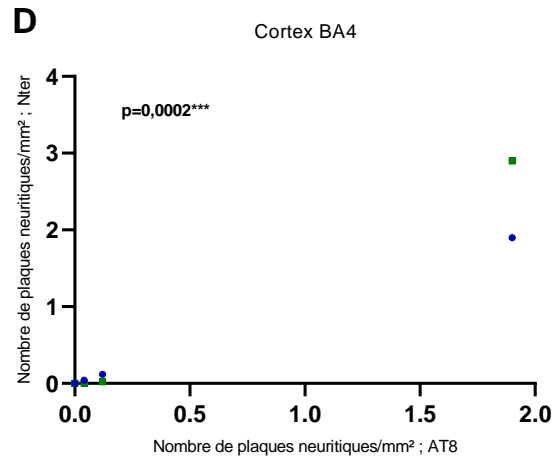
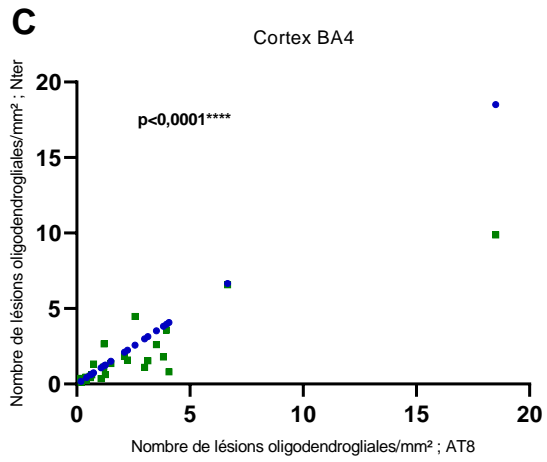
Figure 16. Corrélation entre la densité en lésions moyenne pour l'anticorps 2C12 et pour l'anticorps AT8, dans le cortex de BA4 et l'hippocampe. Les points bleus indiquent les données de l'anticorps AT8 ; les carrés rouges les données de l'anticorps 2C12. Corrélation déterminée par le test du coefficient de Spearman. **A.** Cortex BA4, lésions neuronales. **B.** Cortex BA4, touffes astrocytaires. **C.** Cortex BA4, lésions oligodendrogiales. **D.** Cortex BA4, plaques neuritiques. **E.** CA 2/3, lésions neuronales. **F.** CA 2/3, touffes astrocytaires. **G.** CA 2/3, lésions oligodendrogiales. **H.** CA 2/3, plaques neuritiques.

4.3.2. Corrélation entre AT8 et Nter

Pour le cortex de BA4, il existait une corrélation positive et significative entre AT8 et Nter concernant les lésions neuronales ($\rho=0,85$ [0,68-0,93], $p<0,0001$), les touffes astrocytaires ($\rho=0,88$ [0,74-0,95], $p<0,0001$), les lésions oligodendrogiales ($\rho=0,83$ [0,63-0,92], $p<0,0001$) et les plaques neuritiques ($\rho=0,68$ [0,38-0,85], $p=0,0002$).

Pour CA 2/3, il existait une corrélation positive et significative entre AT8 et Nter concernant les lésions neuronales ($\rho=0,84$ [0,65-0,93], $p<0,0001$), les lésions oligodendrogiales ($\rho=0,70$ [0,41-0,86], $p<0,0001$) et les plaques neuritiques ($\rho=0,93$ [0,85-0,97], $p<0,0001$). Absence de corrélation concernant les touffes astrocytaires ($\rho=0,23$ [-0,19-0,58], ; $p=0,26$).





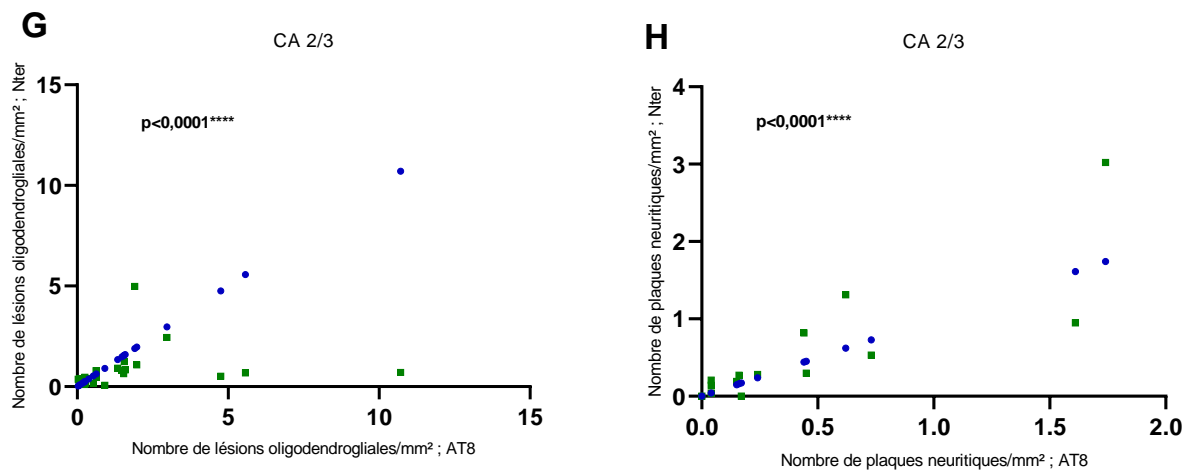


Figure 17. Corrélation entre la densité en lésions moyenne pour l'anticorps Nter et pour l'anticorps AT8, dans le cortex de BA4 et l'hippocampe. Les points bleus indiquent les données de l'anticorps AT8 ; les carrés verts les données de l'anticorps Nter. Corrélation déterminée par le test du coefficient de Spearman. **A.** Cortex BA4, lésions neuronales. **B.** Cortex BA4, touffes astrocytaires. **C.** Cortex BA4, lésions oligodendrogiales. **D.** Cortex BA4, plaques neuritiques. **E.** CA 2/3, lésions neuronales. **F.** CA 2/3, touffes astrocytaires. **G.** CA 2/3, lésions oligodendrogiales. **H.** CA 2/3, plaques neuritiques.

5. Evaluation de la spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions de type Alzheimer

Compte tenu de la présence de lésions marquées avec l'anticorps 2C12 dans cette cohorte de PSP nous avons voulu déterminer si la présence de cette isoforme de Tau était liée à un sous-type de PSP ou à la présence d'une MA associée. Les deux tableaux suivants présentent les données des quantifications pour BA4 et l'hippocampe, après immunomarquage par les anticorps AT8 et 2C12.

5.1. Tableaux récapitulatifs des quantifications lésionnelles pour les anticorps AT8 et 2C12

Cas	AT8							2C12						
	Cortex BA4				Substance blanche BA4			Cortex BA4				Substance blanche BA4		
	NEU	AST	OLI	PLN	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN	AST	OLI	PLN
1	3,95	1,89	1,51	0	0,19	0,91	0	0,02	0	0,19	0	0	0,24	0
2	10,62	6,13	3,52	0	0	4,21	0	0,12	0	0,02	0	0	0,18	0
3	0,84	1,68	0,61	0	0,52	0,9	0	0,14	0	0,27	0	0	0,08	0
4	16,01	0,24	0,58	1,9	1,37	2,32	0,69	1,24	0	0,07	3,64	0	0,64	0,53
5	5,44	2,72	2,99	0	0,32	1,37	0	0,48	0	0,46	0	0	0,51	0
6	9,11	12,46	6,66	0	2,7	7,31	0	0,58	0,07	0,82	0	0	2,32	0
7	5,97	7,4	2,57	0,04	0,53	3,24	0	0,08	0,02	0,23	0,02	0	0,45	0
8	0,9	0,34	0,66	0	0	0,29	0	0,01	0	0,11	0	0	0,12	0
9	6,42	8,87	4,07	0	0,45	3,05	0	0,49	0	0,05	0	0	0,49	0
10	0,74	0,05	0,18	0	0,04	0,15	0	0,06	0	0,01	0	0	0,02	0
11	1,09	3,1	0,7	0	0,2	0,1	0	0,24	0,02	0,45	0	0	0,19	0
12	0,95	1,24	1,26	0	0,06	0,6	0	0,06	0	0,01	0	0	0,02	0
13	0,28	0,13	0,43	0	0,12	0,23	0	0,05	0	0,2	0	0	0,09	0
14	4,82	17,86	3,96	0	0,47	2,57	0	0,92	0,11	2,49	0	0	1,73	0
15	0,35	0,47	0,41	0	0,02	0,1	0	0,08	0,01	0,03	0	0	0,12	0
16	3,29	6,79	2,11	0	0,1	1,17	0	0,21	0,01	0,57	0	0	0,13	0
17	4,55	10,98	3,14	0	0,42	2,38	0	0,81	0,02	1,47	0	0,03	1,74	0
18	8,84	12,41	1,21	0	0,59	0,91	0	0,19	0	0,25	0	0	0,4	0
19	0,12	0,22	0,19	0	0,14	0,45	0	0,06	0	0,14	0	0	0,22	0
20	6,62	29,2	1,19	0	9,56	1	0	0,58	0	0,29	0	0	0,25	0
21	19,05	5,9	2,24	0	0,3	3,89	0	4,38	0	0,46	0	0	1,33	0
22	12,2	0,12	18,5	0	0	50,27	0	0,19	0	1,69	0	0	1,76	0
23	5,19	6,44	1,07	0	0,22	1,7	0	0,32	0	0,11	0	0	0,22	0
24	6,42	17,75	0,74	0,12	0,59	0,81	0	3,79	0	0,9	0,17	0	0,49	0
25	16,9	12,36	3,83	0	0,03	2,32	0	0,48	0	0,05	0	0	0,39	0

Tableau III : Tableau récapitulatif des quantifications lésionnelles pour les anticorps AT8 et 2C12 dans BA4. Les données sont exprimées en nombre de lésions par mm². Le dégradé de couleurs met en évidence en vert les plus faibles densités lésionnelles ; en jaune/orange les densités intermédiaires ; et en rouge les plus élevées. Trois cas (n°4, n°7 et n°24) présentaient des plaques neuritiques marquées par AT8 en densité intermédiaire à faible. Le cas n°22 présentait une densité en lésions oligodendrogiales particulièrement élevée dans la substance blanche.

Cas	AT8												2C12											
	Gyrus denté				CA 2/3				C. Ent.				Gyrus denté				CA 2/3				C. Ent.			
	NEU	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN	NEU	AST	OLI	PLN
1	2,01	0,24	0,12	0	6,26	0,34	1,34	0	2,98	0,37	0,34	0	0	0	0	0	0,81	0	0,17	0	0,23	0	0,02	0
2	0,34	0	0	0	1	0	0,26	0	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0,18	0	0	0	0,1	0	0	0
3	2,07	0,14	0,14	0	6,16	0,04	1,48	0,44	10,17	0,13	0,35	1,23	0	0	0	0	0,7	0	0,04	0,74	2,82	0	0,08	0,48
4	18,45	0	0,45	1,93	34,54	0	0,53	1,74	42,76	0	1,17	0,83	0,99	0	0	0,57	18,8	0	0,2	4,17	8,03	0,4	0,04	7,66
5	1,56	0,84	0,84	0	3,41	0,62	1,54	0,02	10,81	0,23	0,64	0	0,31	0	0	0	0,24	0	0,05	0	2,01	0	0	0
6	/	/	/	/	15,78	0,43	4,75	0	3,38	0,69	1,02	0	/	/	/	/	5,74	0	1,17	0	1,33	0	0,9	0
7	8,9	0,46	0,46	0,46	19,41	0,21	1,55	0,62	19,31	2,18	4,48	3,58	0,48	0	0,48	0,24	3,75	0	0,26	1,74	5,38	0,08	1,15	3,78
8	/	/	/	/	7,16	0,26	1,59	0,73	2,66	0,67	0,53	1,59	/	/	/	/	0,37	0	0,14	0,14	0,15	0	0,02	0,23
9	3,21	0,87	0,29	0	1,4	0,95	0,25	0	0,91	0,4	0,15	0	1,81	0	0	0	0,14	0	0	0	0,36	0	0	0
10	3,32	0,1	0,2	0	4,95	0,05	0,09	0	8,69	0,14	0,22	0	1,44	0	0,09	0	1,79	0,05	0,14	0	3,32	0,02	1	0
11	/	/	/	/	1,24	0,38	0,03	0,02	0,58	0,06	0,17	0	/	/	/	/	0,4	0	0,25	0,07	0,28	0	0,2	0
12	2,08	0,4	0	0	3,82	0,21	0,24	0,15	0,31	0,15	0,08	0	0,49	0	0,3	0	0,66	0,11	0,14	0,28	0,07	0	0,04	0
13	0,47	0	0	0	1,5	0,15	0,17	0	1,42	0,05	0,23	0	0,38	0	0,19	0	0,44	0,02	0,03	0	0,34	0,03	0,12	0
14	3,05	0	0,76	0	5,47	0,24	2,97	0,16	1,9	0,45	0,88	0	1,19	0	0	0	0,29	0,03	0,45	0,08	0,18	0,02	0,13	0,02
15	1,01	0	0	0	2,25	0,62	0,06	0,45	9,37	0,67	0,17	0,03	0,23	0	0	0	0,26	0	0,04	0,26	1,86	0,03	0,13	0,07
16	3,75	0,13	0,26	0	5,69	0,08	1,97	0,04	11,75	0,14	1,76	0	0,8	0	0	0	0,3	0	0,08	0,04	0,72	0	0,15	0
17	0,7	0	0,56	0	4,76	0,76	0,38	0,24	7,11	0	0,25	0	0,7	0	0	0	0,99	0	0,09	0,14	3,45	0	0,22	0,03
18	6,15	0,97	0,32	0	6,91	0,1	0,63	0	13,65	0,29	0,63	0	0,88	0	0	0	1,23	0	0,26	0	2,32	0,05	0,05	0
19	1,62	0,81	0,81	0	5,01	1,1	0,91	0,04	8,82	0,95	0,54	0,02	0,27	0	0	0	1,64	0	0,21	0,18	3,38	0,08	0,32	0,05
20	1,97	0,11	0,11	0	6,23	0,04	0,62	0,04	6	0,6	0,57	0,09	0,16	0	0	0	0,11	0	0	0,07	0,58	0	0,23	0
21	26,68	2,78	0,98	0	18,77	1,46	10,71	0,17	19,64	0,82	0,87	0	1,04	0	0,3	0	4,04	0,32	2,77	0,08	3,25	0	0,56	0
22	1,24	0	0,55	0	1,53	0	1,9	0	5,79	0	0,16	0	0,66	0	0	0	1,02	0	2,6	0	1,86	0	0,48	0
23	6,37	0,42	1,42	0	4,93	1,15	5,57	0	4,52	9,07	1,2	0	0,13	0	0	0	1,12	0	0,91	0	0,66	0	0,35	0
24	23,27	0	0	8,18	12,42	0,4	0,05	1,61	16,26	0,59	0,27	5,29	8,82	0	0,24	4,17	7,31	0	0	0,94	10,67	0	0,26	2,37
25	0,94	0,16	0,16	0	0,39	0,33	0,22	0	0,89	0,08	0,24	0	0,46	0	0	0	0,06	0	0	0	0,28	0	0,08	0

Tableau IV : Tableau récapitulatif des quantifications lésionnelles pour les anticorps AT8 et 2C12 dans l'hippocampe. Les données sont exprimées en nombre de lésions par mm². Le dégradé de couleurs met en évidence en vert les plus faibles densités lésionnelles ; en jaune/orange les densités intermédiaires ; et en rouge les plus élevées. Le gyrus denté n'était pas présent sur 3 prélèvements. Quinze cas présentaient des plaques neuritiques marquées par AT8 en densité intermédiaire à faible.

5.2. Diagramme de flux de l'étude

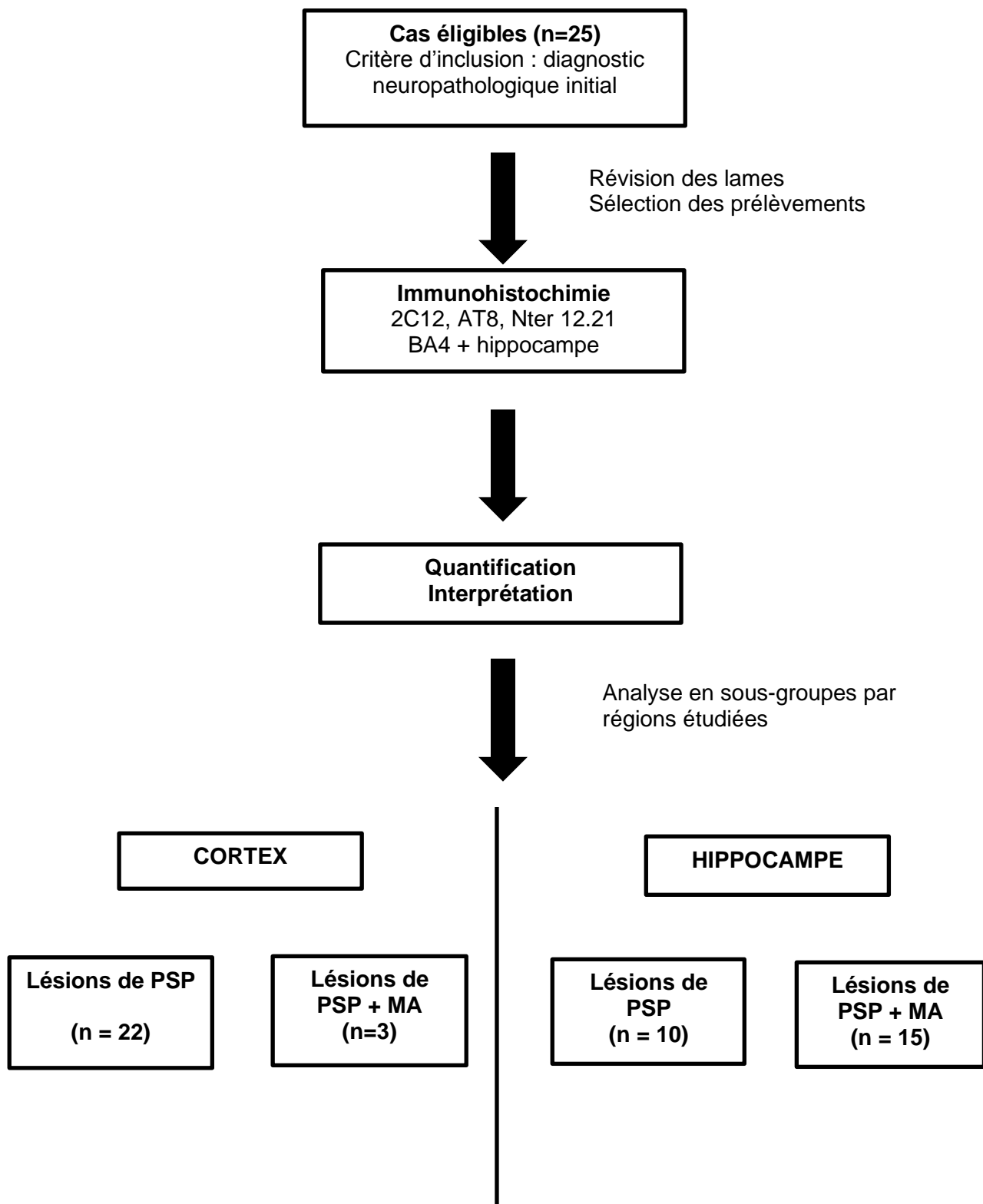


Figure 18 : Diagramme de flux de l'étude.

5.3. Analyse de la densité lésionnelle globale

5.3.1. Description des résultats

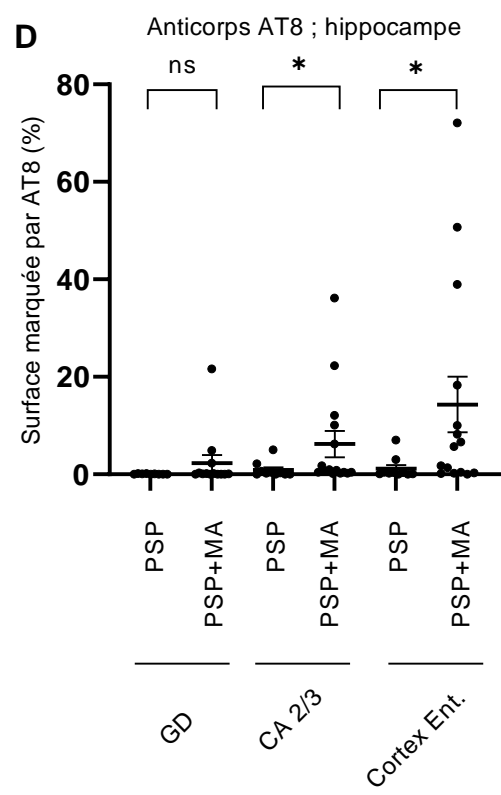
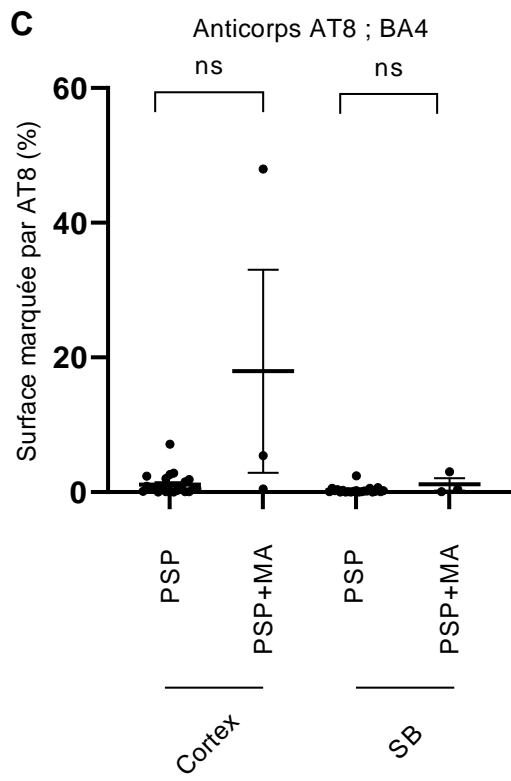
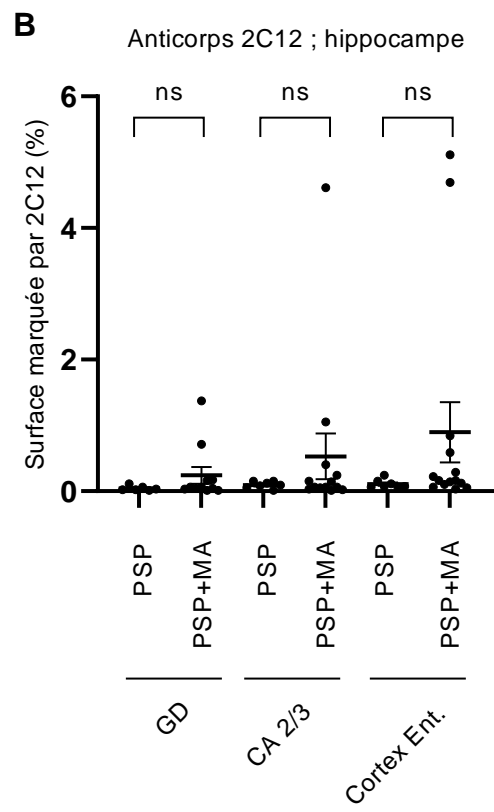
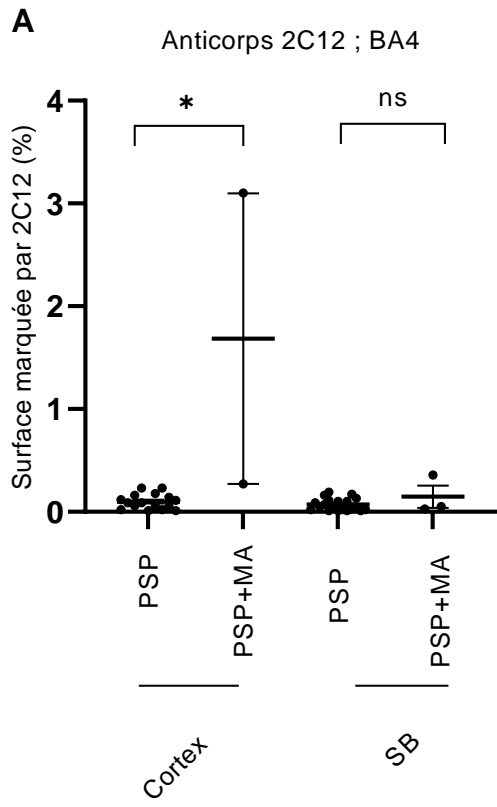
Concernant l'anticorps 2C12, l'évaluation de la densité lésionnelle globale n'a pas été contributive pour 7 cas dans le cortex de BA4 (6 cas dans le groupe PSP et 1 cas dans le groupe PSP+MA) ; pour 2 cas (groupe PSP) dans la substance blanche de BA4. Toujours pour 2C12 l'évaluation de la densité lésionnelle globale n'a pas été contributive dans le gyrus denté pour 8 cas (4 dans le groupe PSP et 4 dans le groupe PSP+MA) ; dans CA 2/3 pour 5 cas (3 dans le groupe PSP et 2 dans le groupe PSP+MA) ; et dans le cortex entorhinal pour 4 cas (3 dans le groupe PSP et 1 dans le groupe PSP+MA).

Ces données manquantes venaient principalement d'artéfacts de bruit de fond et de la faible intensité du marquage lésionnel. Le gyrus denté était également absent sur 3 prélèvements.

Concernant les résultats pour l'anticorps 2C12, dans le cortex de BA4, la densité lésionnelle globale moyenne était de 0,10% [0,01-0,23%] dans le groupe PSP et de 1,69% [0,27-3,1%] dans le groupe PSP+MA. La différence entre les deux groupes était significative ($p=0,013$) après test de Mann-Whitney. Dans la substance blanche de BA4, la densité moyenne était de 0,07% [0,01-0,19%] dans le groupe PSP et de 0,15% [0,03-0,36%] dans le groupe PSP+MA. Dans le gyrus denté, la densité moyenne était de 0,04% [0,01-0,11%] dans le groupe PSP et de 0,24% [0,01-1,37%] dans le groupe PSP+MA. Dans CA 2/3, la densité moyenne était de 0,09% [0,01-0,15%] dans le groupe PSP et de 0,53% [0,01-4,61%] dans le groupe PSP+MA. Dans le cortex entorhinal la densité moyenne était de 0,11% [0,06-0,24%] dans le groupe PSP et de 0,90% [0,03-5,11%] dans le groupe PSP+MA. Absence de différence significative entre les deux groupes dans toutes ces dernières régions.

Concernant l'anticorps AT8, dans le cortex de BA4, la densité lésionnelle globale moyenne était de 1,15% [0,02-2,82%] dans le groupe PSP et de 17,9% [0,48-47,9%] dans le groupe PSP+MA. Dans la substance blanche de BA4, la densité moyenne était de 0,30% [0,01-2,44%] dans le groupe PSP et de 1,16% [0,06-3,01%] dans le groupe PSP+MA. Dans le gyrus denté, la densité moyenne était de 0,07% [0,01-0,17%] dans le groupe PSP et de 2,30% [0,01-21,6%] dans le groupe PSP+MA. Dans CA 2/3, la densité moyenne était de 0,90% [0,01-5,05%] dans le groupe PSP et de 6,20% [0,18-36,2%] dans le groupe PSP+MA. Dans le cortex entorhinal, la densité moyenne était de 1,18% [0,03-7,06%] dans le groupe PSP et de 14,3% [0,03-72,1%] dans le groupe PSP+MA. Il existait une différence significative entre les deux groupes dans CA2/3 ($p=0,029$) et dans le cortex entorhinal ($p=0,027$).

Pour l'anticorps Nter, dans le cortex de BA4, la densité lésionnelle globale moyenne était de 0,26% [0,02-0,89%] dans le groupe PSP et de 9,04% [0,14-25,7%] dans le groupe PSP+MA. Dans la substance blanche de BA4, la densité moyenne était de 0,20% [0,01-1,15%] dans le groupe PSP et de 1,61% [0,05-4,61%] dans le groupe PSP+MA. Dans le gyrus denté, la densité moyenne était de 0,05% [0,01-0,12%] dans le groupe PSP et de 0,36% [0,02-2,41%] dans le groupe PSP+MA. Dans CA 2/3, la densité moyenne était de 0,22% [0,02-0,84%] dans le groupe PSP et de 1,43% [0,07-7,44%] dans le groupe PSP+MA. Dans le cortex entorhinal la densité moyenne était de 0,23% [0,01-0,99%] dans le groupe PSP et de 2,08% [0,03-12,4%] dans le groupe PSP+MA. Il existait une différence significative entre les deux groupes dans le cortex entorhinal ($p=0,031$).



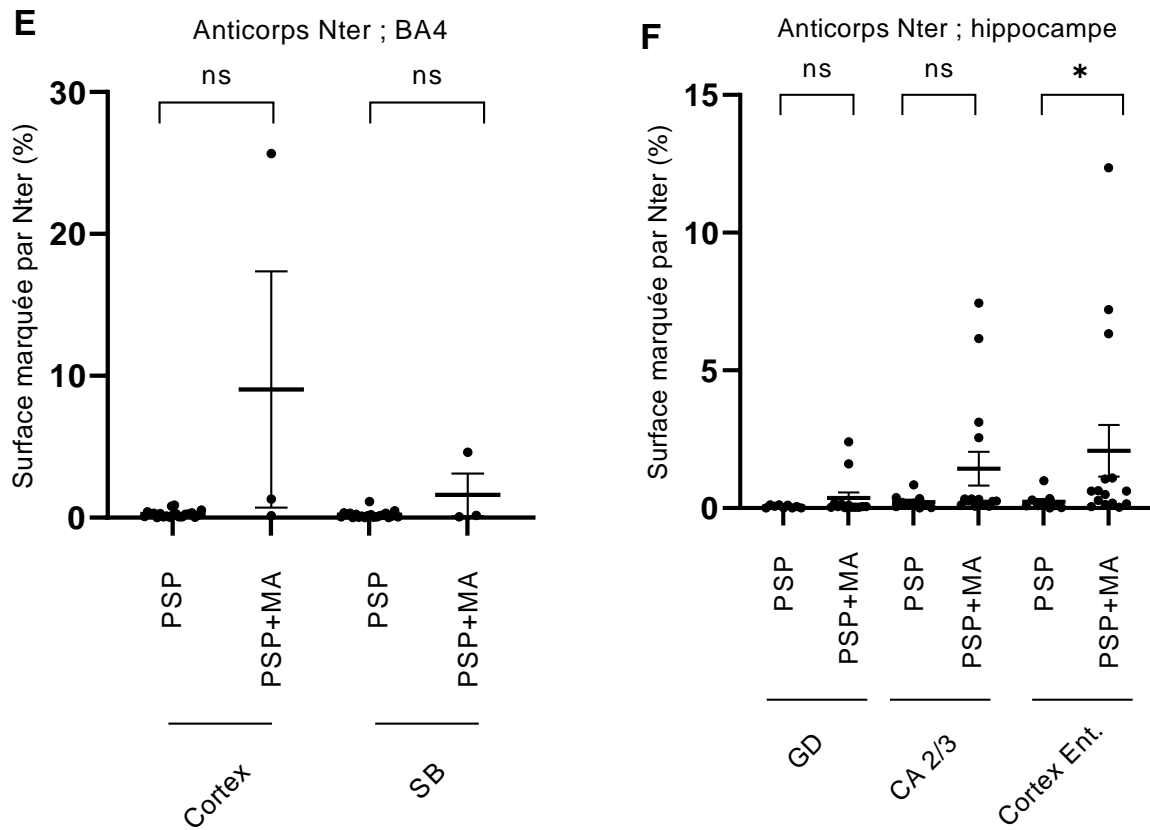
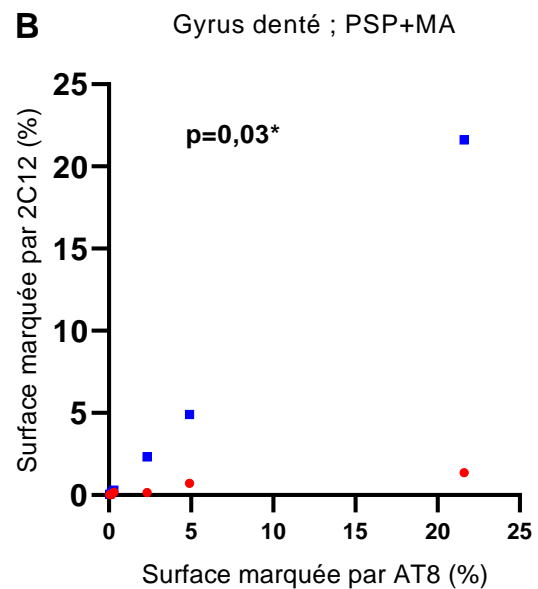
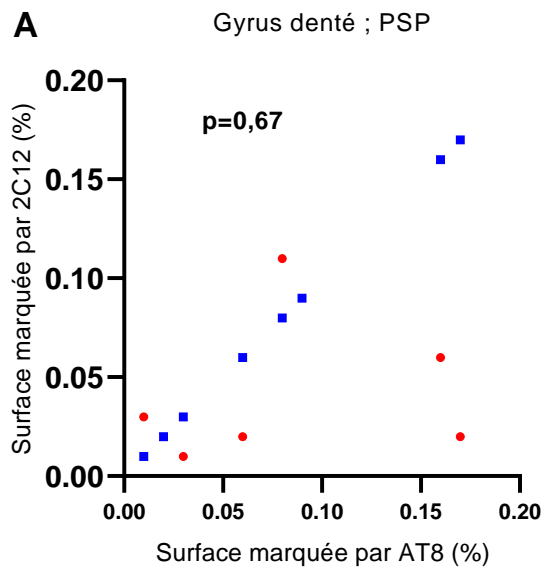


Figure 19. Densité lésionnelle globale moyenne des groupes PSP et PSP+MA dans BA4 et l'hippocampe. Après numérisation des lames et intégration au logiciel QuPath ©, la surface marquée est calculée automatiquement via un programme de détection de pixel. Les résultats sont exprimés en pourcentage de surface marquée. La barre d'erreur indique l'écart type. Les différences entre les valeurs moyennes ont été déterminées par Mann-Whitney test. **A et B.** Anticorps 2C12. Différence significative dans le cortex de BA4 ($p=0,013$). **C et D.** Anticorps AT8. Différence significative dans CA2/3 ($p=0,029$) et dans le cortex entorhinal ($p=0,027$). **E et F.** Anticorps Nter. Différence significative dans le cortex entorhinal ($p=0,031$).

5.3.2. Analyses de corrélation

Afin de compléter l'analyse, des tests de corrélation (test du coefficient de Spearman) ont été réalisés respectivement entre les anticorps AT8/2C12 et Nter/2C12 dans l'hippocampe. Les tests n'ont pu en effet être réalisés pour BA4 dans le groupe PSP+MA en raison du faible nombre de cas dans ce groupe.



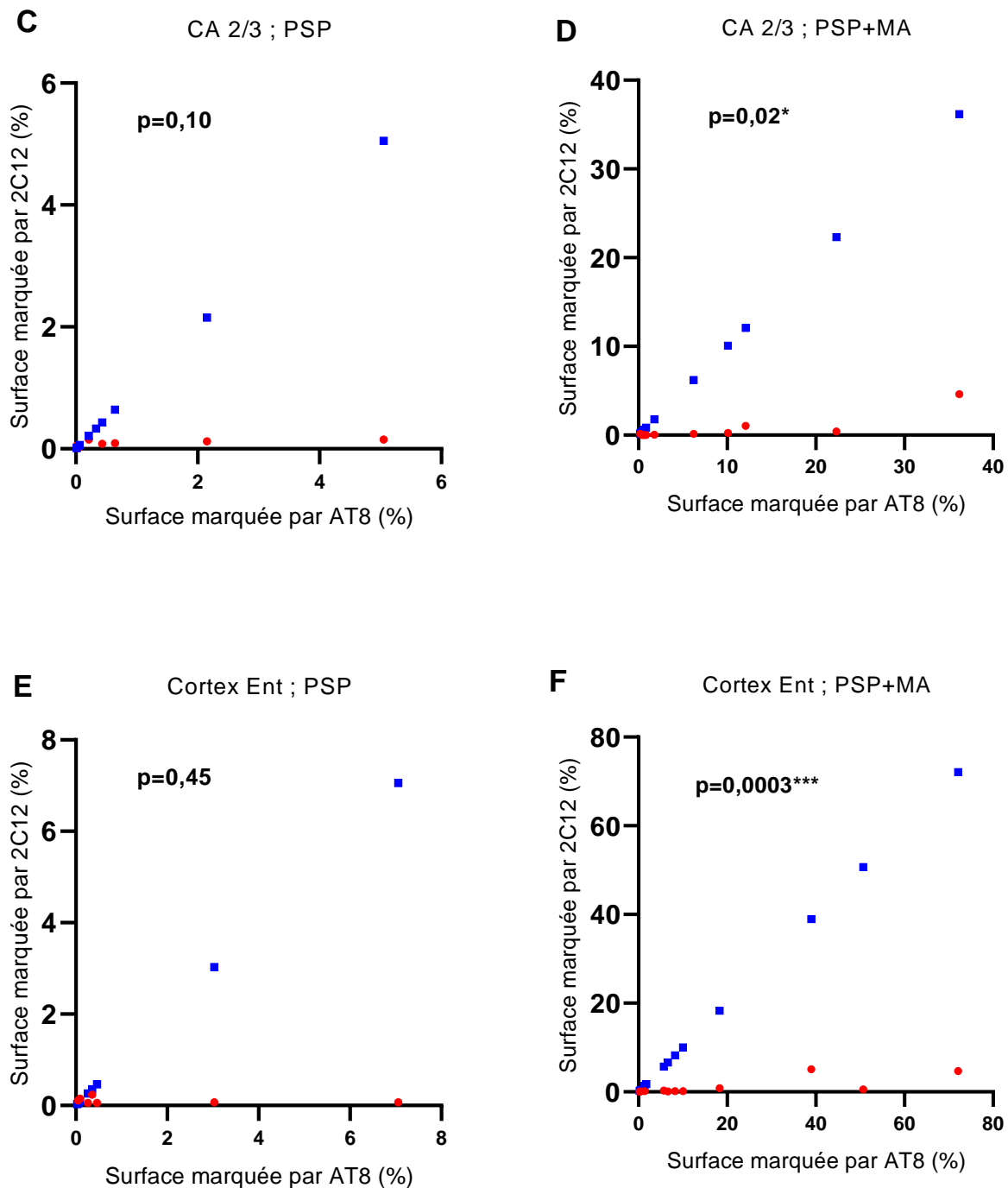
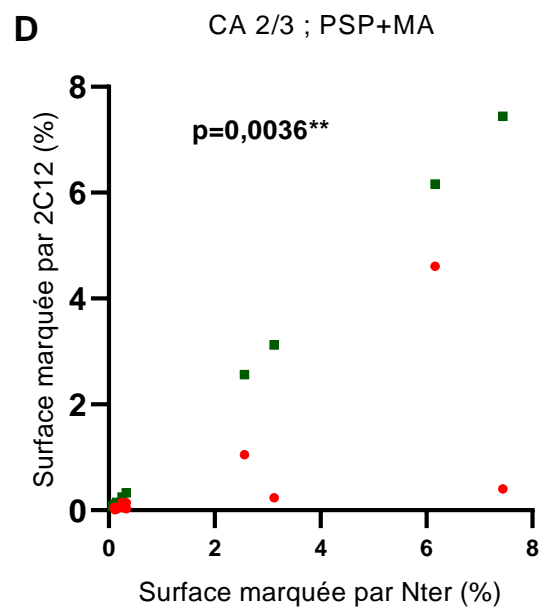
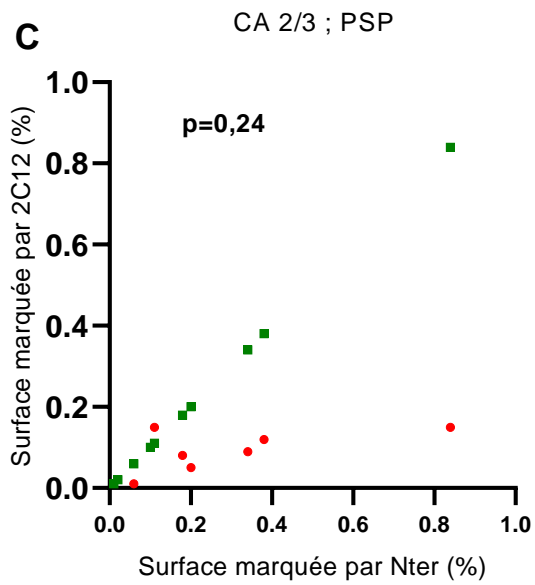
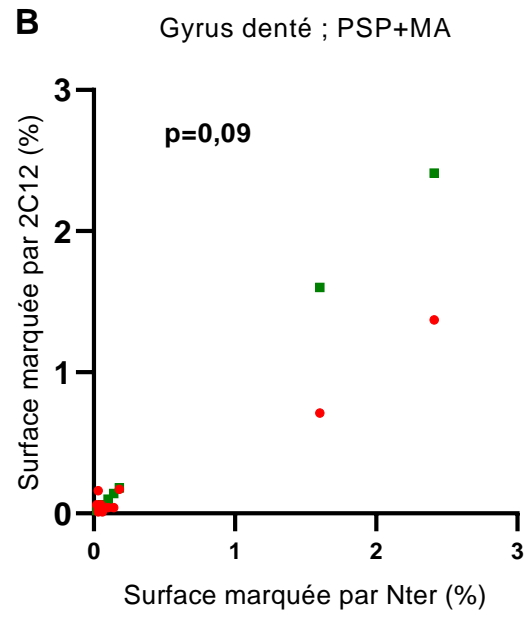
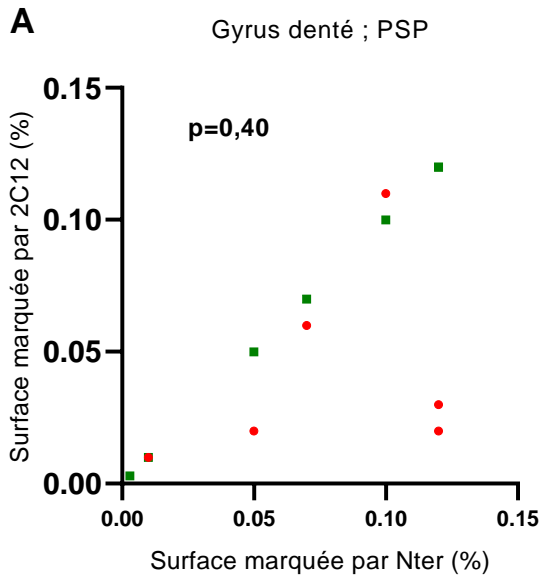


Figure 20. Corrélation entre la densité lésionnelle globale moyenne pour l'anticorps 2C12 et la densité lésionnelle globale moyenne pour l'anticorps AT8 dans l'hippocampe. Les points rouges indiquent les données de 2C12 ; les carrés bleus les données de AT8. **A et B.** Gyrus denté. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,23$, $p=0,67$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,65$ [0,07-0,90], $p=0,03$). **C et D.** CA 2/3. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,68$, $p=0,10$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,64$ [0,13-0,89], $p=0,02$). **E et F.** Cortex entorhinal. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=-0,35$, $p=0,45$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,88$ [0,54-0,95], $p=0,0003$).



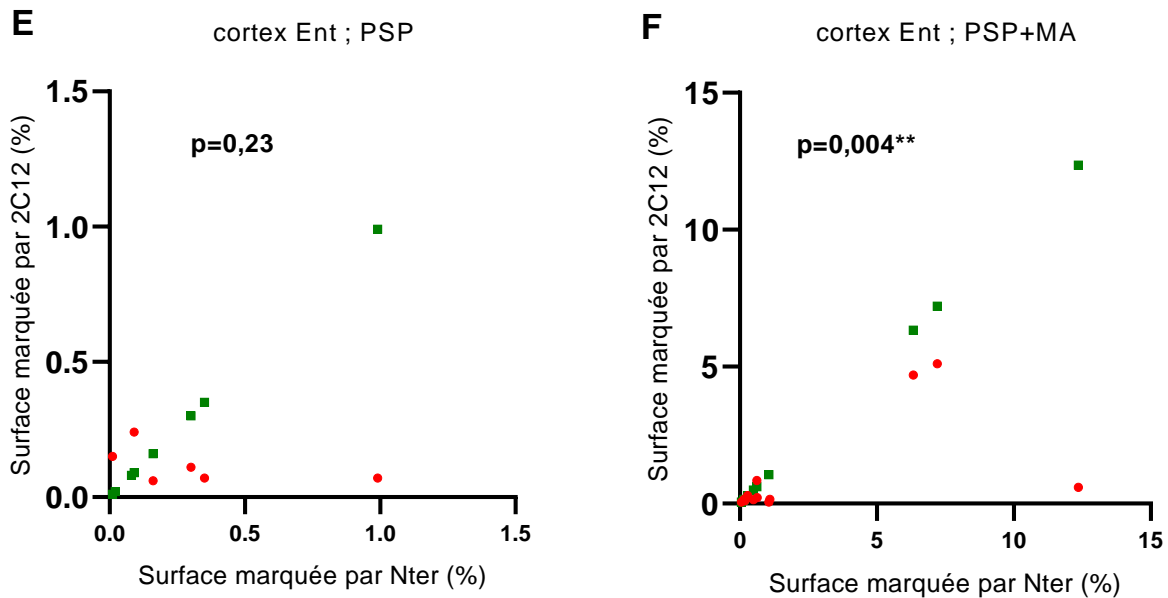


Figure 21. Corrélation entre la densité lésionnelle globale moyenne pour l'anticorps 2C12 et la densité lésionnelle globale moyenne pour l'anticorps Nter dans l'hippocampe. Les points rouges indiquent les données de 2C12 ; les carrés verts les données de Nter. **A et B.** Gyrus denté. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,43$, $p=0,40$) et dans le groupe PSP+MA ($\rho=0,55$ [-0,10-0,87], $p=0,09$). **C et D.** CA 2/3. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,52$, $p=0,24$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,76$ [0,34-0,93], $p=0,0036$). **E et F.** Cortex entorhinal. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=-0,58$, $p=0,23$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,73$ [0,31-0,91], $p=0,004$).

5.4. Analyse comparative des quantifications lésionnelles par groupes

5.4.1. Etude comparative pour l'anticorps 2C12

Dans le cortex de BA4, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par 2C12 entre les groupes PSP et PSP+MA ($0,48/\text{mm}^2$ [0,01-4,38] vs $1,78/\text{mm}^2$ [0,08-3,79] ; $p=0,21$) ; également concernant les touffes astrocytaires ($<0,01/\text{mm}^2$ vs $<0,01/\text{mm}^2$; $p=0,87$) ; également concernant les lésions oligodendrogiales ($0,46/\text{mm}^2$ [0,01-2,49] vs $0,40/\text{mm}^2$ [0,07-0,90] ; $p=0,83$).

Dans la substance blanche de BA4, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en touffes astrocytaires marquée par 2C12 entre les groupes PSP et PSP+MA ($<0,01/\text{mm}^2$ vs $0/\text{mm}^2$; $p>0,99$) ; également concernant les lésions oligodendrogiales ($0,57/\text{mm}^2$ [0,02-2,32] vs $0,53/\text{mm}^2$ [0,45-0,64] ; $p=0,25$).

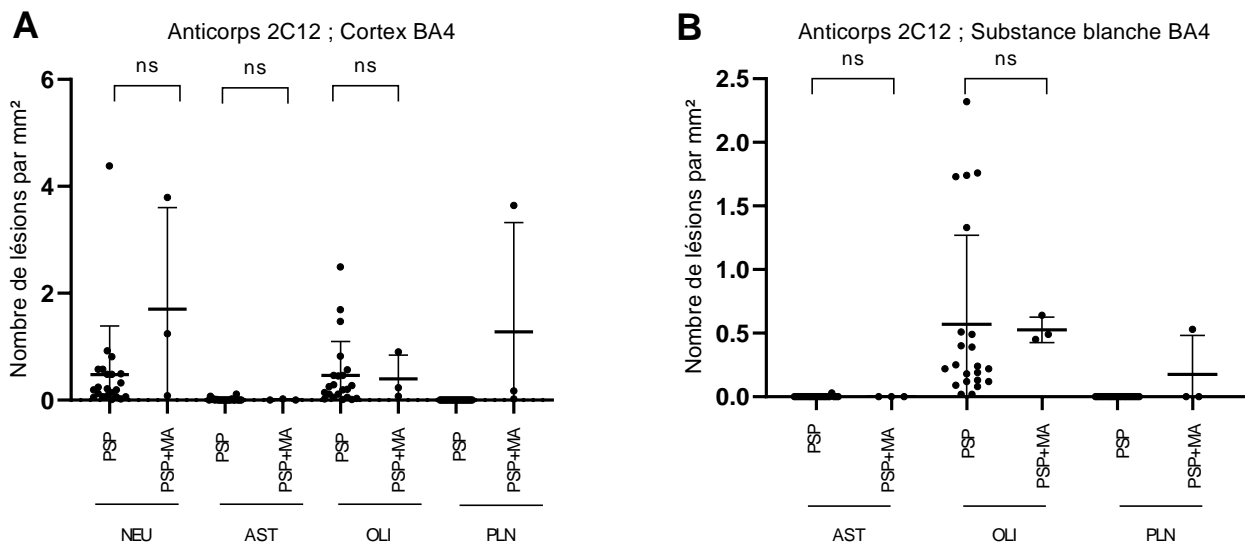
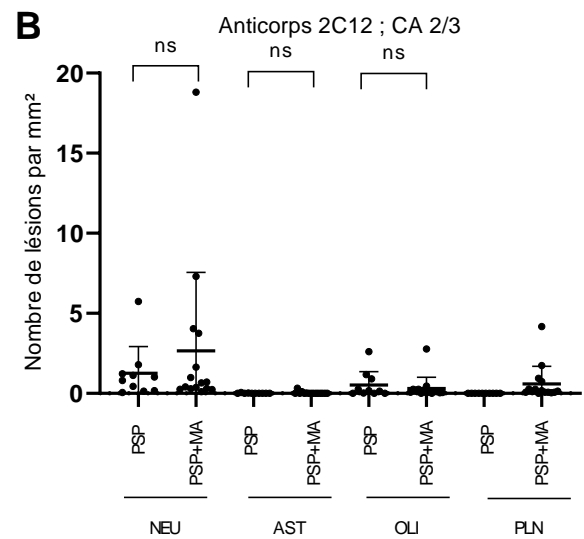
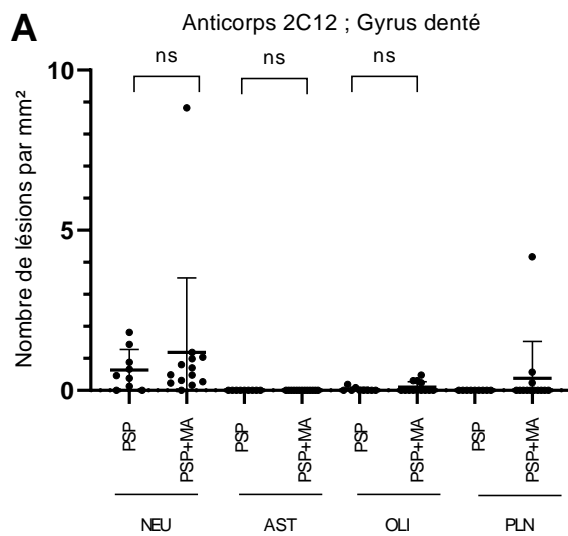


Figure 22. Quantifications pour l'anticorps 2C12 dans l'aire BA4. La densité lésionnelle est exprimée en nombre de lésions observées par mm². **A.** Cortex. **B.** Substance blanche. Absence de différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA après test de Mann-Whitney pour chaque type de lésion (test non réalisé sur les plaques neuritiques). *NEU* : neurones ; *AST* : touffes astrocytaires ; *OLI* : oligodendrocytes ; *PLN* : plaques neuritiques.

Dans le gyrus denté, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par 2C12 entre les groupes PSP et PSP+MA (0,64/mm² [0,13-1,81] vs 1,19/mm² [0-8,82] ; p=0,69) ; également concernant les touffes astrocytaires (0/mm² vs de 0/mm² ; p>0,99) ; également concernant les lésions oligodendrogiales (0,03/mm² [0-0,19] vs 0,10/mm² [0-0,48] ; p=0,40).

Dans CA 2/3, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par 2C12 entre les groupes PSP et PSP+MA (1,25/mm² [0,06-5,74] vs 2,66/mm² [0,11-18,8] ; p=0,89) ; également concernant les touffes astrocytaires (< 0,01/mm² vs < 0,01/mm² ; p=0,77) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales de (0,53/mm² [0-2,60] vs 0,31/mm² [0-2,77] ; p=0,95).

Dans le cortex entorhinal, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par 2C12 entre les groupes PSP et PSP+MA (1,08/mm² [0,10-3,32] vs 2,86/mm² [0,07-10,67] ; p=0,19) ; également concernant les touffes astrocytaires (0,01/mm² [0-0,05] vs 0,04/mm² [0-0,40] ; p=0,70) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,30/mm² [0-1,0] vs 0,24/mm² [0-1,15] ; p=0,80).



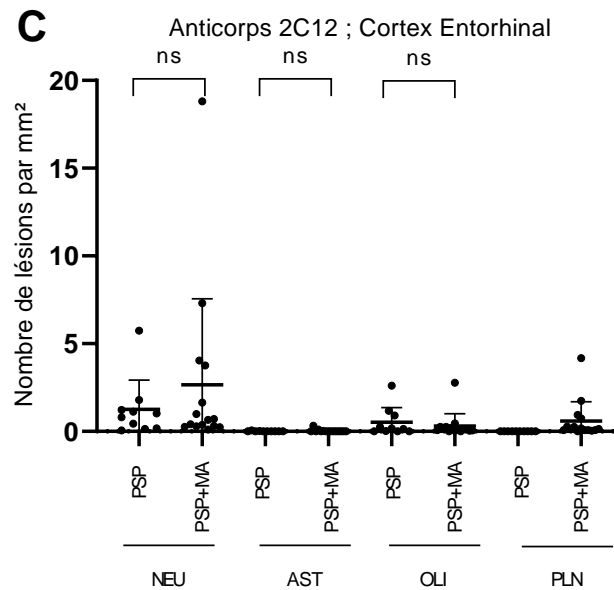


Figure 23. Quantifications pour l'anticorps 2C12 dans l'hippocampe. La densité lésionnelle est exprimée en nombre de lésions observées par mm². **A.** Gyrus denté. **B.** CA 2/3. **C.** Cortex entorhinal. Absence de différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA après test de Mann-Whitney pour chaque type de lésion (test non réalisé sur les plaques neuritiques) dans ces trois régions.

5.4.2. Etude comparative pour l'anticorps AT8

Dans le cortex de BA4, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquées par AT8 entre les groupes PSP et PSP+MA (5,56/mm² [0,12-16,9] vs 9,47/mm² [5,97-16,01] ; p=0,21) ; également concernant les touffes astrocytaires (6,43/mm² [0,05-29,2] vs 8,46/mm² [0,24-17,8] ; p=0,66) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (2,75/mm² [0,18-18,5] vs 1,30/mm² [0,58-2,57] ; p=0,55).

Dans la substance blanche de BA4, il existait une différence significative sur la densité moyenne en touffes astrocytaires marquée par AT8 entre les groupes PSP et PSP+MA (0,75/mm² [0-9,56] vs 0,83/mm² [0,53-1,37] ; p=0,03) ; mais une absence de différence significative concernant les lésions oligodendrogiales (3,90/mm² [0,10-50,3] vs 2,12/mm² [0,81-3,24] ; p=0,62).

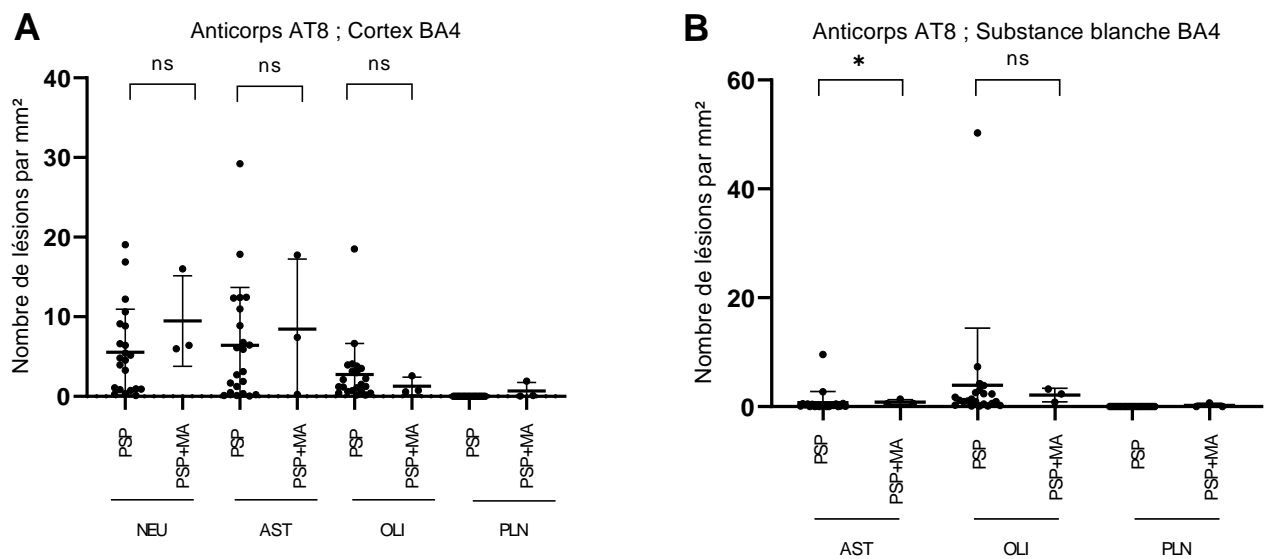


Figure 24. Quantifications pour l'anticorps AT8 dans l'aire BA4. La densité lésionnelle est exprimée en nombre de lésions observées par mm². **A.** Cortex. **B.** Substance blanche. Présence d'une différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA uniquement concernant les touffes astrocytaires dans la substance blanche après test de Mann-Whitney (p=0,03).

Dans le gyrus denté, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par AT8 entre les groupes PSP et PSP+MA (2,67/mm² [0,34-6,15] vs 7,32/mm² [0,70-26,7] ; p=0,29) ; également concernant les touffes astrocytaires (0,31/mm² [0-0,97] vs 0,44/mm² [0-2,78] ; p=0,86) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,34/mm² [0-1,42] vs 0,41/mm² [0-0,98] ; p=0,60).

Dans CA 2/3, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par AT8 entre les groupes PSP et PSP+MA (4,47/mm² [0,39-15,8] vs 9,09/mm² [0,11-18,8] ; p=0,10) ; également concernant les touffes astrocytaires (0,35/mm² [0-1,15] vs 0,43/mm² [0-1,46] ; p=0,59) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,42/mm² [0-1,2] vs 1,64/mm² [0,03-10,7] ; p=0,89).

Dans le cortex entorhinal, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par AT8 entre les groupes PSP et PSP+MA (4,37/mm² [0,89-13,7] vs 11,2/mm² [0,31-42,8] ; p=0,06) ; également concernant les touffes astrocytaires (1,11/mm² [0-9,07] vs 0,51/mm² [0-2,18] ; p=0,40) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,30/mm² [0-1,0] vs 0,85/mm² [0,08-4,48] ; p=0,17).

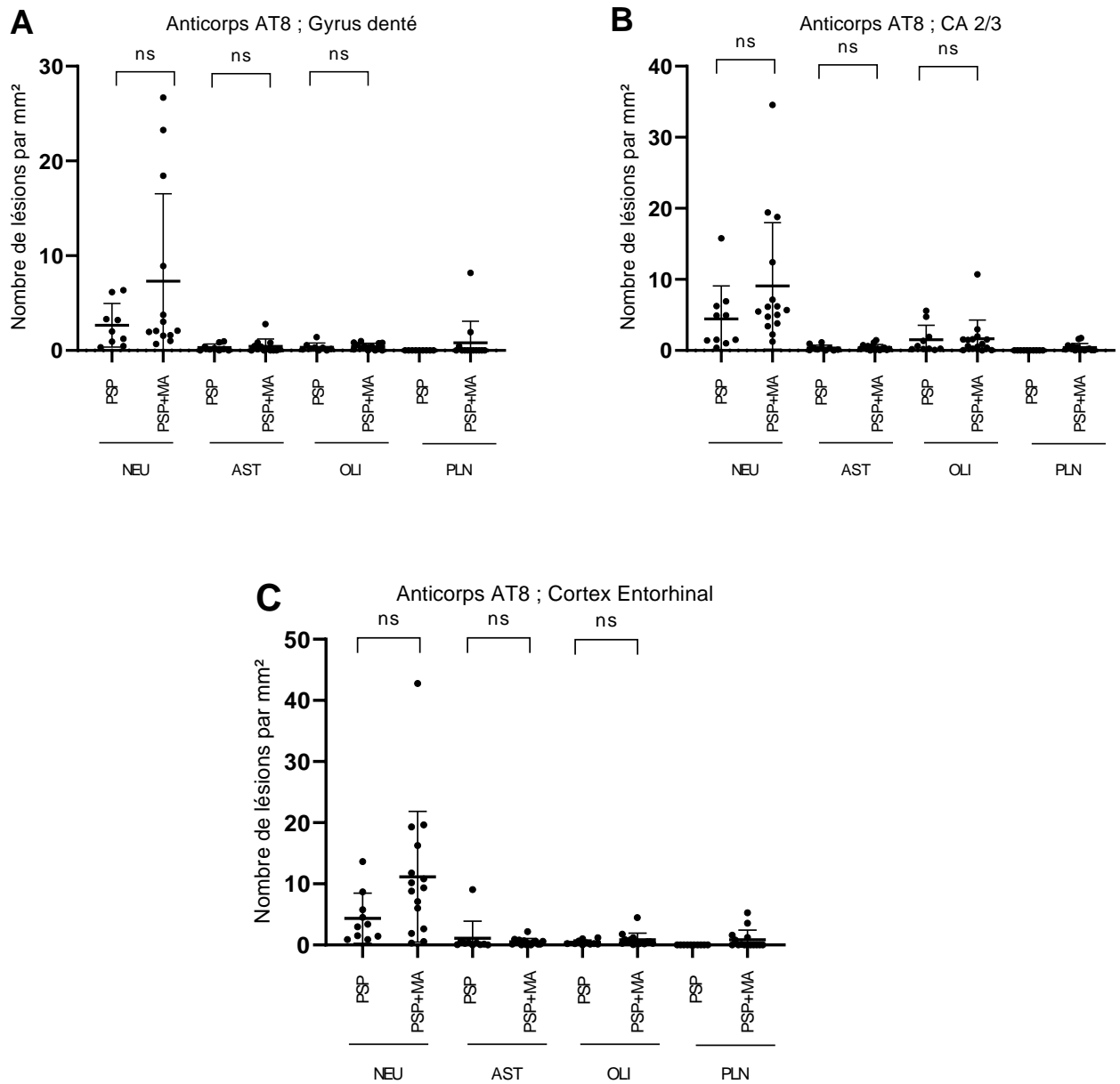


Figure 25. Quantifications pour l'anticorps AT8 dans l'hippocampe. La densité lésionnelle est exprimée en nombre de lésions observées par mm². **A.** Gyrus denté. **B.** CA 2/3. **C.** Cortex entorhinal. Absence de différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA après test de Mann-Whitney pour chaque type de lésion (non réalisé sur les plaques neuritiques) dans ces trois régions.

5.4.3. Etude comparative pour l'anticorps Nter

Dans le cortex de BA4, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par Nter entre les groupes PSP et PSP+MA ($4,21/\text{mm}^2$ [0,15-19,3] vs $6,75/\text{mm}^2$ [4,49-9,46] ; $p=0,18$) ; également concernant les touffes astrocytaires ($2,30/\text{mm}^2$ [0-24,7] vs $5,24/\text{mm}^2$ [0,10-13,6] ; $p=0,49$) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales ($1,83/\text{mm}^2$ [0,23-9,87] vs $2,10/\text{mm}^2$ [0,51-4,47] ; $p=0,72$).

Dans la substance blanche de BA4, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en touffes astrocytaires marquée par Nter entre les groupes PSP et PSP+MA ($0,54/\text{mm}^2$ [0-9,82] vs $0,36/\text{mm}^2$ [0-0,66] ; $p=0,39$) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales ($1,66/\text{mm}^2$ [0,15-9,2] vs $1,41/\text{mm}^2$ [0,17-2,37] ; $p=0,78$).

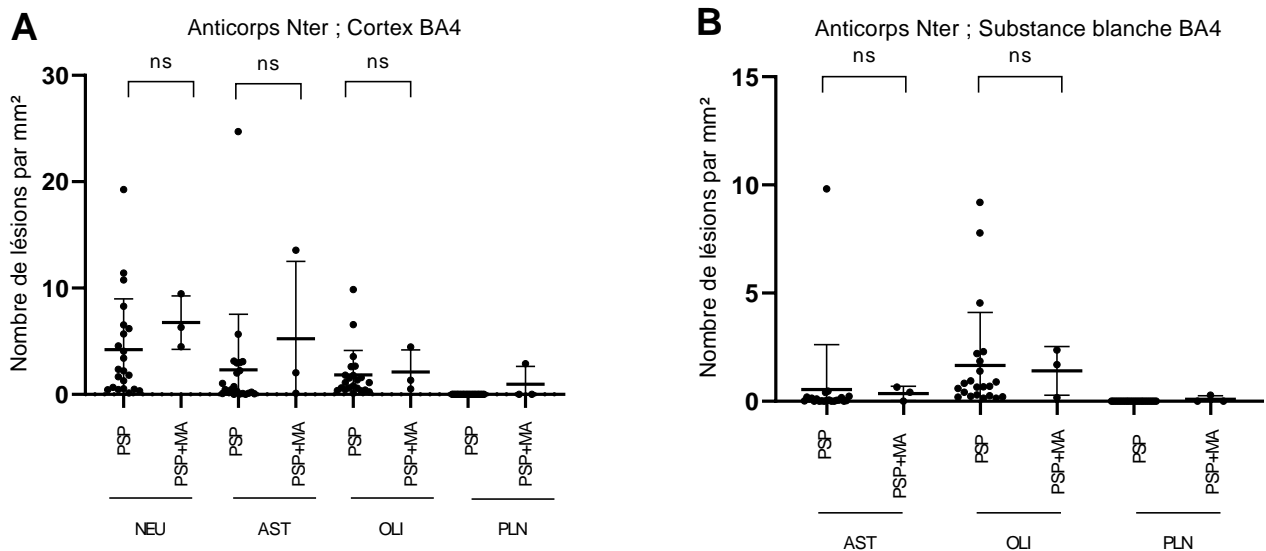


Figure 26. Quantifications pour l'anticorps Nter dans l'aire BA4.

A. Cortex. **B.** Substance blanche. Il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA après test de Mann-Whitney pour chaque type de lésion (non réalisé sur les plaques neuritiques).

Dans le gyrus denté, il n'y avait pas de différence significative après test de Mann-Whitney sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par Nter entre les groupes PSP et PSP+MA (1,56/mm² [0,39-3,61] vs 4,05/mm² [0,78-21,3] ; p=0,10) ; également concernant les touffes astrocytaires (0,03/mm² [0-0,16] vs 0,15/mm² [0-0,63] ; p=0,24) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,26/mm² [0-0,87] vs 0,30/mm² [0-1,38] ; p=0,91).

Dans CA 2/3, il existait une différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par Nter entre les groupes PSP et PSP+MA (3,06/mm² [0,62-7,60] vs 7,59/mm² [0,69-29,2] ; p=0,048) ; mais une absence de différence significative concernant les touffes astrocytaires (0,09/mm² [0-0,51] vs 0,16/mm² [0-1,25] ; p=0,77) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,90/mm² [0,18-4,98] vs 0,68/mm² [0,07-2,44] ; p=0,98).

Dans le cortex entorhinal, il n'y avait pas de différence significative sur la densité moyenne en lésions neuronales marquée par Nter entre les groupes PSP et PSP+MA (3,13/mm² [0,69-8,57] vs 6,04/mm² [0,27-18,3] ; p=0,20) ; également concernant les touffes astrocytaires (0,07/mm² [0-0,33] vs 0,23/mm² [0-1,21] ; p=0,18) ; et également concernant les lésions oligodendrogiales (0,36/mm² [0,13-0,95] vs 0,87/mm² [0,03-6,10] ; p=0,27).

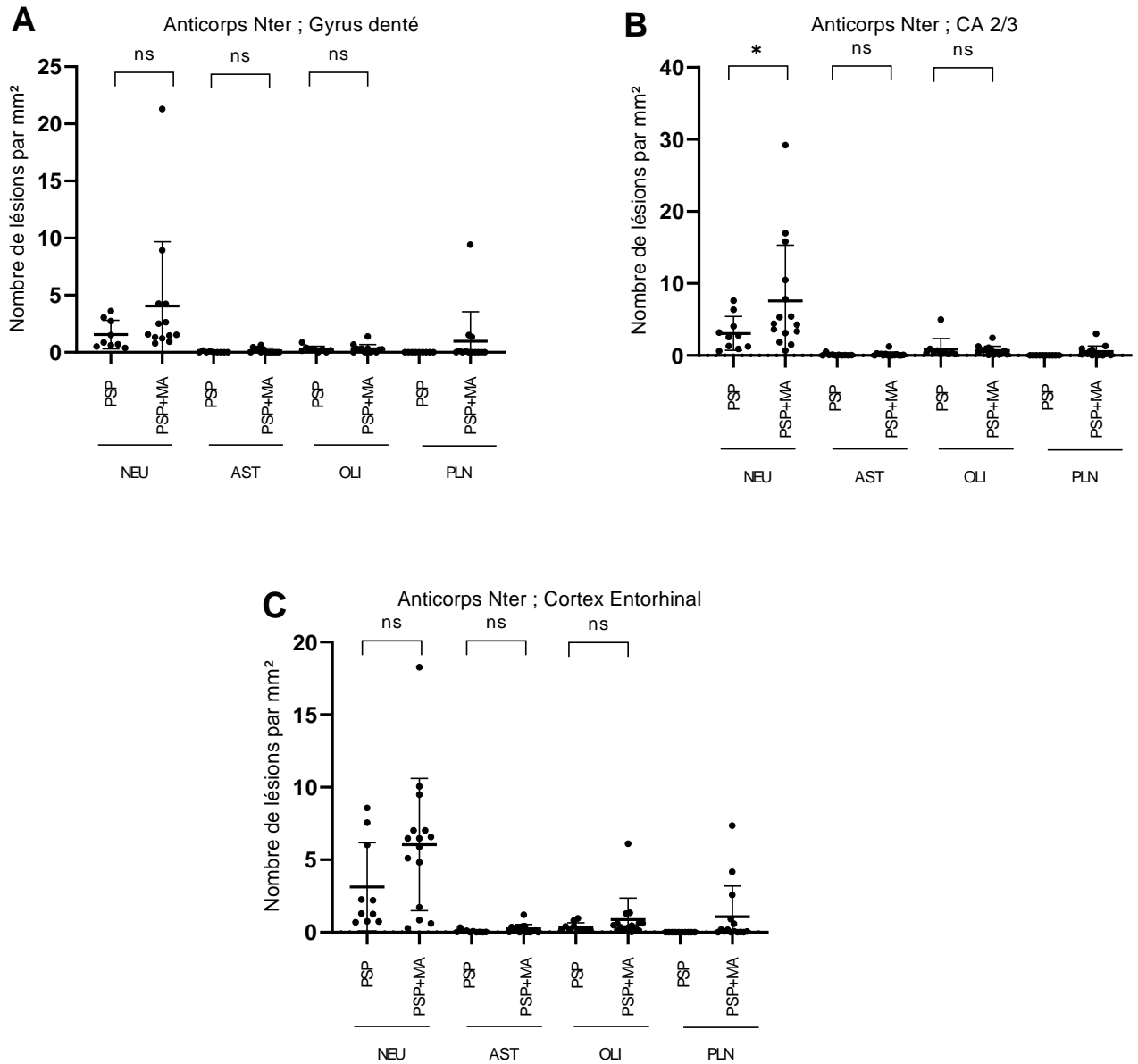
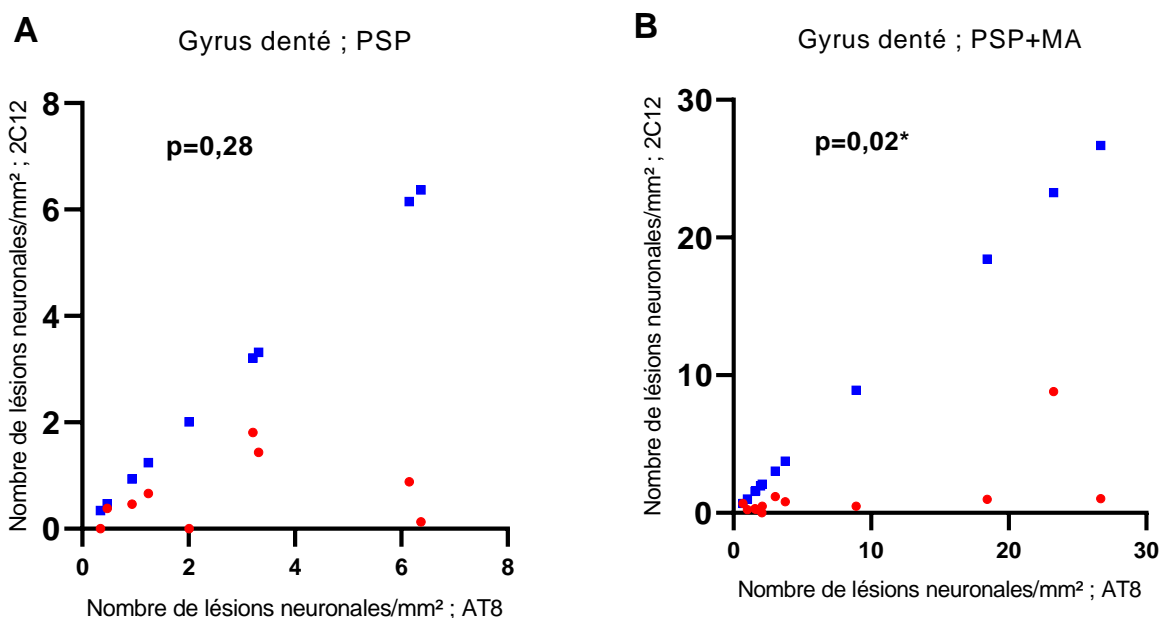


Figure 27. Quantifications pour l'anticorps Nter dans l'hippocampe. A. Gyrus denté. **B.** CA 2/3. Présence d'une différence significative ($p=0,048$) entre les groupes PSP et PSP+MA uniquement concernant les lésions neuronales après test de Mann-Whitney. **C.** Cortex entorhinal.

5.5. Analyses de corrélation sur les lésions neuronales

Des tests de corrélation (test du coefficient de Spearman) ont été réalisés respectivement entre les anticorps AT8/2C12 et Nter/2C12 dans l'hippocampe. Les tests n'ont pu en effet être réalisés pour BA4 dans le groupe PSP+MA en raison du faible nombre de cas dans ce groupe. De plus ces tests n'ont intéressés que les lésions neuronales.



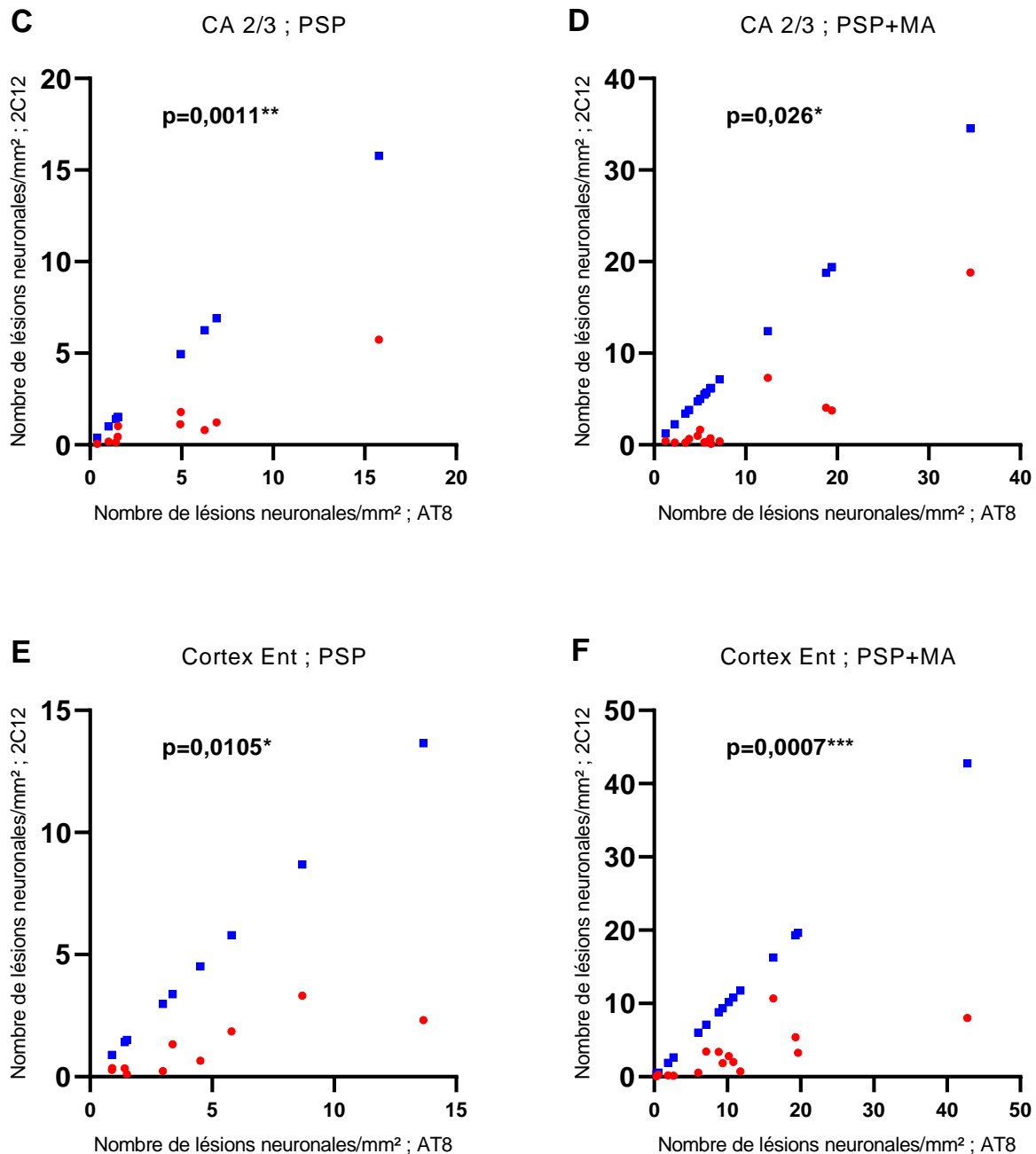
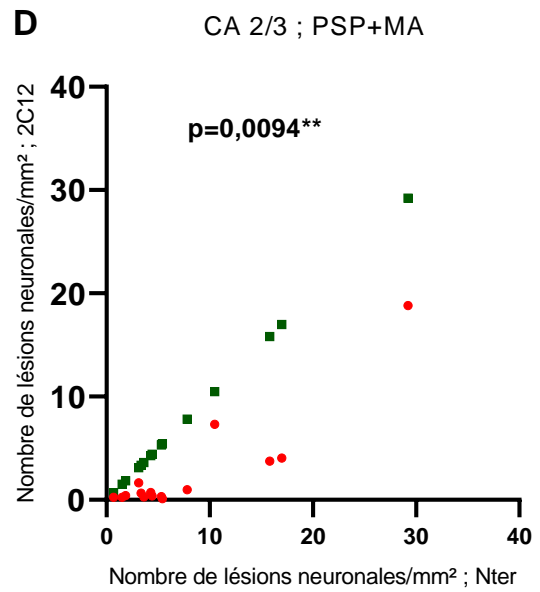
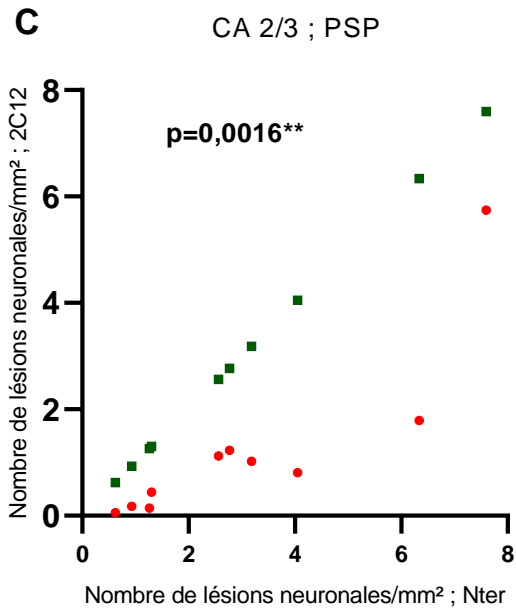
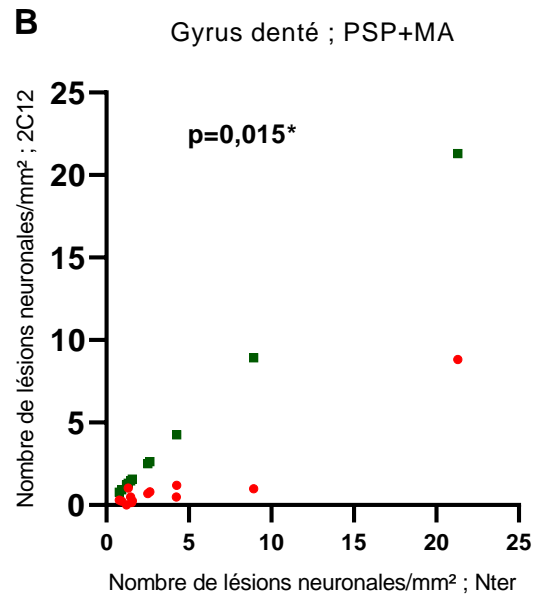
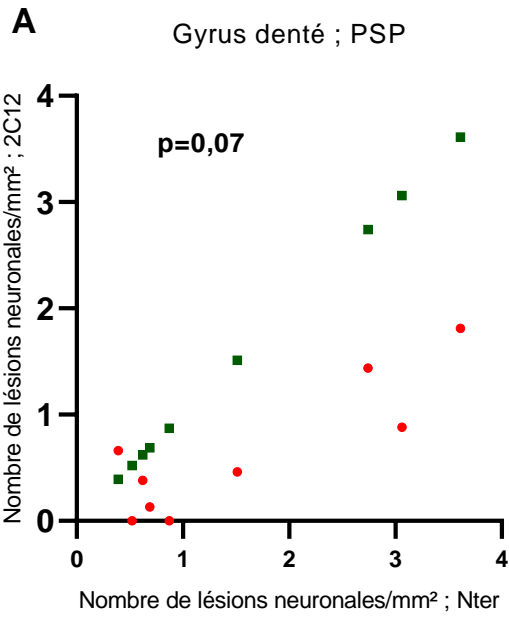


Figure 28. Corrélation entre la densité en lésions neuronales moyenne pour l'anticorps 2C12 et la densité en lésions neuronales moyenne pour l'anticorps AT8, dans l'hippocampe. Les points rouges indiquent les données de l'anticorps 2C12 ; les carrés bleus les données de l'anticorps AT8. **A et B.** Gyrus denté. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,40$, $p=0,28$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,65$ [0,14-0,89], $p=0,02$). **C et D.** CA 2/3. Corrélation positive et significative pour le groupe PSP ($\rho=0,89$, $p=0,0011$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,58$ [0,08-0,85], $p=0,026$). **E et F.** Cortex entorhinal. Corrélation positive et significative dans le groupe PSP ($\rho=0,78$, $p=0,0105$) et le groupe PSP+MA ($\rho=0,79$ [0,46-0,93], $p=0,0007$).



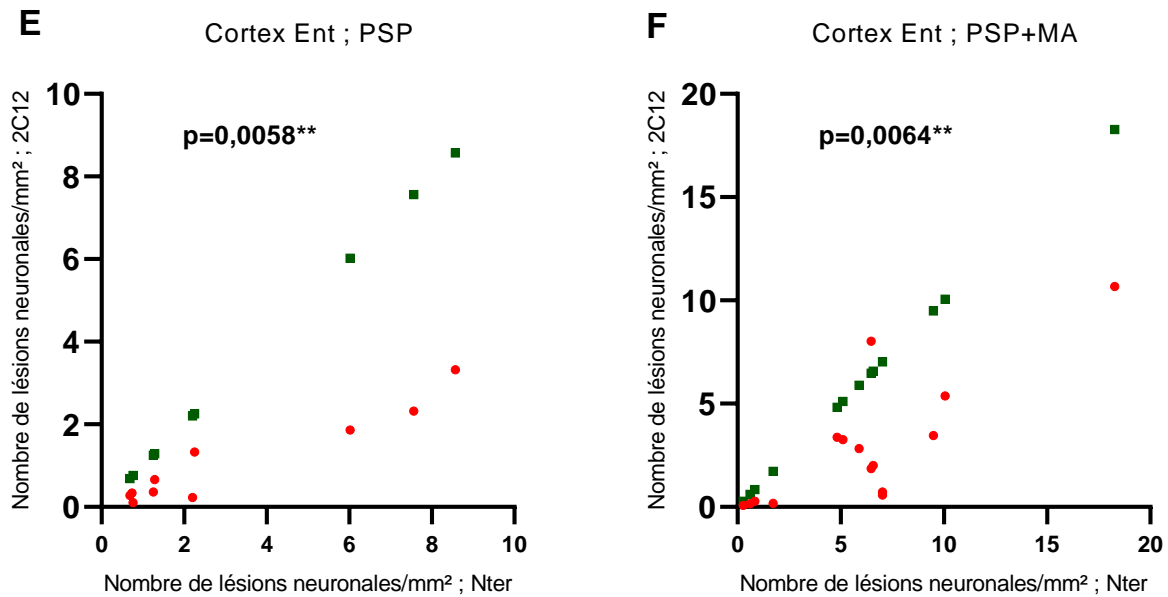


Figure 29. Corrélation entre la densité en lésions neuronales moyenne pour l'anticorps 2C12 et la densité en lésions neuronales moyenne pour l'anticorps Nter, dans l'hippocampe. Les points rouges indiquent les données de l'anticorps 2C12 ; les carrés verts les données de l'anticorps Nter. **A et B.** Gyrus denté. Absence de corrélation dans le groupe PSP ($\rho=0,64$, $p=0,07$). Corrélation positive et significative pour le groupe PSP+MA ($\rho=0,67$ [0,17-0,90], $p=0,015$). **C et D.** CA 2/3. Corrélation positive et significative pour le groupe PSP ($\rho=0,88$, $p=0,0016$) et le groupe PSP+MA ($\rho=0,66$ [0,20-0,88], $p=0,0094$). **E et F.** Cortex entorhinal. Corrélation positive et significative dans le groupe PSP ($\rho=0,82$, $p=0,0058$) et le groupe PSP+MA ($\rho=0,68$ [0,25-0,89], $p=0,0064$).

Discussion

1. Etude de la forme AcMet11-Tau dans la PSP

Notre première étude comparative des quantifications lésionnelles, entre AT8 et 2C12, a montré une différence significative dans toutes les régions étudiées (cortex BA4, substance blanche BA4, gyrus denté, CA 2/3 et cortex entorhinal) et pour l'ensemble des lésions étudiées (lésions neuronales, touffes astrocytaires et lésions oligodendrogiales).

En effet, les quantifications obtenues grâce à l'immunomarquage par 2C12 ont montré la présence de cette troncation dans le cortex frontal à une très faible densité. Il s'agissait de lésions interprétées comme neuronales ou oligodendrogiales. Les lésions astrocytaires étaient exceptionnelles. Les mêmes résultats étaient observés dans l'hippocampe, avec un profil lésionnel plutôt neuronal et oligodendrogial, et d'exceptionnelles touffes astrocytaires. Les analyses de corrélation réalisées dans le cortex frontal et l'hippocampe montraient une corrélation positive entre AT8 et 2C12 pour les lésions neuronales et oligodendrogiales, mais pas pour les touffes astrocytaires.

De façon intéressante il était constaté une absence de différence significative dans les quantifications des plaques neuritiques entre AT8 et 2C12 dans le cortex frontal et l'hippocampe.

Les quantifications réalisées après immunomarquage par l'anticorps Nter mettaient en évidence une densité lésionnelle comparable à celle d'AT8. Dans ce sens les comparaisons faites entre ces deux anticorps ne montraient pas de différence significative

concernant les lésions neuronales et les lésions oligodendrogiales pour l'ensemble des régions étudiées. Cependant il existait une différence significative pour les touffes astrocytaires dans le cortex frontal et les trois régions étudiées de l'hippocampe. Les analyses de corrélation réalisées dans le cortex frontal et l'hippocampe montraient de plus une corrélation positive entre AT8 et Nter pour l'ensemble des lésions observées, excepté concernant les touffes astrocytaire dans CA 2/3.

Au regard de ces résultats, et premièrement concernant l'immunomarquage par Nter, nous pouvons suggérer une conservation d'expression de la portion amino-terminale de Tau dans notre série de PSP. Ces résultats nous permettent de suggérer que la faible densité lésionnelle observée pour 2C12 n'est pas liée à une troncation de la partie N-terminale de Tau : en effet l'anticorps AT8 utilisé en routine diagnostique cible une région centrale de Tau. Ainsi nous pouvons écarter l'hypothèse selon laquelle l'absence de marquage par l'anticorps 2C12 s'expliquerait par la présence d'une troncation située entre les sites de 2C12 et AT8. Cette absence de troncation dans la PSP est en accord avec les données de la littérature (39).

Ce constat est de plus concordant avec les résultats concernant 2C12 : l'isoforme AcMet11-Tau était exprimée à une très faible densité, dans de rares neurones et oligodendrocytes du cortex frontal. Cette troncation ne semblait aussi pas présente dans les lésions astrocytaires, ou de façon exceptionnelle, alors que l'extrémité N-terminale était présente dans tous les types de lésions.

Plusieurs hypothèses peuvent être alors discutées. Premièrement cette isoforme AcMet11-Tau pourrait ne pas être impliquée dans la physiopathologie de la PSP : les touffes astrocytaires, lésions histologiques caractéristiques de la PSP, étaient en effet exceptionnelles après immunomarquage par 2C12. De plus il est possible que ces lésions interprétées comme étant touffes astrocytaires ne soit qu'une erreur d'interprétation lors des quantifications manuelles.

Surtout, nous ne pouvons confirmer que le marquage observé en regard des rares cellules neuronales ou oligodendrogiales soit pathologique. Cette troncation pourrait intervenir de façon sporadique, physiologiquement, dans ces quelques cellules. Mais cette hypothèse ne pourra être approfondie par cette étude, dont le design aurait nécessité la comparaison à un groupe contrôle.

Enfin l'absence de différence significative constatée entre les groupes AT8 et 2C12 pour les quantifications des plaques neuritiques pourrait suggérer une spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions cérébrales de maladie d'Alzheimer. Nous avons aussi constaté, premièrement de manière subjective à partir des quantifications lésionnelles, une tendance à avoir une densité lésionnelle plus importante pour l'anticorps 2C12 lorsque des plaques neuritiques étaient présentes. Nous avons ainsi souhaité approfondir cette hypothèse en comparant nos données à partir de deux groupes de patient.

2. Spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions cérébrales de MA

La constitution de groupes nous a permis pour un même anticorps d'évaluer la densité lésionnelle globale de nos immunomarquages par aide informatique. Ainsi pour l'anticorps 2C12 la densité lésionnelle globale significativement différente entre les deux groupes uniquement dans le cortex frontal, en faveur d'une supériorité de la densité dans le groupe PSP+MA. Il semblait exister une tendance également dans l'hippocampe, notamment dans CA 2/3 et dans le cortex entorhinal.

L'hippocampe étant une région décrite comme tardivement atteinte dans la PSP, et précocement atteinte dans la MA, nous nous attendions à retrouver une différence significative sur la densité lésionnelle globale. L'évaluation de celle-ci pour l'anticorps AT8 a confirmé cette hypothèse avec une différence significative entre les groupes PSP et PSP+MA, en faveur d'une supériorité de la densité dans le groupe PSP+MA pour CA 2/3 et le cortex entorhinal. Il n'existait de plus pas de différence au sein du cortex frontal, contrairement à 2C12. Les résultats de l'anticorps Nter étaient comparables à ceux d'AT8 avec la présence d'une différence entre les groupes en faveur d'une supériorité de la densité du groupe PSP+MA dans le cortex entorhinal.

En ce qui pouvait constituer un autre argument en faveur de la spécificité de 2C12 pour les lésions de MA, nos analyses de corrélation en rapport avec la densité lésionnelle globale ont montré dans l'hippocampe pour le groupe PSP+MA une corrélation positive et significative entre les anticorps AT8 et 2C12 d'une part, et entre Nter et 2C12 d'autre part. A contrario, il n'existait pas de corrélation entre ces anticorps dans le groupe PSP.

Les tests de comparaisons réalisés après groupement des données de quantifications manuelles pour chaque type lésionnel n'ont cependant montré aucune différence entre les groupes PSP et PSP+MA, que ce soit pour l'anticorps 2C12 ou pour l'anticorps AT8. Il existait seulement pour AT8 une différence significative entre les deux groupes concernant les touffes astrocytaires dans la substance blanche de BA4 ; et pour Nter concernant les lésions neuronales dans CA 2/3.

Cette absence de significativité rencontrée sur une majorité de nos tests pourrait s'expliquer d'après la constitution des groupes qui s'est basée uniquement sur l'observation ou non de plaques neuritiques pour définir la présence d'une pathologie Alzheimer. En effet il existait une densité non négligeable de lésions neuronales immunomarquées dans les hippocampes ne présentant pas de plaques neuritiques. Il existait de plus une corrélation entre AT8/2C12, et Nter/2C12 pour les quantifications neuronales quels que soient les groupes. Ces lésions neuronales pourraient être attribuées à une pathologie Alzheimer débutante, avant que les dépôts A β ne soient présent dans l'hippocampe. Notre cohorte présentant un âge médian au décès de 77 ans, il est envisageable que ces patients présentent des lésions de type Alzheimer débutantes surajoutées aux lésions de PSP.

La présence d'une corrélation entre la charge lésionnelle globale 2C12 et Nter ou AT8 dans l'hippocampe dans le groupe PSP+MA mais pas dans le groupe PSP est en faveur de la spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions cérébrales de MA. Cela renforce également l'hypothèse selon laquelle la forme AcMet11-Tau soit un marqueur précoce de la maladie d'Alzheimer. Cela pourrait suggérer que les mécanismes physiopathologiques aboutissant à cette troncation ne soient pas liés à la pathologie Beta amyloïde.

3. Forces et limites de cette étude

Ce travail fait partie des rares études portant sur les modifications post-traductionnelles de la protéine Tau dans la PSP, en particulier dans sa portion aminotermine. En effet comme nous l'avons rappelé l'équipe de Martinez-Maldonado et al (39) a étudié principalement l'extrémité C-terminale de Tau et ses troncations découvertes dans la MA, en E391 et D421. Il s'agit également d'une des premières études de cette isoforme clivée AcMet11-Tau sur tissu cérébral humain en immunohistochimie.

L'originalité de ce travail réside aussi dans la méthode de quantification des immunomarquages. Nous avons choisi une approche quantitative, alors que l'approche semi-quantitative est usuellement réalisée pour ce genre d'étude comme dans les travaux récents de Kovacs (3). Notre méthode permet aussi de gagner en précision grâce à l'aide informatique, pour le compte manuel de toutes les lésions, mais aussi la détermination fiable d'une densité à partir du calcul de la surface analysée. Enfin l'étude de la densité lésionnelle globale, quasi automatisée par calcul informatique apporte une approche intéressante dans ce type d'étude.

Cependant, il faut souligner les limites des comparaisons des densités entre deux anticorps différents. En effet la sensibilité peut varier d'un anticorps à l'autre pour sa cible. Cela a pu se manifester lors de quantifications manuelles par des difficultés de visualisation par 2C12 et Nter de petits *tangles* neuronaux ou des fines ramifications des touffes astrocytaires qui étaient très bien mises en évidence par l'anticorps AT8.

Cela pourrait expliquer la différence significative présente entre les quantifications de AT8 et Nter concernant les touffes astrocytaires dans toutes les régions étudiées, bien qu'il ne

puisse être exclu qu'une partie de la protéine Tau agrégée dans les astrocytes soit clivée en N-terminal.

A contrario, les différences de densité lésionnelles très nettes existantes dans la majorité des régions entre l'anticorps AT8 et 2C12, est en faveur de l'absence de l'isoforme AcMet11-Tau dans la PSP, bien qu'il soit difficile d'exclure un manque de sensibilité de l'anticorps 2C12.

De plus, il a seulement été mis en évidence une différence de significativité entre les groupes PSP et PSP+MA sur l'analyse de la densité lésionnelle globale dans le cortex de BA4. Il faut souligner le déséquilibre des effectifs entre ces deux groupes. De surcroît les trois cas où il a été observé des plaques neuritiques présentaient une MA de stade de Braak IV à VI au diagnostic.

Dans l'hippocampe la constitution des groupes a aussi été basée sur l'observation ou non de plaques neuritiques. Cela a amené à l'obtention de deux groupes numériquement équilibrés (de 10 et 15 patients). Mais il a pu exister l'inclusion de patient à tort dans le groupe PSP+MA lorsque les plaques neuritiques étaient très rares. Certaines images superposées ou artéfactuelles auraient pu être considérées à tort comme étant des plaques neuritiques. Ce potentiel biais de sélection pourrait expliquer l'absence de significativité retrouvé dans nos analyses groupées.

Concernant les difficultés techniques rencontrées, l'évaluation de la densité lésionnelle globale par le logiciel n'a pas été possible pour plusieurs cas concernant l'anticorps 2C12. En effet, la configuration du programme pour l'anticorps AT8, dont le bruit de fond était presque inexistant, a été différente de l'anticorps 2C12 où le bruit de fond était

plus présent et l'intensité du marquage lésionnel plus hétérogène. De même que pour l'anticorps Nter 12.21, où l'intensité du bruit de fond était plus prononcée, mais avec une intensité de marquage lésionnel très forte. Pour l'anticorps 2C12 la nuance entre le marquage lésionnel et le bruit de fond était beaucoup trop subtile pour que le logiciel puisse détecter la lésion.

4. Perspectives

Ce travail a permis de générer une première base de données qui pourrait être complétée dans le futur. Il pourrait être étudié par la même approche d'avantages de régions cérébrales pour compléter cette étude, en particulier l'axe « pallido-nigro-luysien » décrit par Kovacs (3) comme étant impliqué très précocement dans la PSP. Il serait souhaitable d'intégrer un groupe contrôle à cette étude pour statuer sur la nature pathologique ou non des très rares lésions neuronales et oligodendrogiales observées dans le cortex frontal dans la PSP.

L'étude de la spécificité de 2C12 pour les lésions cérébrales de MA, qui constituait un objectif secondaire de notre étude, nécessiterait la constitution de groupes plus équilibrés et homogènes. Cela pourrait se matérialiser par exemple par la comparaison d'échantillons hippocampiques issus d'un groupe contrôle à d'autres échantillons présentant une pathologie Alzheimer à des stades de Braak croissants.

D'autres techniques comme l'ELISA ou le Western Blot pourraient aussi permettre d'apporter des arguments supplémentaires sur l'existence ou non de l'isoforme AcMet11-Tau dans la PSP. Enfin l'origine de la troncation aboutissant à cette isoforme AcMet11-Tau reste à déterminer

Conclusion

La PSP est une maladie neurodégénérative rare. Les données de la littérature sont peu nombreuses et souvent basées sur de petites séries. Cette maladie est aujourd'hui classée au sein des tauopathies primaires 4R, mais son chemin séquentiel de propagation reste encore à confirmer. Une nouvelle isoforme clivée de la protéine Tau a été découverte récemment par le laboratoire Alzheimer et Tauopathies dans la MA, l'isoforme AcMet11-Tau. Ce travail visait à étudier la présence de cette nouvelle isoforme dans la PSP via l'immunohistochimie grâce à l'anticorps 2C12, conçu par le laboratoire Alzheimer et Tauopathies. Les données de nos quantifications révèlent une différence significative de densités lésionnelles entre 2C12 et l'anticorps AT8 utilisé comme contrôle, avec des densités lésionnelles très faibles concernant 2C12. Ces résultats sont en faveur de l'absence de l'isoforme clivée AcMet11-Tau dans la PSP. Afin d'évaluer la spécificité de 2C12 avec les lésions cérébrales de MA, deux groupes de patients ont été constitués selon la présence ou non de plaques neuritiques. Il existait une différence significative pour la densité lésionnelle globale entre les deux groupes uniquement dans le cortex frontal. Aucune différence entre les groupes n'était observée dans l'hippocampe et pour les quantifications lésionnelles. Ces résultats ne permettent pas d'affirmer ou d'exclure la présence de cette isoforme dans la PSP, mais suggèrent un lien plus évident avec la MA. Enfin bien que l'isoforme clivée AcMet11-Tau ne semble pas caractéristique de la PSP, l'étude des modifications post-traductionnelles de Tau dans cette maladie constitue une voie intéressante dans l'espoir de découvrir de potentielles cibles thérapeutiques.

Références

1. Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1 mai 2017;133(5):665-704.
2. Rösler TW, Tayanian Marvian A, Brendel M, Nykänen N-P, Höllerhage M, Schwarz SC, et al. Four-repeat tauopathies. *Prog Neurobiol*. sept 2019;180:101644.
3. Kovacs GG, Lukic MJ, Irwin DJ, Arzberger T, Respondek G, Lee EB, et al. Distribution patterns of tau pathology in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol (Berl)*. août 2020;140(2):99-119.
4. Cleveland DW, Hwo S-Y, Kirschner MW. Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *J Mol Biol*. 25 oct 1977;116(2):227-47.
5. Cleveland DW, Hwo S-Y, Kirschner MW. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *J Mol Biol*. 25 oct 1977;116(2):207-25.
6. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci*. 1 mai 1975;72(5):1858-62.
7. Gu Y, Oyama F, Ihara Y. Tau is widely expressed in rat tissues. *J Neurochem*. sept 1996;67(3):1235-44.
8. Trojanowski JQ, Schuck T, Schmidt ML, Lee VM. Distribution of tau proteins in the normal human central and peripheral nervous system. *J Histochem Cytochem*. 1 févr 1989;37(2):209-15.
9. Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ. Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:1121-59.
10. Goedert M, Jakes R. Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *EMBO J*. déc 1990;9(13):4225-30.
11. Neve RL, Harris P, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon TA. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Mol Brain Res*. 1 déc 1986;1(3):271-80.
12. Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci*. janv 2016;17(1):5-21.
13. Andreadis A, Brown WM, Kosik KS. Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry*. 3 nov 1992;31(43):10626-33.
14. Brandt R, Hundelt M, Shahani N. Tau alteration and neuronal degeneration in tauopathies: mechanisms and models. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. 3 janv 2005;1739(2):331-54.
15. Mandelkow E-M, Biernat J, Drewes G, Gustke N, Trinczek B, Mandelkow E. Tau domains, phosphorylation, and interactions with microtubules. *Neurobiol Aging*. 1 mai 1995;16(3):355-62.
16. Chen J, Kanai Y, Cowan NJ, Hirokawa N. Projection domains of MAP2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons. *Nature*. 17 déc 1992;360(6405):674-7.
17. Kanaan NM, Morfini GA, LaPointe NE, Pigino GF, Patterson KR, Song Y, et al. Pathogenic forms of tau inhibit kinesin-dependent axonal transport through a mechanism involving activation of axonal phosphotransferases. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 6 juill 2011;31(27):9858-68.

18. Liu C, Götz J. Profiling Murine Tau with ON, 1N and 2N Isoform-Specific Antibodies in Brain and Peripheral Organs Reveals Distinct Subcellular Localization, with the 1N Isoform Being Enriched in the Nucleus. *PLOS ONE*. 30 déc 2013;8(12):e84849.
19. Paholikova K, Salingova B, Opattova A, Skrabana R, Majerova P, Zilka N, et al. N-terminal truncation of microtubule associated protein tau dysregulates its cellular localization. *J Alzheimers Dis JAD*. 2015;43(3):915-26.
20. Gauthier-Kemper A, Weissmann C, Golovyashkina N, Sebö-Lemke Z, Drewes G, Gerke V, et al. The frontotemporal dementia mutation R406W blocks tau's interaction with the membrane in an annexin A2-dependent manner. *J Cell Biol*. 21 févr 2011;192(4):647-61.
21. Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Bi M, Gladbach A, van Eersel J, et al. Dendritic Function of Tau Mediates Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Mouse Models. *Cell*. 6 août 2010;142(3):387-97.
22. Lau DHW, Hogseth M, Phillips EC, O'Neill MJ, Pooler AM, Noble W, et al. Critical residues involved in tau binding to fyn: implications for tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 18 mai 2016;4:49.
23. Mondragón-Rodríguez S, Basurto-Islas G, Santa-Maria I, Mena R, Binder LI, Avila J, et al. Cleavage and conformational changes of tau protein follow phosphorylation during Alzheimer's disease. *Int J Exp Pathol*. 2008;89(2):81-90.
24. Bukar Maina M, Al-Hilaly YK, Serpell LC. Nuclear Tau and Its Potential Role in Alzheimer's Disease. *Biomolecules*. mars 2016;6(1):9.
25. Janning D, Igaev M, Sündermann F, Brühmann J, Beutel O, Heinisch JJ, et al. Single-molecule tracking of tau reveals fast kiss-and-hop interaction with microtubules in living neurons. *Mol Biol Cell*. 5 nov 2014;25(22):3541-51.
26. Correas I, Padilla R, Avila J. The tubulin-binding sequence of brain microtubule-associated proteins, tau and MAP-2, is also involved in actin binding. *Biochem J*. 1 juill 1990;269(1):61-4.
27. Huang DY, Weisgraber KH, Goedert M, Saunders AM, Roses AD, Strittmatter WJ. ApoE3 binding to tau tandem repeat I is abolished by tau serine262 phosphorylation. *Neurosci Lett*. 16 juin 1995;192(3):209-12.
28. Takashima A, Murayama M, Murayama O, Kohno T, Honda T, Yasutake K, et al. Presenilin 1 associates with glycogen synthase kinase-3 β and its substrate tau. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 4 août 1998;95(16):9637-41.
29. Ding H, Dolan PJ, Johnson GVW. Histone deacetylase 6 interacts with the microtubule-associated protein tau. *J Neurochem*. 2008;106(5):2119-30.
30. Jensen PH, Hager H, Nielsen MS, Højrup P, Gliemann J, Jakes R. α -Synuclein Binds to Tau and Stimulates the Protein Kinase A-catalyzed Tau Phosphorylation of Serine Residues 262 and 356*. *J Biol Chem*. 3 sept 1999;274(36):25481-9.
31. Abraha A, Ghoshal N, Gamblin TC, Cryns V, Berry RW, Kuret J, et al. C-terminal inhibition of tau assembly in vitro and in Alzheimer's disease. *J Cell Sci*. 1 nov 2000;113(21):3737-45.
32. Berry RW, Abraha A, Lagalwar S, LaPointe N, Gamblin TC, Cryns VL, et al. Inhibition of tau polymerization by its carboxy-terminal caspase cleavage fragment. *Biochemistry*. 15 juill 2003;42(27):8325-31.

33. Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, Price C, Kellie S, Perera T, et al. Phosphorylation Regulates Tau Interactions with Src Homology 3 Domains of Phosphatidylinositol 3-Kinase, Phospholipase C γ 1, Grb2, and Src Family Kinases*. *J Biol Chem.* 27 juin 2008;283(26):18177-86.
34. Prevalence of progressive supranuclear palsy in Yonago, Japan - Kawashima - 2004 - Movement Disorders - Wiley Online Library [Internet]. [cité 14 août 2021]. Disponible sur: <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mds.20149>
35. Takigawa H, Kitayama M, Wada-Isoe K, Kowa H, Nakashima K. Prevalence of progressive supranuclear palsy in Yonago: change throughout a decade. *Brain Behav.* 11 oct 2016;6(12):e00557.
36. Caparros-Lefebvre D, Golbe LI, Deramecourt V, Maurage C-A, Huin V, Buée-Scherrer V, et al. A geographical cluster of progressive supranuclear palsy in northern France. *Neurology.* 13 oct 2015;85(15):1293-300.
37. STEELE JC, RICHARDSON JC, OLSZEWSKI J. Progressive Supranuclear Palsy: A Heterogeneous Degeneration Involving the Brain Stem, Basal Ganglia and Cerebellum With Vertical Gaze and Pseudobulbar Palsy, Nuchal Dystonia and Dementia. *Arch Neurol.* 1 avr 1964;10(4):333-59.
38. Hoglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, et al. Clinical Diagnosis of Progressive Supranuclear Palsy: The Movement Disorder Society Criteria. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* juin 2017;32(6):853-64.
39. Martínez-Maldonado A, Ontiveros-Torres MÁ, Harrington CR, Montiel-Sosa JF, Prandiz RG-T, Bocanegra-López P, et al. Molecular Processing of Tau Protein in Progressive Supranuclear Palsy: Neuronal and Glial Degeneration. *J Alzheimers Dis JAD.* 2021;79(4):1517-31.
40. Dickson DW. Neuropathologic differentiation of progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Neurol.* sept 1999;246 Suppl 2:II6-15.
41. Love S, Louis D, Ellison DW. *Greenfield's Neuropathology, 2-Volume Set, Eighth Edition.* CRC Press; 2008. 2285 p.
42. Yoshida M. Astrocytic inclusions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Neuropathology.* 2014;34(6):555-70.
43. Josephs KA, Mandrekar JN, Dickson DW. The relationship between histopathological features of progressive supranuclear palsy and disease duration. *Parkinsonism Relat Disord.* mars 2006;12(2):109-12.
44. Schultz C, Ghebremedhin E, Del Tredici K, Rüb U, Braak H. High prevalence of thorn-shaped astrocytes in the aged human medial temporal lobe. *Neurobiol Aging.* mars 2004;25(3):397-405.
45. Dickson DW, Rademakers R, Hutton ML. Progressive supranuclear palsy: pathology and genetics. *Brain Pathol Zurich Switz.* janv 2007;17(1):74-82.
46. Williams DR, Holton JL, Strand C, Pittman A, de Silva R, Lees AJ, et al. Pathological tau burden and distribution distinguishes progressive supranuclear palsy-parkinsonism from Richardson's syndrome. *Brain J Neurol.* juin 2007;130(Pt 6):1566-76.
47. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med.* juin 2016;8(6):595-608.

48. Pollanen MS, Markiewicz P, Bergeron C, Goh MC. Twisted ribbon structure of paired helical filaments revealed by atomic force microscopy. *Am J Pathol.* mai 1994;144(5):869-73.
49. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl).* 1 sept 1991;82(4):239-59.
50. Colin M, Dujardin S, Schraen-Maschke S, Meno-Tetang G, Duyckaerts C, Courade J-P, et al. From the prion-like propagation hypothesis to therapeutic strategies of anti-tau immunotherapy. *Acta Neuropathol (Berl).* janv 2020;139(1):3-25.
51. Mietelska-Porowska A, Wasik U, Goras M, Filipek A, Niewiadomska G. Tau Protein Modifications and Interactions: Their Role in Function and Dysfunction. *Int J Mol Sci.* mars 2014;15(3):4671-713.
52. Bancher C, Brunner C, Lassmann H, Budka H, Jellinger K, Wiche G, et al. Accumulation of abnormally phosphorylated tau precedes the formation of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 16 janv 1989;477(1-2):90-9.
53. Mandelkow E-M, Mandelkow E. Biochemistry and Cell Biology of Tau Protein in Neurofibrillary Degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 7 janv 2012;2(7):a006247.
54. Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L. The Many Faces of Tau. *Neuron.* 12 mai 2011;70(3):410-26.
55. Alonso AC, Zaidi T, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 7 juin 1994;91(12):5562-6.
56. Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong C-X. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci.* oct 2005;22(8):1942-50.
57. Liu F, Zaidi T, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Gong C-X. Aberrant glycosylation modulates phosphorylation of tau by protein kinase A and dephosphorylation of tau by protein phosphatase 2A and 5. *Neuroscience.* 9 déc 2002;115(3):829-37.
58. Wesseling H, Mair W, Kumar M, Schlaffner CN, Tang S, Beerepoot P, et al. Tau PTM Profiles Identify Patient Heterogeneity and Stages of Alzheimer's Disease. *Cell.* 10 déc 2020;183(6):1699-1713.e13.
59. Wischik CM, Novak M, Thøgersen HC, Edwards PC, Runswick MJ, Jakes R, et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* juin 1988;85(12):4506-10.
60. Derisbourg M, Leghay C, Chiappetta G, Fernandez-Gomez F-J, Laurent C, Demeyer D, et al. Role of the Tau N-terminal region in microtubule stabilization revealed by new endogenous truncated forms. *Sci Rep.* 14 mai 2015;5:9659.
61. Fasulo L, Ugolini G, Visintin M, Bradbury A, Brancolini C, Verzillo V, et al. The neuronal microtubule-associated protein tau is a substrate for caspase-3 and an effector of apoptosis. *J Neurochem.* août 2000;75(2):624-33.
62. Luna-Viramontes NI, Campa-Córdoba BB, Ontiveros-Torres MÁ, Harrington CR, Villanueva-Fierro I, Guadarrama-Ortíz P, et al. PHF-Core Tau as the Potential Initiating Event for Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:247.
63. Sigurdsson EM. Tau Immunotherapy. *Neurodegener Dis.* 2016;16(1-2):34-8.

64. Hayashi S, Toyoshima Y, Hasegawa M, Umeda Y, Wakabayashi K, Tokiguchi S, et al. Late-onset frontotemporal dementia with a novel exon 1 (Arg5His) tau gene mutation. *Ann Neurol.* avr 2002;51(4):525-30.
65. Magnani E, Fan J, Gasparini L, Golding M, Williams M, Schiavo G, et al. Interaction of tau protein with the dynactin complex. *EMBO J.* 31 oct 2007;26(21):4546-54.
66. Poorkaj P, Muma NA, Zhukareva V, Cochran EJ, Shannon KM, Hurtig H, et al. An R5L tau mutation in a subject with a progressive supranuclear palsy phenotype. *Ann Neurol.* oct 2002;52(4):511-6.
67. Jeganathan S, von Bergen M, Brutlach H, Steinhoff H-J, Mandelkow E. Global hairpin folding of tau in solution. *Biochemistry.* 21 févr 2006;45(7):2283-93.
68. Jeganathan S, Hascher A, Chinnathambi S, Biernat J, Mandelkow E-M, Mandelkow E. Proline-directed pseudo-phosphorylation at AT8 and PHF1 epitopes induces a compaction of the paperclip folding of Tau and generates a pathological (MC-1) conformation. *J Biol Chem.* 14 nov 2008;283(46):32066-76.
69. Schindowski K, Bretteville A, Leroy K, Bégard S, Brion J-P, Hamdane M, et al. Alzheimer's disease-like tau neuropathology leads to memory deficits and loss of functional synapses in a novel mutated tau transgenic mouse without any motor deficits. *Am J Pathol.* août 2006;169(2):599-616.
70. Van der Jeugd A, Blum D, Raison S, Eddarkaoui S, Buée L, D'Hooge R. Observations in THY-Tau22 mice that resemble behavioral and psychological signs and symptoms of dementia. *Behav Brain Res.* 1 avr 2013;242:34-9.
71. Caillierez R, Bégard S, Lécolle K, Deramecourt V, Zommer N, Dujardin S, et al. Lentiviral delivery of the human wild-type tau protein mediates a slow and progressive neurodegenerative tau pathology in the rat brain. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* juill 2013;21(7):1358-68.

AUTEUR : Nom : LEPAGE

Prénom : Alexandre

Date de soutenance : Lundi 25 Octobre 2021

Titre de la thèse : Etude immunohistochimique post-mortem de l'expression de la portion amino-terminale clivée de la protéine Tau dans le cerveau de vingt-cinq patients atteints de paralysie supranucléaire progressive

Thèse - Médecine – Lille 2021

Cadre de classement : Anatomie et Cytologie Pathologiques

DES + spécialité : Anatomie et Cytologie Pathologiques

Mots-clés : paralysie supranucléaire progressive ; tauopathie ; neuropathologie

Résumé :

Contexte

La paralysie supranucléaire progressive (PSP) est une maladie neurodégénérative rare, affectant principalement la motricité, et considérée comme une tauopathie primaire. L'un des axes de recherche des tauopathies porte sur les modifications post-traductionnelles de la protéine Tau. Le laboratoire « Alzheimer et Tauopathies » a découvert l'isoforme AcMet11-Tau et développé un anticorps ciblant cette troncation : l'anticorps 2C12. Cette isoforme a principalement été étudiée sur la maladie d'Alzheimer (MA). L'objectif de ce travail était d'étudier la présence de cette isoforme dans les dépôts de protéine Tau des patients atteints de PSP. L'objectif secondaire était d'évaluer la spécificité de 2C12 pour les lésions cérébrales de MA.

Méthode

Deux régions cérébrales ont été étudiées : le cortex moteur primaire et l'hippocampe. Trois anticorps ont été utilisés : 2C12 et les anticorps AT8 et Nter 12.21. L'analyse des tissus a été réalisée grâce au logiciel QuPath ©, en se basant sur la densité lésionnelle globale de l'immunomarquage calculée par le logiciel et les quantifications manuelles des populations lésionnelles. Deux groupes de patients ont ensuite été constitués, selon la présence (PSP+MA) ou non (PSP) de plaques neuritiques.

Résultats

La cohorte comptait 25 patients. 15 patients (60%) comportaient des lésions de MA dans l'hippocampe, 3 patients (12%) en comportaient dans le cortex cérébral. Les quantifications des différentes lésions ont montré une différence significative de densités lésionnelles entre 2C12 et l'anticorps AT8, avec des densités lésionnelles très faibles pour 2C12. Ces résultats étaient en faveur de l'absence de l'isoforme clivée AcMet11-Tau dans la PSP. Néanmoins, la présence de rares lésions marquées par 2C12 chez ces patients atteints de PSP ne permettait pas d'assurer la spécificité de cet anticorps pour les lésions de type Alzheimer. L'analyse en sous-groupe a montré une différence significative pour la densité lésionnelle globale entre les deux groupes uniquement dans le cortex frontal. Aucune différence entre les groupes n'était observée dans l'hippocampe et pour les quantifications lésionnelles. Il existait cependant dans l'hippocampe une corrélation positive entre AT8 et 2C12 dans le groupe PSP+MA mais pas dans le groupe PSP. Ces données sont en faveur de la spécificité de l'anticorps 2C12 pour les lésions cérébrales de MA.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Claude-Alain MAURAGE

**Assesseurs : Monsieur le Professeur Vincent DERAMECOURT
Madame le Docteur Malika HAMDANE**

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Romain PERBET