

COMMUNICATION

Les inclusions intracellulaires sont-elles toujours des témoins d'un trouble de la protéolyse intracellulaire ?

MOTS-CLÉS : ANATOMOPATHOLOGIE. CORPS D'INCLUSION. PROTÉOLYSE. DÉGÉNÉRESCENCE NEUROFIBRILLAIRE. CORPS DE LEWY. LIPOFUSCINE

New insights into intracellular inclusions and intracellular proteolysis

KEY-WORDS (Index medicus) : PATHOLOGY. INCLUSION BODIES. PROTEOLYSIS. NEUROFIBRILLARY DEGENERATION. LEWY BODIES. LIPOFUSCIN

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

Jean-Jacques HAUW *, Isabelle PLU **,***, Danielle SEILHEAN **,****, Charles DUYCKAERTS **

RÉSUMÉ

La signification des inclusions intracellulaires est très variable : marqueurs de certaines des maladies de la protéolyse, qu'elles contribuent à identifier, elles peuvent relever de multiples autres mécanismes, souvent intriqués. À titre d'exemples, les données actuelles sur la morphologie et la signification des lipofuscines du vieillissement cellulaire, des dégénérescences neurofibrillaires et des corps de Lewy et sur celles des granules de Birbeck de l'histiocytose langherhansienne sont analysées. Certaines de ces inclusions peuvent résulter de la mise en jeu à la fois des systèmes d'endocytose, de production, de malconformation et d'agrégation protéique et de ceux de protéolyse intracellulaire. D'autres constituants cellulaires sont souvent aussi impliqués. Enfin les systèmes de protéolyse ne paraissent pas essentiellement en cause dans le cas des granules de Birbeck, considérées comme des domaines sous-membranaires du recyclage endosomal. Ils jouèrent un rôle décisif dans l'identification de l'origine langerhansienne de l'histiocytose X.

* Membre de l'Académie nationale de médecine ; e-mail : j.hauw@academie-medecine.fr

** Laboratoire de neuropathologie Raymond Escourolle, GH Pitié-Salpêtrière APHP, Centre de Recherche de l'Institut du cerveau et de la moelle épinière (CR ICM, UPMC UMR S975, Inserm U 975, CNRS UMR 7225) et UPMC — Sorbonne Universités, Paris.

*** Institut Médico-légal, Paris

**** Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice

Tirés à part : Professeur Jean-Jacques HAUW, même adresse

Article reçu le 28 octobre 2012, accepté le 12 novembre 2012

SUMMARY

Intracellular inclusions seen by the pathologist may have variable significance. Although they are excellent markers of proteolytic disorders, they can also be due to several other mechanisms. This article examines recent data on the morphology, significance and consequences of aging lipofuscins in the brain and retina, neurofibrillary tangles and Lewy bodies, and Birbeck granules associated with Langerhans histiocytosis. Some of these disorders involve increased protein production, misfolding and aggregation, and altered intracellular proteolysis, but other cell constituents may also play a role. Proteolytic mechanisms do not appear to be involved in the formation of Birbeck granules, which helped to reveal the Langerhans origin of histiocytosis X. Analyses of intracellular inclusions, together with genetic and epigenetic studies, are highly informative in various degenerative diseases.

INTRODUCTION

Les inclusions cellulaires (corps d'inclusion, corps inclus) sont des formations bien limitées du cytoplasme ou du noyau d'une cellule, reconnues par l'anatomo-pathologiste grâce à de multiples techniques. Simples produits du métabolisme s'accumulant dans les cellules au cours de leur vie, matériel issu d'un dysmétabolisme induit par une anomalie génétique connue, ils relèvent souvent de perturbations diverses de la protéolyse. Celle-ci est fréquemment associée à des anomalies métaboliques plus complexes encore mal élucidées. Leur nature est très variée, souvent majoritairement protéique et lipidique, voire infectieuse, notamment virale.

Nous en fournirons quatre exemples : la lipofuscine des cellules vieillissantes, les dégénérescences neurofibrillaires qui caractérisent notamment la maladie d'Alzheimer et les corps de Lewy celle de Parkinson ; enfin, nous aborderons les inclusions de l'histiocytose langerhansienne.

LES LIPOFUSCINES (CORPS RÉSIDUELS) DU VIEILLISSEMENT

Les lipofuscines sont des inclusions pigmentaires (spontanément visibles sans coloration), granules jaune-brunâtres de la région périnucléaire de multiples cellules à longue durée de vie (surtout hépatiques, musculaires, cartilagineuses, rétiniennes et neuronales). Elles sont, de plus, autofluorescentes (pics d'excitation entre 360 et 650 nm). Leur fonction reste largement inconnue. Leur nature lysosomiale a été démontrée par l'examen ultrastructural et histochimique [1]. La lipofuscine s'accumule dans des autolysosomes (« lysosomes secondaires », « télolysosomes ») au cours du vieillissement cellulaire. L'examen de coupes sériées en microscopie optique et électronique montre que la transition morphologique des lysosomes primaires vers la lipofuscine paraît se faire par le passage de corps d'inclusion denses limités par une double membrane, finement granulaires, de taille variable, comportant souvent une vacuole périphérique moins dense aux électrons, dont le diamètre atteint 1 μm

(lysosomes primaires) à des corps pigmentés de 2 à 3 μm contenant des stries rectilignes ou curvilignes serrées les unes contre les autres, des aspects paracrystallins et des particules denses aux électrons (la lipofuscine proprement dite) [2].

La lipofuscine est composée essentiellement de lipides et de résidus protéiques secondaires aux processus oxydants catalysés par le fer. Indégradables, impossibles à éliminer par exocytose, ils ne peuvent être dilués lors des divisions dans certains types cellulaires à renouvellement lent, ou post-mitotiques. La lipofuscine paraît provenir de la résistance de protéines aux deux systèmes de protéolyse (lysosomal et voie ubiquitine-protéasome), dont certains mécanismes sont en rapport avec des radicaux libres [3]. En culture « *in vitro* », le stress oxydant augmente l'accumulation de lipofuscines, les antioxydants ou les chélateurs du fer la réduisent. Le fer des lipofuscines sensibilise les lysosomes au stress oxydant, compromet leur stabilité et induit une apoptose cellulaire par libération de leur contenu. L'accumulation de lysosomes peut aussi réduire la capacité autophagique en accumulant les enzymes lysosomiales produites et en interférant avec le recyclage des composants cellulaires. Les lipofuscines peuvent donc être bien plus liées à la dégénérescence cellulaire due à l'âge qu'il n'était admis jusqu'ici [4]. Le processus d'autophagie a en effet un rôle discuté. Il a été suggéré qu'il puisse retarder le vieillissement, puisque sa réduction entraînée par la déplétion d'ATG7, d'ATG12 ou d'une protéine associée à la membrane lysosomiale (Lamp2) induit un état semblable à la sénescence dans des cultures de fibroblastes humains « *in vitro* » [5].

L'aspect morphologique et la composition de la lipofuscine diffèrent selon le tissu considéré.

Par exemple, les *lipofuscines* du vieillissement dit « normal » du système nerveux central s'accumulent préférentiellement dans certains neurones (cellules de Purkinje, etc.). Elles comportent trente-deux protéines différentes communes à l'homme et au rat [6], mais aussi d'autres composants biochimiques, variant selon les types neuro-naux : par exemple, le collagène neuronal de type XVII est spécifiquement localisé aux lipofuscines de certains neurones du tronc cérébral [7]. Leur responsabilité dans la dégénérescence neuronale reste débattue. On a récemment insisté sur le rôle de la progranuline, dont la perte de fonction chez la souris « knock out » entraîne l'accumulation diffuse de pigments de lipofuscine morphologiquement identique à celle du vieillissement, accompagnée d'activation microgliale, de gliose astrocytaire et de perte neuronale, sans autre lésion caractéristique d'une affection neurodégénérative précise. La progranuline, ralentissant la formation de lipofuscines cérébrales, pourrait jouer un rôle dans le « vieillissement cérébral réussi » [8].

Les *lipofuscines de l'épithélium pigmentaire de la rétine*, ont été impliquées dans la formation de druses ou « Drusen » [9]. Situé entre la membrane de Bruch et le segment externe des cellules visuelles contenant les pigments visuels, cet épithélium les phagocyte. Fluorochrome, la lipofuscine pourrait sensibiliser les lysosomes à la lumière. Les lipofuscines de l'épithélium pigmentaire sont, de plus, des générateurs potentiels d'espèces réactives en oxygène [10]. L'analyse protéomique, après traite-

ment par protéinase K ou SDS, des lipofuscines de cet épithélium, montre cent quatre-vingt-six protéines différentes. En revanche, les granules denses purifiés, dépourvus de membranes ou de matériel extra-granulaire, toujours phototoxiques pour l'épithélium pigmentaire en culture *in vitro*, sont composés essentiellement de bisrétinoïdes A2E et isoA2E et comportent l'ensemble de la *trans*-retinal dimer-phosphatidylethanolamine de la préparation [11].

Les druses sont des dépôts de matériel amorphe situés dans la couche cuticulaire de la membrane de Bruch (qui sépare l'épithélium pigmentaire de la choroïde). Communs au cours du vieillissement normal, d'abord linéaires puis focales de taille croissante, ils ont des compositions variées, correspondant à des aspects cliniques différents. Les plus volumineux sont visibles au fond d'œil, s'accompagnent de phénomènes inflammatoires, de néovascularisation et sont associées à la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Leur description clinico-pathologique par Sarks, en 1976, fait autorité [12]. Ils sont essentiellement composés de lipides (cholestérol estérifié, phosphatidylcholine) et de protéines très variées : ubiquitine [13], apoE, clusterine, vitronectine, composants du complément 9 et, notamment, 8, élément du complexe d'attaque membranaire. Ils comportent aussi, surtout dans leurs formes les plus volumineuses, un très grand nombre d'autres éléments issus de la dégénérescence de l'ensemble des cellules de la couche visuelle, singulièrement des composés bisrétinoïdes photosensibles issus des photorécepteurs [11, 14, 15]. Les multiples variétés de druses [16] et le mécanisme de leur formation font l'objet de discussions : Gouras et ses collaborateurs ont ainsi examiné en microscopie électronique l'épithélium pigmentaire et la membrane de Bruch de singes rhésus jeunes et âgés en comparant la macula (zone de la rétine caractérisée par une concentration maximale de cônes), l'équateur et l'ora serrata (jonction périphérique entre la rétine et le corps ciliaire, où l'épithélium visuel est remplacé par un épithélium simple). Les druses, vus chez les singes âgés, étaient situés entre la lame basale et la couche collagène interne de la membrane de Bruch. Il existait des druses et des lésions dégénératives liées à l'âge dans la région de l'ora serrata, où l'épithélium pigmentaire était dépourvu de lipofuscine et où manquent les photorécepteurs. La toxicité de la lipofuscine pourrait donc ne pas être seule à l'origine de la dégénérescence sénile de la couche visuelle ; d'autres facteurs de dégénérescence de l'épithélium pigmentaire seraient aussi en cause [17].

LES CORPS D'INCLUSION DES MALADIES NEURO-DÉGÉNÉRATIVES

Le démantèlement du cadre des maladies neuro-dégénératives est en cours. Le rôle de l'identification, par des techniques variées, de multiples corps d'inclusion y a joué — et y joue toujours — un rôle majeur, conjointement à celui de la protéomique et de la génétique. Nous en détaillerons deux, parmi les mieux connus.

Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF)

Ces inclusions argyrophiles décrites par Alois Alzheimer grâce à l'utilisation de l'imprégnation argentique de Bielschowsky [18] sont des agrégats d'une protéine associée aux microtubules τ (ou tau, pour *tubule associated unit* [19], qui est ici hyper- et dys-phosphorylée. Ces agrégats sont organisés en fibrilles faites de paires de filaments — ou plutôt de rubans torsadés — appariés en hélices en configuration β plissée (PHF), dans de nombreuses affections neurodégénératives, dont la plus fréquente est la maladie d'Alzheimer. La formation de ces fibrilles β plissées dans la protéine tau serait liée à l'insertion de motifs inducteurs de fibrilles amyloïdes de quelque origine qu'elles soient (peptide amyloïde $A\beta$, α -synucléine mais aussi IFQINS du lysosome par exemple) favorisée par l'hyperphosphorylation de tau. Ils remplaceraient les fibrilles PHF6 et PHF6* humaines physiologiques en leur conférant des propriétés amyloïdogènes. Ce processus est commun à la fibrillogénèse qui induit des substances amyloïdes dans de multiples affections, notamment les maladies à prions [20]. Les affections comportant de multiples DNF sont regroupées sous le terme générique de taupathies (ou « tauopathies ») qui diffèrent selon le contenu et la phosphorylation des isoformes de tau, les lésions qui peuvent leur être associées, comme le dépôt de peptide $A\beta$ dans la maladie d'Alzheimer et la topographie préférentielle des lésions [21]. En immunohistochimie anti-ubiquitine et anti-tau, celles-ci évoluent en quatre stades classiques : accumulations intracytoplasmiques neuronales diffuses ou finement granulaires (pré-DNF), puis DNF précoces, fines inclusions allongées, suivies par les DNF classiques, plus volumineuses et enfin par les DNF « fantômes », survivant à la mort neuronale [22]. Elles sont associées à une taupathie plus diffuse que révèle l'immunohistochimie, affectant les prolongements nerveux, dendritiques comme axonaux et les synapses des neurones affectés. Dans la maladie d'Alzheimer, la sévérité des troubles cognitifs est liée à la densité des DNF du cortex cérébral [23]. Celles-ci sont pourtant observées dès le plus jeune âge chez les enfants ou les jeunes adultes dans certains noyaux à projection corticale du tronc cérébral puis le cortex entorhinal, l'hippocampe, le cortex associatif pluri-, puis uni-modal, selon un schéma stéréotypé [24]. La mort neuronale n'est observée que des dizaines d'années plus tard [25], ce qui a fait s'interroger sur les interactions entre la DNF et les autres facteurs pathologiques associés (peptide $A\beta$ dans la maladie d'Alzheimer), évoquer un rôle protecteur de la DNF et suggérer des possibilités d'intervention thérapeutiques préventives [19].

L'injection de tissu provenant de certaines taupathies fibrillaires humaines ou de taupathies expérimentales transgéniques à des souris tau transgéniques induit la transmission de l'homme à l'animal, d'un animal tau transgénique à l'autre et d'un neurone à l'autre, comme ce qui se passe dans les maladies à prions. Cela peut être expliqué par la transconformation en configuration β plissée par le simple contact de la protéine tau anormale avec une protéine tau normale, sans doute par un mécanisme impliquant les endosomes multivésiculaires et les exosomes [26]. Bien entendu, les taupathies ne sont pas pour autant infectieuses puisque la transmission ne s'effectue que chez des animaux transgéniques qui auraient développé la maladie

de toute façon. Il s'agit plus précisément d'un mécanisme d'ensemencement (« seeding ») ou d'accélération du processus pathologique, mais cela expliquerait le développement des lésions selon des voies neuroanatomiques [27, 28].

Les corps de Lewy

Deux types de ces inclusions intracytoplasmiques neuronales ont été décrits : le corps de Lewy classique du tronc cérébral ou de la substance innominée, ainsi dénommé par Tretiakoff [29], volumineuse (30-40 μm) inclusion sphérique éosino-phile à centre hyalin et couronne périphérique pâle et le corps de Lewy cortical, plus petit (10-20 μm), mal défini et homogène, refoulant le noyau de petits neurones. En microscopie électronique, les corps de Lewy sont composés d'un centre dense osmiophile et de fibrilles périphériques radiaires de 8 à 10 nm [30]. Ils peuvent être les marqueurs d'un groupe d'affections neurodégénératives (les maladies à corps de Lewy, dont les mieux caractérisées sont la maladie de Parkinson et la démence à corps de Lewy) ou bien être vus occasionnellement lors de multiples autres affections neurodégénératives, telles la maladie d'Alzheimer, les démences fronto-temporales ou dysmétaboliques, comme le déficit en pantothénate kinase [31].

De multiples protéines ont été trouvées dans les corps de Lewy, notamment l'ubiquitine, l'alpha B cristalline et les trois sous-types de neurofilaments. La protéine qui les caractérise est cependant l' α -synucléine, dont le gène est muté dans certaines des rares formes familiales de la maladie. Elle est présente dans les corps de Lewy et les prolongements des neurones affectés, même s'ils ne comportent apparemment pas de corps de Lewy [32]. Il semble que l'atteinte des deux systèmes de protéolyse, ubiquitine-protéasome et autophagie, soit en cause [33]. La protéine, intrinsèquement désorganisée lorsqu'elle est en solution, adopte une des structures β -croisées, en partie plissée, dans de multiples conditions qui induisent son agrégation en oligomères, son insolubilité et une organisation en fibrilles, qui seraient pour certains les composants toxiques des corps de Lewy [34]. Des molécules chaperones, liées aux systèmes ubiquitine-protéasome et lysosomal, jouent un rôle majeur dans ces mécanismes [35]. Les agrégats composant les fibrilles sont donc faits de filaments, ou plutôt de rubans torsadés appariés en hélices souvent en configuration β plissée comme dans d'autres affections neurodégénératives, telle la maladie d'Alzheimer, nous l'avons vu [20]. L'effet protecteur ou nocif des corps de Lewy sur la survie neuronale est débattu. Dans la maladie de Parkinson, la proportion constante de neurones de la substantia nigra comportant des corps de Lewy tout au long de l'évolution suggère que ceux-ci conduisent à la destruction neuronale [36]. On pensait que seules les formes au moins tétra-ubiquitinées des protéines étaient adressées au protéasome [33]. Il a été récemment rapporté que l' α -synucléine pouvait être dé-ubiquitinée par une enzyme, l'USP9X, dont la concentration est diminuée dans les cellules de la substantia nigra de la maladie de Parkinson. Seules les formes mono-ubiquitinées seraient encore métabolisées par cette voie. Les autres seraient éliminées par le système lysosomal, moins efficace, ce qui provoquerait leur agrégation et la formation des inclusions [37].

La répartition des corps de Lewy et, plus généralement, de la synucléinopathie du système nerveux a été longtemps sous-estimée. Elle permet d'expliquer les syndromes non moteurs de la maladie de Parkinson, par exemple les troubles du sommeil [38], la constipation, l'hypotension orthostatique, etc. Loin de se cantonner à la substance innominée et au tronc cérébral, puis au cortex cérébral, on sait aujourd'hui que la synucléinopathie a souvent une diffusion progressive, parfois hiérarchique, touchant précocément le bulbe olfactif et le bulbe rachidien et tardivement le néocortex [39], ce qui explique certains des symptômes cliniques. Dans certains cas, la synucléinopathie prédomine dans le tronc cérébral, ailleurs dans le cortex, ailleurs encore, elle est « intermédiaire ». De plus, l'étude anatomopathologique de séries de patients atteints de maladie de Parkinson, de démence à corps de Lewy cliniques ou « incidente », de maladie d'Alzheimer et de personnes âgées apparemment normales a révélé de nombreux neurones contenant de l' α -synucléine et parfois des corps de Lewy hors de l'encéphale, dans la moëlle épinière, les ganglions sympathiques paravertébraux, les nerfs X et sciatique, l'innervation des glandes sous-maxillaires ou surrénale, le système nerveux entérique [40] et cardio-respiratoire [41]. Des corps de Lewy ont été vus dans la couche plexiforme externe de la rétine d'un patient atteint de démence à corps de Lewy [42]. Il existe, de plus, des inclusions rétinienne d' α -synucléine ubiquitinée au cours du vieillissement [13]. La propagation de la synucléinopathie, par un mécanisme de type prion analogue à celui de la taupathie de la maladie d'Alzheimer a été décrite [43].

L'HISTIOCYTOSE X, LE GRANULE DE BIRBEK ET L'HISTIOCYTOSE LANGERHANSIENNE

Maladie rare, de pronostic variable, survenant surtout chez l'enfant, l'histiocytose langerhansienne se caractérise par la prolifération clonale de cellules de Langerhans anormales affectant une disposition granulomateuse. Ces cellules dendritiques présentatrices d'antigènes, dont la localisation normale est essentiellement cutanée, se développent ici dans de multiples sites, surtout cutanés mais aussi osseux, hépatiques, pulmonaires, hypophysaires et neurologiques, ce qui explique la variété des syndromes observés. Fruit du regroupement d'affections d'abord dénommées maladie de Letterer-Siwe ou de Hand-Schüller-Christian et granulome éosinophile des os, puis histiocytose X [44], elle fut reliée à la cellule de Langerhans par C. Nezelof et F. Basset [45, 46]. C'est l'observation en microscopie électronique, dès 1966, de structures caractéristiques d'allure virale qui permit à ces auteurs de rapprocher les histiocytes en prolifération des cellules de Langerhans cutanées où des inclusions identiques avaient été vues [47]. Le granule de Birbek, invisible en microscopie photonique, est caractérisé en microscopie électronique par des batonnets épais de 420 Angströms, comportant un centre osmiophile et une double membrane externe. Le centre est marqué par une striation transversale d'une périodicité de 100 Angströms. Ces données ont été confirmées par l'immunohistochimie démontrant notamment l'expression par les cellules de Langerhans du CD1a+, témoignant de

leur provenance de précurseurs intermédiaires des cellules de la lignée monocytes-macrophages et de la langerine, protéine transmembranaire de type II, lectine de type C ligant spécifique du mannose (CD 207), qui en est spécifique.

Le granule de Birbeck est considéré comme un domaine sous membranaire du réseau de recyclage endosomal. Sa genèse paraît être sous le contrôle de plusieurs protéines, telle la famille des Rab11, dont différents complexes régulent le recyclage de molécules, telles la transferrine, et le transport des endosomes précoces vers le réseau trans-Golgien, du ou via les endosomes en recyclage. La famille des Rab11 influence le trafic de la langerine s'accumulant dans les compartiments endocytaires lors de son internalisation pour intégrer le granule de Birbeck [48]. Ses propriétés cristallographiques rendent compte de son implication dans la présentation d'antigènes non peptidiques de *Mycobacterium leprae* à des cellules T CD1a-restreintes, son attache au VIH et son rôle protecteur contre la propagation de ce virus en raison de ses possibilités d'internalisation dans les granules de Birbeck [49].

On classe aujourd'hui l'histiocytose langheransienne en groupes de pronostic décroissant : localisation unifocale, unifocale monosystémique et multifocale plurisystémique [50]. Son mécanisme, inflammatoire ou tumoral, reste encore discuté [51]. La nature clonale des cellules et la démonstration récente de mutations de type BRAF [52] ont récemment apporté de nouvelles indications en faveur de son origine cancéreuse [53].

CONCLUSION

Les inclusions cellulaires sont souvent associées à des anomalies des systèmes de la protéolyse (voies lysosomiale ou ubiquitine-protéasome, isolées ou associées). Cette donnée n'est cependant pas constante. Le corps d'inclusion permet parfois de rattacher une affection à sa cause ou à sa cellule d'origine. Signal d'alerte pour l'anatomo-pathologiste, outil de classification indispensable, il nécessite, pour être parfaitement interprété, l'utilisation de toute la palette d'outils de la morphologie moderne. Celle-ci est pourtant insuffisante, dans bien des cas, à la compréhension de sa genèse et de sa signification qui nécessite des données biochimiques, physiques et génétiques et reste encore souvent incomplète.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ESSNER E., NOVIKOFF A.B. — Human hepatocellular pigments and lysosomes. *J. Ultrastruct. Res.*, 1960, 3, 374-91.
- [2] SAMORAJSKI T., ORDY J.M., KEEFE J.R. — The fine structure of lipofuscin age pigment in the nervous system of aged mice. *J. Cell. Biol.*, 1965, 26, 779-95.

- [3] SZWEDA P.A., CAMOUSE P.A., LUNDBERG K.L. *et al.* — Aging, lipofuscin formation, and free radical-mediated inhibition of cellular proteolytic systems. *Ageing Research Reviews*, 2003, 4, 383-405.
- [4] BRUNK U.T., TERMAN A. — Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, 33, 611-9.
- [5] KANG H.T., LEE K.B., KIM S.Y. *et al.* — Autophagy impairment induces premature senescence in primary human fibroblasts. *PLoS ONE*, 2011, 6, e23367.
- [6] OTTIS P., KOPPE K., ONISKO B. *et al.* — Human and rat brain lipofuscin proteome. *Proteomics*, 2012, 12, 2445-54.
- [7] SEPPÄNEN A., MIETTINEN R., ALAFUZOFF I. — Neuronal collagen XVII is localized to lipofuscin granules. *Neuroreport*, 2010, 21, 1090-4.
- [8] AHMED Z., SHENH H., XU Y.-F. *et al.* — Accelerated lipofuscinosis and ubiquitination in granulin knockout mice suggest a role for progranulin in successful aging. *Am. J. Pathol.*, 2010, 177, 311-324.
- [9] MÜLLER H — “Anatomische Beiträge zur Ophthalmologie — 1) Untersuchungen über die Glashäute des Auges, insbesondere die Glaslamelle der Chorioidea und ihre senilen Veränderungen”. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1856, 2, 1-69.
- [10] NG K.P., GUGIO B., RENGANATHAN K. *et al.* — Retinal Pigment Epithelium Lipofuscin Proteomics. *Mol. Cell. Proteomics*, 2008, 7, 1397-1405.
- [11] YOON K.D., YAMAMOTO K., UEDA K. *et al.* — A novel source of methylglyoxal and glyoxal in retina: implications for age-related macular degeneration. *PLoS ONE* 2012, 7, e413071/journal.pone.0041309.
- [12] SARKS S.H. — Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *Brit. J. Ophthalmol.*, 1976, 60, 324-341.
- [13] LÉGER F., FERNAGUT P.O., CANRON M.H. *et al.* — Protein aggregation in the aging retina. *Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2011, 70, 63-8.
- [14] SPARROW J.R., WU Y., KIM G.Y., RHOU J. — Phospholipid meet all-trans-retinal: the making of RPE bioretinoids. *J. Lipid. Res.*, 2010, 51, 247-261.
- [15] WANG L., CLARK M.E., CROSSMAN D.K. *et al.* — Abundant lipid and protein components of drusen. *PLoS ONE*, 2010, 5(4), e10329.doi: 10.1371/journal.pone.0041309.
- [16] SPAIDE R.F., CURCIO C.A., ZWEIFEL S.A. — Drusen, an old but new frontier. *Retina*, 2010, 30, 1163-1165.
- [17] GOURAS P., IVERT L., NEURINGER M., MATTISON J.A. — Topographic and age-related changes of the retinal epithelium and Bruch's membrane of rhesus monkeys. *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2010, 248, 973-984.
- [18] ALZHEIMER A. — Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin.*, 1907, 64, 146-148.
- [19] BUÉE L., TROQUIER L., BURNOUF S. *et al.* — From tau phosphorylation to tau aggregation: what about neuronal death. *Biochem. Soc. Trans.*, 2010, 38, 967-72.
- [20] MENG S.-R., ZHU Y.Z., GUO T. *et al.* — Fibril-forming motifs are essentials and sufficient for the fibrillization of human tau. *PLoS ONE*, 2012, 7(6), e38903.
- [21] BOUCHARD M., SUCHOWERSKY O. — Tauopathies: one disease or many? *Can. J. Neurol. Sci.*, 2011, 38, 547-556.
- [22] BANCHER C., BRUNNER C., LASSMANN H. *et al.* — Accumulation of abnormally phosphorylated τ precedes the formation of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Brain Research.*, 1989, 477, 90-99.

- [23] DUYNCKAERTS C., DELATOUR B., POTIER M.C. — Classification and basic pathology of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.*, 2009, 118, 5-36.
- [24] BRAAK H., DEL TREDICI K. — The pathologic process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol.*, 2011, 121, 171-181.
- [25] DUYNCKAERTS C. — Tau pathology in children and young adults: can you still be unconditionally baptists? *Acta Neuropathol.*, 2011, 121, 145-47.
- [26] VINGTDEUX V., SERGEANT N., BUEE L. — Potential contribution of exosomes to the prion-like propagation of lesions in Alzheimer's disease. *Front Physiol.*, 2012, 3, 229-45.
- [27] CLAVAGUERA F., GOEDERT F., TOLNAY M. — Induction et propagation de la pathologie tau chez un modèle murin de la maladie d'Alzheimer. *Med. Sci. (Paris)*, 2010, 26, 121-4.
- [28] DE CALIGNON A., POLYDORO M., SUAREZ-CALVET M. *et al.* — Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease. *Neuron.*, 2012, 73, 685-697.
- [29] TETRIAKOFF C. — Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Somenning avec quelques déductions relatives à la pathogénie des troubles du tonus musculaire et à la maladie de Parkinson. Thèse Paris, Jouve, 1919, 124 p.
- [30] DUFFY P.E., TENNYSON P.M. — Phase and electron microscopy of Lewy bodies and melanin granules in the substantia nigra and locus coeruleus in Parkinson's disease. *J. Neuropathol. exp. Neurol.*, 1965, 24, 398-314.
- [31] LOWE J. — Neuropathology of dementia with Lewy bodies. In: " Dementias ", Handbook of Neurology, Vol 89, C. Duyckaerts, I. Litvan Eds, Elsevier, 2008, 321-330.
- [32] DUYNCKAERTS C., HAUW J.-J. — Le corps de Lewy, marqueur abusif de la maladie de Parkinson? *Bull. Acad. Natl. Med.*, 2003, 187, 277-92.
- [33] COOK C., STETLER C., PETRUCCELLI L. — Disruption of protein quality control in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2012, 2, 2:a009423.
- [34] TASCHENBERGER G., GARRIDO M., TERESHCHENKO Y. *et al.* — Aggregation of α Synuclein promotes progressive *in vivo* neurotoxicity in adult rat dopaminergic neurons. *Acta Neuropathol.*, 2012, 123, 671-83.
- [35] EBRAHIMI-FAKHARI D., WAHLSTER L., MCLEAN P.J. — Molecular chaperones in Parkinson's disease — Present and future. *J. Parkinson Dis.*, 2011, 1, 299-320.
- [36] GREFFARD S., VERNY M., BONNET AM, *et al.* — A stable proportion of Lewy body bearing neurons in the substantia nigra suggests a model in which the Lewy body causes neuronal death. *Neurobiol. Aging.*, 2010, 31, 99-103.
- [37] ROTT R., SZARGEL R., HASKIN J. *et al.* — α -Synuclein fate is determined by USP9X-regulated monoubiquitination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, 108, 18666-71.
- [38] HAUW J.-J., HAUSSER-HAUW C., DE GIROLAMI U. *et al.* — Neuropathology of sleep disorders: a review. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2011, 70, 243-252.
- [39] BRAAK H., DEL TREDICI K., BRATZKE H. *et al.* — Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J. Neurol.*, 2002, 249 Suppl 3, 1-5.
- [40] LÉBOUVIER T., CHAUMETTE T., DAMIER P. *et al.* — Pathological lesions in colonic biopsies during Parkinson's disease. *Gut*, 2008, 57, 1741-1743.
- [41] BEACH T.G., ADLER C.H., SUE L.I. *et al.* — Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol.*, 2010, 119, 689-702.
- [42] MAURAGE C.A., RUCHOUX M.-M., DE VOS R. *et al.* — Retinal involvement in dementia with Lewy bodies: a clue to hallucinations? *Ann. Neurol.*, 2003, 54, 542-547.

- [43] SURGUCHEVA I., SHAROV V.S., SURGUCHOV A. — α -Synuclein: seeding of α -Synuclein aggregation and transmission between cells. *Biochemistry*, 2012, 51, 4741-4754.
- [44] LICHTENSTEIN L. — Histiocytosis X: Integration of eosinophilic granuloma of bone, “ Letterer-Siwe disease ”, and a single nosologic entity. *Arch. Pathol.*, 1953, 56, 84-102.
- [45] NEZELOF C., BASSET F. — From histiocytosis X to Langerhans cell histiocytosis: a personal account. *Int. J. Surg. Pathol.*, 2001, 9, 137-14.
- [46] BASSET F., NEZELOF C., TURIJAF J. — Présence en microscopie électronique de structures filamenteuses originales dans les lésions pulmonaires et osseuses de l’histiocytose X. État actuel de la question. *Bull. Mem. Soc. Med. Hop. Paris*, 1966, 117, 413-26.
- [47] BIRBECK M.S., BREATHNACH A.S., EVERALL J.D. — An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear cells (Langerhans cell) in vitiligo. *J. Invest. Dermatol.*, 1961, 37, 51-64.
- [48] UZAN-GAFSON S., BAUSINGER F., PROAMER F *et al.* — Rab11A Controls the Biogenesis of Birbeck Granules by Regulating Langerin Recycling and Stability. *Mol. Biol. Cell.*, 2007, 18, 3169-3179.
- [49] THEPAUT M., VIVES C, POMPIDOR G. — Overproduction, purification and preliminary crystallographic analysis of the carbohydrate-recognition domain of human langerin. *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 2008, 64(Pt 2), 115-118.
- [50] COTRAN R.S., KUMAR V., ABBAS A. *et al.* — In Pathologic basis of disease. : Robbin and Cotran (2005) St. Louis, Mo: Elsevier Saunders, p. 701.
- [51] ROMANI N., CLAUSEN B.E., STOIZNER P. — Langerhans cell and more: langerhin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol. Rev.*, 2010, 234, 120-141.
- [52] SATOH T., SMITH A, SARDE A, *et al.* — B-RAF Mutant Alleles Associated with Langerhans Cell Histiocytosis, a Granulomatous Pediatric Disease. *PLoS ONE*, 2012, 7, e33891. doi:10.1371/journal.pone.0033891.
- [53] BADALIAN-VERY G., VERGILIO J.A., FIEMING M., ROLLINS B.J. — Pathogenesis of Langerhans Cell Histiocytosis. *Annu. Rev. Pathol.*, 2012 Aug 6. [Epub ahead of print].

DISCUSSION

M. Pierre GODEAU

Y a-t-il un parallélisme entre les dépôts de lipofuscine oculaire au niveau des drusen et la présence de lipofuscine au sein du système nerveux central identifiée lors de constatations nécropsiques ?

Bien entendu, les dépôts de lipofuscine s’accumulent au cours du vieillissement dans les cellules post-mitotiques, il est permis de penser que leur abondance augmente avec l’âge aussi bien dans les neurones que dans les cellules de l’épithélium pigmentaire rétinien (qui endocytent les pigments de l’épithélium visuel) où ils contribueront à la formation des druses. Aucune étude systématique post-mortem humaine n’a cependant, à ma connaissance, analysé précisément ce point. En revanche il a été démontré expérimentalement, dans plusieurs modèles animaux, que l’inhibition de certaines protéases entraînait l’apparition simultanée de lipofuscines cérébrales et rétiniennes (Ivy et coll., *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1969, 266, 31-45).

M. Jean-Yves LE GALL

M. Nezelof prend, comme paradigme des maladies neurodégénératives, la DMLA. Rappelons que dans la DMLA existe, comme facteurs de prédisposition, un certain nombre de variants génétiques. Ne peut-on penser que c'est également le cas des maladies dites neurodégénératives ?

Les maladies neurodégénératives associées aussi bien à des dégénérescences neurofibrillaires qu'à des corps de Lewy comportent de rares formes autosomiques dominantes de début habituellement précoce (qui ne représenteraient que moins de 2 % des cas de maladie d'Alzheimer ou de Parkinson). Les gènes mis en évidence se multiplient. Des facteurs de susceptibilité génétique, tel l'allèle 4 de l'ApoE dans la maladie d'Alzheimer sont aussi connus (Amouyel P. — Facteurs de susceptibilité génétique à la maladie d'Alzheimer : de nouvelles pistes. In *Le défi de la maladie d'Alzheimer. Synergies franco-québécoises*. J-P Tillement et coll. Eds, Lavoisier, 2013). Ces formes ont l'intérêt de permettre la recherche de moyens diagnostiques précoces, permettant des essais thérapeutiques précédant la mort neuronale massive. Ils fournissent des pistes prometteuses pour de nouveaux traitements (Duyckaerts et coll. — Mécanismes physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer. In *Le défi de la maladie d'Alzheimer*, opus cité).

M. Roger NORDMANN

Malgré leur excellente qualité, les exposés précédents me laissent quelque peu perplexe quant au rôle de la protéolyse intracellulaire dans la genèse des inclusions intracellulaires. Il a été souligné, par exemple, que ce rôle n'a pas été démontré à propos de la lipofuscine. L'hétérogénéité des dépôts et le fait qu'ils concernent surtout les sujets âgés ne sont-ils pas plutôt en faveur d'un mécanisme plus général tel qu'un stress oxydant (favorisé notamment par la diminution des éléments cellulaires de la défense anti-oxydante en relation avec le vieillissement) ?

Les rapports entre le stress oxydant et les lipofuscines sont certainement complexes. Les lipofuscines du vieillissement sont des produits indégradables par la cellule (lipides et protéines résistant aux processus oxydants catalysés par le fer). Ils s'accumulent dans certains lysosomes (« télolysosomes »), dont le rôle paraît être de stocker tous les déchets que la cellule ne peut ni expulser ni dégrader (ni encore diluer lors d'une mitose dans les populations cellulaires à cycle de renouvellement long, a fortiori dans les cellules post-mitotiques). Il a été suggéré que l'accumulation de lipofuscines pouvait entrer en compétition avec celle des mitochondries altérées, réduisant ainsi les fonctions de l'ensemble de la population cellulaire de ces organites et augmentant donc le stress oxydant (pour revue, voir Termann et coll. — Mitochondrial turnover and aging of long-lived post-mitotic cells: the mitochondrial-lysosomal axis theory of aging. *Antioxid. Redox. Signal.*, 2010, 12, 503-535.). Quant au rôle du stress oxydant dans le mécanisme des maladies neurodégénératives et, plus particulièrement, dans la formation des dégénérescences neurofibrillaires et des corps de Lewy, il a été souvent suggéré (pour référence, voir Tanji et coll. — Keap1 is localized in neuronal and glial cytoplasmic inclusions in various neurodegenerative diseases. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2013, 72, 18-28) ; son caractère primaire ou secondaire reste débattu. En revanche, il ne paraît pas intervenir dans la formation des corps X ou granules de Birbeck.