

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Science biologique
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

La maladie de Parkinson : Aspects cliniques et génétiques

Présenté par : MEKROUD Yahia Ouassim
BOUALEM Meroua
MESKALDJI Imene

Le 23/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : SIFI Karima (Prof – Université Salah Boubnider Constantine 3).
Co-encadreur : ZIADA Hadia (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : REZGOUNE Mohamed (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : SEMMAME Ouarda (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH qui nous a permis d'atteindre cette étape de notre vie après cinq longues années d'études.

Nous remercions également notre cher encadreur, le Professeur SIFI KARIMA qui a su harmoniser nos efforts pour finalement donner jour à ce travail pour couronner nos études.

Nous remercions par ailleurs, le personnel du laboratoire d'hormonologie et de biochimie du CHU Ibn Badis de Constantine, et particulièrement madame Amel qui a consacré beaucoup de son temps et nous a assistés surtout dans notre partie pratique. Nous lui exprimons ici toute notre reconnaissance et notre gratitude.

Nos remerciements vont également aux membres du jury qui nous feront l'honneur de juger ce travail.

Enfin nous tenons à remercier tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à notre formation durant toutes ces années d'études et au cours de la réalisation de ce projet de fin d'étude.

-Mekroud Yahia Ouassim

-Boualem Meroua

-Meskaldji Imene

Dédicaces

DIEU merci pour m'avoir donné la patience et le courage d'avancer pendant toutes ces années malgré les obstacles qui ont objectés mon parcours... **EL hamdoulillah**

A ma mère, la première raison pour la quelle je suis arrivé là ou je suis aujourd'hui.

A mon premier exemple, mon père, qui était toujours là pour éclairer mon chemin.

Merci énormément pour tout ce que tu a fait pour moi.

A mes chères sœurs Meriem et Housna, que dieu vous protège et vous accorde plein de succès et de joie.

A mon grand père Ahmed qui veille sans cesse sur la réussite de tous les membres de la famille.

A ma grand-mère Fatiha, tu as cru en moi et en ma réussite depuis que j'étais tout petit, je n'oublierai jamais tes mots (Allah Yarhmek).

A mes grands-parents Abderrahman et El Yamna (Allah Yarhamhom).

A toute ma famille, mes oncles, mes tantes, mes cousins.

A mes enseignants, mes amis, mes collègues et tous ceux qui m'ont aidé durant mon parcours.

Je dédie ce travail

Yahia Ouassim Mekroud

Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude et ces sincères mots que je dédie ce travail de fin d'étude après un long chemin.

A ma raison de vivre, la personne qui m'as soutenue depuis mon enfance, m'épaulée pour que je puisse atteindre ce succès à **toi ma très chère maman Blila Wafa** que dieu te garde pour nous.

A mon cher père Boualem Mohamed, même si tu n'es plus avec nous tu resteras toujours dans mon cœur, je sais que t'aurais jamais voulu nous quitter et que t'aurais aimé être avec moi à cet instant ou tu seras fière de moi mais le dieu a voulu autrement repose en paix cher papa jusqu'à ce que le paradis nous unisse inshallah.

A ma sœur Yasmine et mon frère Borhane que dieu les gardent et exauce tous leurs souhaits.

A mes chers grands parents, Djedi Blila Mohamed qui m'a toujours aimée et encouragée d'avoir choisie la spécialité génétique, et **ma grand mère Atik Aicha** qui n'a jamais cessé de me dire quoi qu'il arrive n'abandonnes pas tes études, tes mots sont gravé a jamais dans ma mémoire chère mimi, que dieu vous accueille dans son vaste paradis, il ne sera pas le dernier hommage je vous oublierai jamais.

Un merci pour ma chère cousine Karima et toutes les personnes de ma grande famille ainsi que mes amis.

Un grand merci à Amourache Amel laborantine au service d'hormonologie du CHU de Constantine pour son soutiens et son aide.

Au final, je ne peux pas m'empêcher de ne pas mentionner un nouveau membre dans notre famille ma petite nièce Rym que dieu la bénisse.

Meroua Boualem

Dédicaces

Je dédie ce projet de fin d'étude en premier lieu à **Mama Rachida**, ma raison d'être, celle qui a vécu chaque moment de mon parcours universitaire avec le même degré de stress, joie et tristesse que je ressentais.

A mon cher papa Abdelkader qui m'a toujours répété qu'il faut aller vers les choses difficiles car les choses faciles tout le monde y va.

A mes chères sœurs Nour, Hind, Ryma, mes chers frères Billel et Amine surtout mon neveu **mehdi malik** qui a aussi participé à ce mémoire en bousillant mes cours et papiers.

Aux deux âmes que j'ai perdus cette année, **ma tante Fahima, et mon oncle Azzedine**, vous serez à toujours dans nos cœurs.

Au final je dédie ce travail à **la petite fille que j'étais**, et qui doit être fière de la femme que je suis aujourd'hui et surtout la généticienne que je suis devenue.

Imene Meskaldji

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces.....	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Introduction.....	1
I. Les aspects phénotypiques de la maladie de parkinson	3
I.1. L’histoire de la maladie de parkinson.....	3
I.2. Les caractéristiques anatomopathologiques de l’atteinte neuronale au cours de la maladie de parkinson.....	4
I.2.1. Les rappels anatomiques.....	4
I.2.2. L’anatomie pathologique.....	5
I.3. L’épidémiologie	5
I.3.1. La prévalence et incidence de la maladie de parkinson.....	6
I.3.2. Les facteurs de risque.....	8
I.3.3. Les facteurs protecteurs.....	10
I.4. La neurophysiologie et l’étiopathogénie.....	11
I.4.1. Le pliage anormal des protéines, agrégation et toxicité	12
I.4.2. La protéolyse déficiente	13
I.4.3. La dysfonction mitochondriale.....	13
I.4.4. Le stress oxydatif	15
I.4.5. Le métabolisme du fer.....	16
I.4.6. Les mécanismes inflammatoires et immunologiques	17
I.5. Le diagnostic de la maladie de Parkinson	17
I.5.1. Les aspects cliniques et la maladie de Parkinson	18
I.5.1.1. Les symptômes moteurs	19
I.5.1.2. Les symptômes non-moteurs.....	19
I.5.1.3. Les signes neurovégétatifs	22
I.5.1.4. Les autres signes rencontrés dans la maladie de parkinson	23
I.5.2. La classification des patients en fonction de la forme clinique	24
I.5.3. Les critères diagnostiques de la maladie de parkinson	24

II. Les aspects génétiques de la maladie de parkinson	25
II.1. La maladie de parkinson héréditaire	25
II.2. La maladie de parkinson idiopathique.....	25
II.3. Les facteurs génétiques impliqués dans la maladie de parkinson	26
II.3.1 Les gènes responsables des formes autosomiques dominantes	27
II.3.2. Les gènes responsables des formes autosomiques récessifs	27
II.4. Le gène LRRK2 (PARK8)	28
II.4.1. Identification et localisation génomique du gène LRRK2.....	28
II.4.2. Séquence du gène LRRK2	29
II.4.3. L'ARNm du gène LRRK2.....	29
II.4.4. La protéine codée par le gène LRRK2.....	30
II.5. Les mutations et polymorphisme du gène LRRK2 (PARK8) dans la maladie de Parkinson..	31
II.5.1. La mutation LRRK2 G2019S.....	32
II.6. Place du gène LRRK2 dans la forme autosomique dominante	33
III. Les corrélations phénotypes/génotypes dans la maladie de Parkinson	34
IV. Les thérapies de la maladie de Parkinson	47
V. Patients et méthodes.....	40
V.1. Patients	40
V.1.1. Recrutement des cas index.....	40
V.2. Méthodes	41
V.2.1. Extraction D`ADN.....	41
V.2.2. Quantification et dilution de l`ADN : Dosage des acides nucléiques.....	43
V.2.3. PCR ou amplification de l'exon 41 du gène LRRK2.....	44
V.2.4. Contrôle par électrophorèse des produits de PCR de l'exon 41.....	49
V.2.5. Purification du produit de PCR pour la réalisation de la réaction de Séquençage.....	50
V.2.6. PCR de séquence.....	51
V.2.7. Purification PCR de séquences.....	51
V.2.8. Le séquençage	54
V.3. Analyse statistique.....	56
VI. Résultats	57
VI.1. Répartition des patients selon le sexe	57
VI.2. Répartition des patients par tranches d'âge	57
VI.3. Répartition des patients selon les antécédents familiaux et la consanguinité.....	58

VI.4. Répartition des patients selon la durée d'évolution de la maladie	
VI.5. Répartition des patients selon les signes cliniques.....	58
VI.5.1. Répartition des patients selon les signes cliniques majeurs de la maladie de Parkinson..	58
VI.5.2. Répartition des patients selon les signes moteurs de la maladie de Parkinson.....	59
VI.5.3. Répartition des patients selon les signes non moteurs de la maladie de Parkinson.....	59
VII. Résultats de la mise au point de la technique moléculaire.....	60
VIII. Discussion.....	61
Conclusion	64
Perspectives.....	65
Références bibliographiques.....	66
Annexes.....	79
Résumé en français	82
Résumé en anglais.....	83
Résumé en arabe.....	84

Liste des abréviations

AADC : *Aromatic L-amino acide décarboxylase*
AAV : *Adeno Associate Virus*
ADN : Acide désoxyribonucléique
ARN : Acide ribonucléique
ATP : Adénosine triphosphate
Bcl-2 : *B-CELL Lymphoma 2*
BHE : Barrière hémato-encéphalique
Co I : Complexe 1
Cat : Catalase
DA : Dopamine
DCYTB : *Duodenal Cytochrome B*
ECG : Electro cardio gramme
FPN : Ferroportine
GPx : Glutathione peroxydase
GDNF : *Glial Cell-derived Neurotrophic Factor*
LRRK2 : *Leucine-Rich Repeat Kinase-2*
L-Dopa : Levodopa
MP : Maladie de Parkinson
MPI : Maladie de Parkinson idiopathique
MPTP : 1-méthyle-4-phényl-1,2,3,6- tétrahydro pyridine
MPP+ : 1-méthyle-4-phenylpyridinium
MAO : Mono-amine oxidase
MAP Kinase : *Mitogen-activated protein*
NCBI : *National Center for Biotechnology Information*
NFKB : *Nuclear factor Kappa B*
NTBI : *Non-Transferrin Bound Iron*
PCBP1 : *Poly (rC)-Binding Protein 1*
RL : Radicaux libres
ROS : Espèces oxygénées réactives
SODs : Superoxyde dismutases
SNe : Substance noire compacte
SN : Substance noir
SCP : Stimulation cérébrale profonde
TGFβ : *Transforming growth factor-beta*
PD : *Parkinson disease*
P53 : *Tumor Protein 53*
UCH-L1 : Ubiquitin C-terminal hydrolase

Liste des figures

Figure 1 : Incidence de la MP chez les hommes et les femmes.....	8
Figure 2 : Structure de la mitochondrie.....	14
Figure 3 : Débalancement entre les ROS causant le stress oxydant et les défenses antioxydantes du corps.....	15
Figure 4 : Structure du gène LRRK2.....	29
Figure 5 : Formation d'une méduse d'ADN.....	43
Figure 6 : L'ADN des patients en vue de la réalisation d'une pcr.....	48
Figure 7 : Réalisation de mix PCR dans des tubes eppendorff.....	48
Figure 8 : Préparation des produits de PCR.....	49
Figure 9 : mettre le mélange dans les puits du gel d'agarose	49
Figure 10 : la lecture d'électrophorèse sur gel d'agarose.....	50
Figure 11 : Les étapes de la réalisation PCR de Séquence.....	51
Figure 12 : Préparation de la plaque millipore.....	52
Figure 13 : Séquenceur ABI prism (3500 Genetic Analyzer).....	56
Figure 14 : Répartition des patients par tranche d'âge.....	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les caractéristiques cliniques des patients présentant une maladie de Parkinson....	35
Tableau I : Les différentes conditions de conservation de l'ADN.....	44
Tableau II: Températures des 3 étapes de la PCR.....	45
Tableau III: Les amorces utilisées.....	46
Tableau IV: Composition du mix de la PCR.....	48
Tableau V: Programme du thermocycler.....	48
Tableau VI: Préparation du milieu réactionnel de la première de la PCR de séquences.....	51
Tableau VII: Différents ddNTP, les fluorochromes de marquage et les couleurs.....	55
Tableau VIII: Répartition des patients selon le sexe.....	57
Tableau IX: Répartition des patients en fonction des signes majeurs de la maladie.....	58
Tableau X: Répartition des patients selon les signes moteurs de la maladie de parkinson.....	59
Tableau XI: Répartition des patients selon les signes non moteurs.....	59

Première partie

Etude bibliographique

Introduction

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative. Elle représente le deuxième trouble neurologique le plus commun après la maladie d'Alzheimer. Et touche 1 à 2 % des personnes âgées de plus de 65 ans et 4 à 5 % des sujets de 85 ans (Healy DG *et al.*, 2008 ; Paisan-Ruiz C *et al.*, 2004). Ses manifestations cliniques se caractérisent par une bradykinésie, un tremblement au repos, une rigidité musculaire et une instabilité posturale (Fahn S *et al.*, 2000).

D'un point de vue pathologique, deux caractéristiques principales sont observées chez les patients atteints de la MP. La première est une neurodégénérescence dopaminergique sévère et relativement sélective dans la voie nigro-striatale, qui sous-tend les déficits des systèmes moteurs (Fearnley JM *et al.*, 1991 ; German D *et al.*, 1989). L'autre étant représenté par la présence de corps de Lewy (LB) cytoplasmiques, principalement constitués d'alpha-synucléine agrégée (Spillantini M *et al.*, 1997).

Bien que des efforts considérables aient été déployés pour découvrir des thérapies efficaces, la plupart des traitements actuels ne sont que palliatifs et ne modifient pas la progression de la maladie. Ces dernières années, plusieurs gènes ont été identifiés pour présenter des mutations dans les cas de MP familiale, notamment l'alpha-synucléine (SNCA) (Polymeropoulos MH *et al.*, 1997 ; Singleton AB *et al.*, 2003), la leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) (Paisan-Ruiz C, 2004), la Parkin (Kitada T *et al.*, 1998) , la kinase putative 1 induite par PTEN (PINK1) (Valente EM *et al.* ,2004), le DJ-1 (Bonifati V *et al.*, 2003), l'ATP13A2 ou PARK9 (Vilarino-Guell C *et al.*, 2011) et le VPS35 (Zimprich A *et al.*, 2011).

Parmi ces facteurs déterminants, les mutations du gène LRRK2 contribuent à la cause la plus fréquente de la MP familiale, et les variants de LRRK2 sont également impliqués dans l'augmentation des facteurs de risque dans les cas sporadiques. De plus, les caractéristiques cliniques des patients atteints de la maladie de Parkinson associée à LRRK2 sont indiscernables de celles des cas idiopathiques, et la plupart des porteurs de mutations LRRK2 sont positifs pour l'alpha-synucléine. En outre, de multiples sources de données indiquent que LRRK2 interagit avec d'autres molécules clés dans la pathogenèse de la maladie de Parkinson, notamment SNCA, Parkin, DJ-1 et PINK (Taymans JM *et al.*, 2010).

Cependant, la prévalence de la mutation G2019S de LRRK2 semble varier selon l'ethnie. Cette dernière est la plus fréquente parmi plusieurs substitutions d'acides aminés dans le gène LRRK2 (Healy DG *et al.*, 2008 ; Taylor JP *et al.*, 2006). Elle est fréquente dans les

populations arabes surtout maghrébine (Lesage S *et al.*, 2006) juifs (Ozelius LJ *et al.*, 2006) et certaines populations espagnoles (Infante JJ *et al.*, 2006) (41 % des cas de MP sporadique et 18,7 à 37 % des cas de MP familiale) et occidentales mais très rare (<0,01 %) dans les populations asiatiques (Taylor JP *et al.*, 2006 ; Infante J *et al.* 2006).

Qu'en est-il de la population Algérienne et plus précisément de la population de l'Est algérien ?

Pour cela, les objectifs de notre étude étaient de :

-d'étudier les caractéristiques épidémiologiques, cliniques de patients présentant une maladie de Parkinson.

-Mettre au point la technique de recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR/séquençage chez des patients atteints de la maladie de Parkinson de l'Est Algérien

I. Les aspects phénotypiques de la maladie de Parkinson

I.1.L'histoire de la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson a été pour la première fois décrite par le physicien Galien dans ses écrits et qu'il appela la « paralysie agitante » (Katzenschlager *et al.*, 2004). Ce n'est qu'en 1817, que le médecin britannique James Parkinson membre du Collège Royal des Chirurgiens a publié un ouvrage intitulé «*Essay on the Shaking Palsy*». Dans cet essai court, il a réussi, grâce à l'observation de six patients âgés de plus de 50 ans, de décrire les traits caractéristiques de la maladie.

James Parkinson a défini ainsi la paralysie agitante comme un mouvement trémulant involontaire, associé à une diminution de la force musculaire, survenant dans les parties du corps. Parkinson a par la suite décrit d'une manière magistrale le début insidieux de la maladie comme la difficulté de la marche qui devient une tâche qui ne peut être réalisée sans une attention considérable, l'attitude de plus en plus courbée et le tremblement de plus en plus intense au fur et à mesure de l'évolution. Il a noté les difficultés de l'écriture, de l'alimentation, et de la parole qui finit par devenir incompréhensible (Parkinson, 1817).

L'Essai sur la paralysie Agitante, n'a pas eu immédiatement la retombée scientifique que méritaient la valeur de l'œuvre et la personnalité de l'auteur. L'ouvrage est resté méconnu et ce n'est que 60 ans plus tard que le neurologue français, Jean Martin Charcot, a reconnu l'importance des travaux de James Parkinson et a ainsi nommé cette affection «*Maladie de Parkinson* ». Cependant, ce n'est qu'en 1960 qu'une équipe de Vienne, formée des biochimistes Ehringer et Hornykiewicz, a montré le lien entre la MP et la baisse de DA dans les régions de projection des neurones dopaminergiques. Cette découverte aboutit aux premiers traitements par L-Dopa à la fin des années soixante (Ehringer and Hornykiewicz, 1960).

Et depuis, de nombreuses études ont ajouté des précisions quant à la description de la maladie, ses symptômes et ses traitements, mais la cause de cette maladie reste encore largement inconnue.

I.2. Les caractéristiques anatomopathologiques de l'atteinte neuronale au cours de la maladie de Parkinson

I.2.1. Les rappels anatomiques

Le cerveau est l'organe principal du système nerveux et le siège des fonctions cognitives, sens et des réponses nerveuses. Il est composé de plusieurs régions logées dans la boîte crânienne.

Le télencéphale

C'est la plus grande partie du cerveau. Il est le siège du traitement des informations sensorielles et motrices, et aussi l'origine de la connaissance immédiate de sa propre activité psychique (la conscience).

Il est constitué d'hémisphères cérébraux (cortex cérébral) et d'autres structures appelées sous corticales. Sa surface est composée de neurones formant la substance grise (Bastianetto, 2021).

Le cervelet

Il se trouve en dessous des hémisphères cérébraux et à l'arrière du tronc occipital.

Il contient :

-
- le cortex cérébelleux.
 - une matière blanche fibreuse.
 - trois paires de noyaux.

Il joue un rôle dans le traitement des informations provenant des autres régions du cerveau et de la moelle épinière, il a aussi un rôle important dans le contrôle des mouvements et le maintien de l'équilibre de la posture (Equipe passeport santé, 2017).

Le thalamus

Positionnés dans le diencephale, les deux noyaux se trouvent dans l'un des hémisphères du cerveau formant la troisième cavité.

Il a pour fonction la propagation des effets sensoriels, sensitifs et moteurs ainsi que d'autres effets nerveux (Nicard, 2016).

Le tronc cérébral

Se trouvant en haut de la moelle osseuse et en bas du cerveau, il est composé de trois parties : la moelle allongée, la protubérance annulaire et le mésencéphale. Il est composé d'un grand nombre de noyaux connectés entre eux et avec d'autres régions par des faisceaux. Il est considéré comme polyvalent vis à vis les fonctions du cerveau.

Le tronc cérébral contient également trois substances : la substance grise, blanche et noire qui est la partie principalement touchée par la dégénérescence lors de la maladie de Parkinson.

I.2.2. L'anatomie pathologique

-La mort neuronale

La mort cellulaire lors de la maladie de Parkinson se fait par l'identification des mécanismes moléculaires impliqués dans cette dernière par des expériences utilisant des neurotoxiques touchant les neurones dopaminergiques et provoquant le stress oxydatif et l'inhibition mitochondriale.

Aux premières phases, on distingue l'intervention de plusieurs molécules spécifiques :

-la P53, protéine de la famille Bcl-2, les facteurs de transcriptions NFkB et les MAP-kinases (Lambeng *et al.*, 2002).

-La démence à corps de Lewy

Ce sont des sphères formant des inclusions neuronales éosinophiles. L'atteinte du corps de Lewy peut provoquer ce qu'on appelle la démence de Lewy, sont diagnostic porte sur le principal critère qui est un trouble cognitif suffisamment important pour gêner le fonctionnement normal et la vie quotidienne du patient atteint (Ferchichi *et al.*, 2000).

I.3.Epidémiologie de la maladie de Parkinson

Les syndromes parkinsoniens sont classés en deuxième position après les syndromes démentiels, et représentent l'expression clinique la plus fréquente des affections neurodégénératives (Elbaz et Damier, 2004). L'un des principaux problèmes rencontrés dans les études épidémiologiques de cette maladie est rattaché au manque de fiabilité diagnostique.

Des variations importantes dans le taux de prévalence de la maladie de Parkinson peuvent découler de l'emploi de différents critères diagnostiques, ce qui peut expliquer les variations géographiques relevées (Elbaz et Damier, 2004).

La technique préférée est basée sur une stratégie en deux temps, dans le cadre d'études d'une population générale :

- Dépistage d'un syndrome Parkinsonien pour tous les membres de la population ciblée, suivi, au besoin.
- Examen spécialisé pour la confirmation du syndrome et la recherche de la cause.

Les estimations de la fréquence de la maladie de Parkinson sont fondées sur d'autres techniques d'identification (prise de médicaments, certificats de décès, consultations hospitalières). Ces dernières ne sont pas très pertinentes et peuvent conduire à des sous-estimations plus ou moins importantes.

Le taux de prévalence de la maladie de Parkinson dans les pays occidentaux est estimé entre 100 et 200 cas pour 100 000 habitants. D'après les résultats de deux études européennes récentes, la maladie de Parkinson est rare avant 50 ans, sa prévalence augmente progressivement avec l'âge, passant de 0,6-0,8 % entre 65 et 69 ans à 2,6-3,5 % entre 85 et 89 ans (Elbaz et Damier, 2004).

En Afrique, le manque de moyens aussi bien humain (nombre limité de neurologues, physiothérapeutes et infirmiers qualifiés) que matériels (électroencéphalographies, électromyographies), sont autant de raisons pour des études épidémiologiques très incomplètes, comme le montre une enquête menée en 2005 auprès de 11 pays totalement dépourvus de services neurologiques (Bower et Zenebe, 2005). La conséquence directe de cet état de fait est une rareté des données épidémiologiques pour le continent africain. A cela vient s'ajouter la difficulté financière des populations pour un dépistage précoce de la maladie (Marieke *et al.*, 2020).

I.3.1. La prévalence et incidence de la maladie de Parkinson

Prévalence

La maladie de Parkinson existe dans tous les pays du monde, mais avec une prévalence très variable. Les valeurs rapportées s'étalent en effet de 10 à environ 200 cas/100000 habitants dans les études en population générale. Cela est notamment lié aux particularités méthodologiques des études de la maladie. Les plus basses valeurs de prévalence sont observées dans les pays en évolution, notamment en Afrique, et les plus hautes dans les pays développés (Blanckenberg *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont montré une prévalence plus importante de la maladie de Parkinson dans les populations blanches, indépendamment de l'espérance de vie. Les explications avancées reposent sur des susceptibilités biologiques ou génétiques différentes (van den Eeden *et al.*, 2003).

Dans les pays émergents comme la Chine, les choses semblent encore difficile à établir à ce

jour si les plus anciennes publications mentionnent une prévalence basse, les plus récentes se rapprochent des niveaux observés dans les pays développés (Ma CL *et al.*, 2014). Dans le reste de l'Asie, la prévalence de la maladie de Parkinson est chiffrée entre 36 et 177 cas/100000 habitants selon le diagnostic utilisé.

La prévalence dans les populations d'Europe et d'Amérique du Nord est de 1 à 3 % allant de 0,6 % entre 65 et 69 ans à 2,6 % entre 85 et 89 ans (Muangpaisan *et al.*, 2009). La prévalence de la maladie de Parkinson augmente avec l'âge, avec une croissance quasi exponentielle après 50 ans à 80 ans. Mais elle a tendance à diminuer après 85 ans et elle est plus élevée chez les hommes que chez les femmes (Wooten *et al.*, 2004). Le risque masculin a été confirmé par plusieurs recherches et études il pourrait être expliqué par des différences biologiques comme les hormones sexuelles ou par des gènes liés au chromosome X. D'autres hypothèses reposent sur des comportements culturellement différents entre les deux sexes, l'exposition différentielle à des facteurs de risque environnementaux (Gillies *et al.*, 2014).

Incidence

Elle est plus difficile à étudier que la prévalence. La maladie de Parkinson commence le plus souvent progressivement, avec un diagnostic souvent tardif. Elle suit les mêmes variations que la prévalence, allant de 1,5 à 26 cas pour 100000 habitants par an (Kasten *et al.*, 2007). Une méta-analyse réalisée en 2003 a indiqué une augmentation de l'incidence avec l'âge, de 1 à 3% avec un pic entre 70 et 79 ans puis une chute après 80 ans ce qui explique un diagnostic particulièrement difficile et très tardif (Bower *et al.*, 2000). La figure suivante (fig.1) représente l'évolution de l'incidence de la MP en fonction de différentes tranches d'âge. La différence entre les groupes devient plus prononcée dans la tranche 75 à 84 ans avec une incidence plus élevée chez les hommes que les femmes. Cependant, il a été retrouvé une chute du nombre de cas de la MP entre les hommes et les femmes chez le groupe d'âge 85 ans et plus. Ce phénomène s'explique tout simplement la mort des sujets (Shulman, 2007).

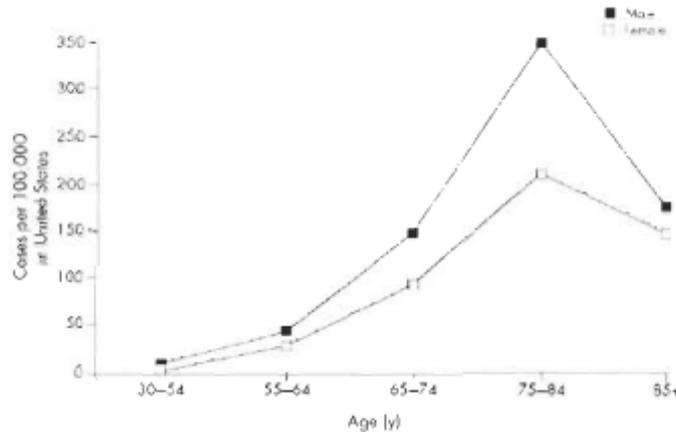


Fig.1. : Incidence de la maladie de Parkinson chez les hommes et les femmes non différents groupes d'âge (Shulman, 2007).

La race des individus influe aussi sur le nombre de cas de la MP. Actuellement c'est en Chine que la prévalence de la MP est la plus forte, tandis que l'incidence la plus forte se retrouverait en Italie (Rajput et Birdi, 1997).

Les études épidémiologiques montrent que l'environnement est considéré comme un facteur de risque à la maladie. Ce qui explique l'incidence de la maladie est en hausse chez les gens habitant en milieu rural, consommant l'eau de puits et en contact avec les pesticides et insecticides (Bonnet et Houeto, 1999).

Il semblerait aussi que les gens atteints du diabète de type 2 ainsi que ceux ayant subi un traumatisme crânien sont plus à risque de développer la MP (Vanitallie, 2008).

I.3.2. Les facteurs de risque

L'âge est le principal facteur de risque indiscutablement établi de la maladie de Parkinson. Le phénomène est toujours mal compris on évoque généralement un facteur intrinsèque lié au processus de vieillissement qui prédisposerait à la maladie ou encore une notion d'exposition cumulée suffisante à tel ou tel facteur externe ou dysfonctionnement génétique (Kiebertz et Wunderle, 2013).

-Facteurs environnementaux

Exposition aux pesticides

L'évaluation du lien entre une exposition aux pesticides et la survenue d'une maladie de Parkinson est très complexe c'est par ce que les pesticides regroupent de nombreuses substances avec des propriétés physico-chimiques différents. La plupart des études

épidémiologiques confirment que la prévalence et la mortalité liées à la maladie de Parkinson sont plus élevées dans les régions caractérisées par une forte utilisation de pesticides et une proportion élevée de surface traitée avec des insecticides (Ritz et Yu, 2000). Entre autres une étude française a rapporté que la survenue de la maladie de Parkinson est 1,2 fois plus élevée dans les territoires caractérisés par une forte densité en arbres fruitiers et cultures permanentes, synonyme d'utilisation intensive des insecticides (Moisan et al, 2011). Une relation dose effet entre le risque de maladie de Parkinson et le nombre de jours passés à utiliser des pesticides, avec un risque 2,3 fois plus élevé de la maladie (Kamel et al, 2007).

Plusieurs mécanismes sont envisagés pour expliquer la relation entre les pesticides et maladie de Parkinson. Une hypothèse a été émise au début des années 80 suite à l'apparition de plusieurs cas de syndrome parkinsonien parmi des toxicomanes qui s'étaient injecté par voie intraveineuse du 1-méthyle-4-phényl-1,2,3,6- tétrahydro pyridine (MPTP). Le MPTP est métabolisé en 1-méthyle-4-phenylpyridinium (MPP+) qui est un inhibiteur de la chaîne respiratoire mitochondriale et a des propriétés neurotoxiques sur les cellules dopaminergiques. Cette molécule a une structure chimique proche de celle du paraquat. Le paraquat est un herbicide non sélectif très largement utilisé dans le monde commercialisé depuis les années 60. Dont son utilisation a été interdite dans les pays membres de l'Union Européenne depuis 2007 (Langston *et al.*, 1983).

Le traumatisme crânien a également été envisagé parmi les facteurs de risque de maladie de Parkinson. Une méta-analyse publiée en 2013 a évalué cette association, concluant à un risque de maladie de Parkinson en cas d'antécédent de traumatisme crânien suite d'une perte de connaissance (Jafari *et al.*, 2013).

-Facteurs génétiques

Sir William Richard Gowers fut le premier à soupçonner une origine génétique de la MP en observant que 15% de ses patients présentaient une histoire familiale de MP. Aussi Plusieurs mutations de transmission autosomique récessive et autosomique dominante ont été identifiées (Gowers, 1893).

I.3.3. Les facteurs protecteurs

D'après le groupe d'experts ayant attribué des niveaux de preuve d'après les consignes de l'Institut de Médecine il existe des preuves suffisantes pour une association entre la MP et le tabagisme ou la consommation de café (Bronstein *et al.*, 2009).

Tabagisme

Une relation inverse entre la consommation du tabac et le risque de MP a été retrouvée dans de nombreuses études depuis plus de trente ans. Une analyse de 44 études cas-témoins et quatre études de cohorte retrouvent une diminution du risque de MP d'environ 40 % parmi les fumeurs ou les ex-fumeurs par rapport aux personnes n'ayant jamais fumé (Hernan et al, 2002).

Cette association est observée chez les hommes et les femmes. Plus récemment, une étude de cohorte cherche à distinguer le rôle respectif de la durée et l'intensité du tabagisme. Ce qui affirme dans cette relation c'est surtout la durée du tabagisme semblait plus déterminante que l'intensité il s'agit une relation inverse (Chen *et al.*, 2010).

Malgré ces résultats, une seule étude cas-témoins s'est intéressée au rôle du tabagisme passif, qui est moins susceptible d'être affecté par des facteurs génétiques, ou d'autres comportements (Mellick et al, 2006). Les mécanismes biologiques qui pourraient expliquer cette relation inverse tabac-maladie de Parkinson pose un problème intéressant d'interprétation. S'agit-il d'un rôle neuroprotecteur réel du tabac l'étude a montré que la monoamine oxydase B est inhibée dans le cerveau des fumeurs, ce qui pourrait contribuer à expliquer un effet protecteur du tabagisme sur les neurones dopaminergiques et alors l'augmentation de la libération de dopamine par la nicotine (Fowler *et al.*, 1996).

Une autre étude récente a montré que parmi cinq composés de la cigarette (anabasine, cotinine, hydroquinone, nicotine et nor nicotine), la nicotine et l'hydroquinone entraînent une inhibition marquée de l'agrégation de l' α -synucléine (Hong *et al.*, 2009).

Dernier élément intéressant dans cette association c'est que on n'observe aucun excès de mortalité chez les gros fumeurs parkinsoniens par rapport aux gros fumeurs non parkinsoniens ce qui suggérerait un réel rôle modificateur du tabac sur le cours évolutif de la maladie de Parkinson, même si la consommation tabagique n'a montré aucun bénéfice sur la symptomatologie parkinsonienne (Kasten *et al.*, 2007).

Consommation du café

La consommation de caféine semble également associée négativement au risque de maladie de Parkinson une diminution du risque de MP de 30 % parmi les consommateurs de café par rapport à ceux n'en consommant pas. Cette relation est indépendante du tabagisme et la diminution de risque est d'autant plus importante que le nombre de tasses de café consommées par jour augmente (Hernan MA *et al.*, 2002).

Une méta-analyse de huit études cas-témoins observe une diminution de risque de MP pour des participants ayant consommé plus de trois tasses de café par jour par rapport à ceux n'en ayant jamais consommé (Saaksjarvi *et al.*, 2008). La caféine et certains de ses métabolites (theophylline, paraxanthine) sont des antagonistes sur certains récepteurs de l'adénosine modulant la neurotransmission dopaminergique et des études *in vivo* ont démontré leur capacité à diminuer les effets neurotoxiques induits par le MPTP (Schwarzschild *et al.*, 2003). L'association entre la consommation de caféine et la MP a également été observée parmi les participants ne consommant pas de café mais consommant les sources de caféine principalement le thé et le cola (Ross *et al.*, 2000). De même, une étude chinoise montre une association entre le thé noir contenant de la caféine et la MP, tandis qu'il n'existait pas de relation avec le thé vert qui ne contient pas de caféine. (Tan *et al.*, 2008).

I.4. La neurophysiologie et l'étiopathogénie

La maladie de Parkinson touche une région bien précise du cerveau qui est la substance noire « Locus Niger » ; elle contient des neurones dopaminergiques qui sont responsables de la sécrétion d'un neurotransmetteur « La dopamine ». Les neurones dopaminergiques sont la cible majeure de la dégénérescence cellulaire causée par la maladie de Parkinson ce qui provoque un déficit en dopamine qui donne à son tour une hypersécrétion d'acétylcholine et de glutamate.

Cette hypersécrétion déclenche l'apparition des symptômes principaux de la maladie de Parkinson : le tremblement au repos et la rigidité des muscles ; de ce qu'il en est de la lenteur des gestes et le blocage lors de l'exécution de certains mouvements c'est à cause de la quantité insuffisante de dopamine.

Concernant le déclenchement de la maladie de Parkinson seulement des hypothèses ont été mises en place, aucune d'elle n'a été confirmée donc la cause de la dégénérescence des neurones dopaminergiques est à ce jour inconnu.

Cela dit l'hypothèse la plus fiable est celle de l'association des deux facteurs génétiques et environnementaux (agents toxiques, traumatismes crâniens, facteurs protecteurs).

Le mécanisme de la mort neuronale de la maladie n'est pas encore connu, la cause non plus. Même dans les cas familiaux ou de mutations identifiées, aucun lien moléculaire n'a été établi entre la mutation et la dégénérescence neuronale chez les patients.

Il est particulièrement difficile d'analyser le mécanisme de la mort neuronale dans la maladie de Parkinson car cette affection est hétérogène sur les plans génétique, clinique et neuropathologique.

Les syndromes parkinsoniens partagent un phénomène commun qui est la mort des neurones dopaminergiques mésencéphaliques à projection striatale, particulièrement localisés dans les nigrosomes (ilots de la substance noire pauvre en neuropile immuno-réactif pour la calbidine D-28k). Dans la maladie de Parkinson dite idiopathique, la dégénérescence des neurones est accompagnée d'une perte de neurones noradrénergiques dans le locus coeruleus, d'une sérotoninergique dans les noyaux du raphé, et d'une cholinergiques dans le noyau pédonculopontin et le télencéphale basal (Ruberg, 2000).

I.4.1. Le pliage anormal des protéines, agrégation et toxicité

Il est connu depuis toujours que pour être efficaces, les protéines doivent se plier en structure tridimensionnelle adaptée à l'activité fonctionnelle de celles-ci. Cela n'est pas toujours évident car l'environnement cellulaire n'offre pas toujours les conditions adéquates pour un renouvellement de protéines sans risque de modification structurale. De ce fait, les protéines nouvellement synthétisées courent le risque de pliage et d'agrégation aberrants, ce qui peut conduire à la formation de molécules toxiques.

Le pliage des protéines, l'intégrité du protéome et la protéostase (homéostasie des protéines) sont étroitement liés à un réseau complexe de chaperons moléculaires. Il est à noter que ces derniers sont des protéines qui aident d'autres protéines à assumer leur repliement tridimensionnel, nécessaire à leur fonctionnement. Les chaperons moléculaires utilisent des mécanismes complexes qui préviennent l'agrégation des protéines dont elles ont la charge et favorisent leur pliage de façon efficace. Cela nécessite donc une surveillance constante lors de la synthèse des protéines afin d'assurer l'homéostasie. Les troubles de la protéostase sont impliqués dans le vieillissement et la pathogénie de certaines maladies neurodégénératives. L'âge accélère la protéostase et favorise l'apparition de diverses maladies liées à l'agrégation des protéines comme la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer. Les progrès scientifiques récents visent à diminuer cette agrégation par des traitements adaptés (Hartl *et al.*, 2011).

Dans le cytoplasme, plusieurs chaperons moléculaires participent dans le pliage des protéines nouvellement synthétisées qui se produit lors de leur libération. Le système Hsp70 veille à prévenir contre tout mauvais repliement prématuré (Kim *et al.*, 2013).

S'il est connu de nos jours que le vieillissement accélère la neurodégénérescence et l'apparition d'autres maladies chroniques associées à l'agrégation des protéines, la nécessité de comprendre le réseau de protéostase permet de cibler l'utilisation de drogues adaptées à ces pathologies (Balchin *et al.*, 2016).

I.4.2. La protéolyse défectueuse

L'étude de la protéolyse (catabolisme des protéines) dans la maladie de Parkinson a démontré que :

Dans le syndrome parkinsonien la mutation du gène de l'alpha-synucléine est à l'origine d'un gain de fonction toxique et donc la réunion de l'alpha-synucléine en fibrilles insolubles.

Les mutations du gène de l'UCH-L1 est à l'origine d'une perte de fonction qui touche deux enzymes principales de la voie protéolytique ubiquitine-protéasome.

Les deux formes de la maladie de Parkinson sont causées par l'arrêt d'activité des voies de repliements et de dégradation des protéines (du a la présence de l'alpha-synucléine, UCH-L1 et de parkine dans le corps de lewy) (Corti et Brice, 2003).

I.4.3. La dysfonction mitochondriale

Les neurones sont des cellules hautement spécialisées, leurs fonctions physiologiques nécessitent de grandes quantités d'énergie. Les neurones dépendent fortement des mitochondries, qui leur fournissent l'énergie pour ces fonctions, sous forme d'ATP. D'un autre côté, la mitochondrie est la principale source cellulaire de radicaux libres, ses dysfonctions représentent une cause majeure de stress. Si dans les cellules mitotiques, les effets délétères des dysfonctions mitochondriales endommagent irréversiblement les neurones, Il n'est donc pas surprenant qu'un lien étroit existe entre la dysfonction mitochondriale et plusieurs maladies neurodégénératives (fig.2) (Schon et Przedborski, 2011).

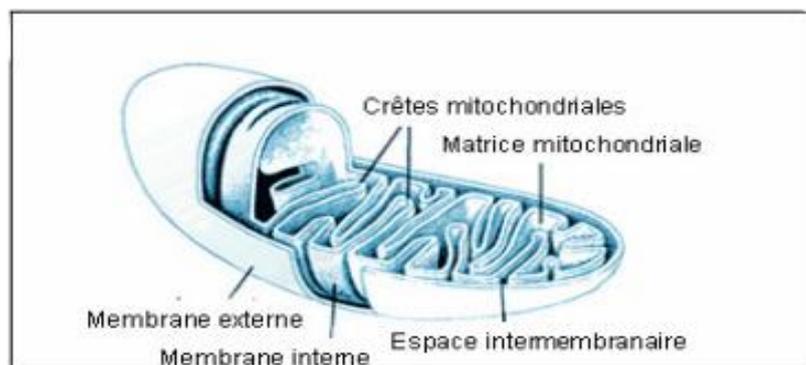


Fig.2. Structure de la mitochondrie (Schon et Przedborski, 2011).

La production d'énergie dans la mitochondrie a lieu, par le processus de la phosphorylation oxydative. La chaîne respiratoire mitochondriale est constituée d'un ensemble de cinq complexes multiprotéiques et deux transporteurs liposolubles (le Coenzyme Q et le cytochrome C).

Complexe I, Co I ou NADH déshydrogénase- ubiquinone oxydoréductase

Complexe II, Co II ou Succinate - ubiquinone oxydoréductase

Complexe III, Co III ou ubiquinone-cytochrome c oxydo-réductase

Complexe IV, Co IV ou cytochrome C oxydase

Complexe V, Co V ou ATP synthétase

Plusieurs aspects de la physiologie mitochondriale ont été trouvés altérés chez les patients atteints du parkinson comme les défauts de la phosphorylation oxydative. La recherche d'anomalies mitochondriales chez les patients Parkinsoniens s'appuie sur l'apparition d'un syndrome Parkinsonien chez les sujets utilisateurs de drogues illicites contaminées par la 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) ou de pesticides (paraquat) (Tanner, 1989, Betarbet *et al.*, 2000).

Maintenant, il est reconnu que ces substances agissent comme de puissantes toxines inhibant la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau du Co I qui vont causer la maladie (Panov *et al.*, 2005 ; Vila et Przedborski, 2003).

D'autres chercheurs ont montré que, dans le SNC, les niveaux d'expression des protéines du Co I sont diminués (Schapira *et al.*, 1990 ; Hattori *et al.*, 1991).

Cependant l'augmentation du stress oxydant peut endommager l'ADN mitochondrial et par conséquent augmenter le taux de mutations spontanées, et modifier directement l'activité des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale, dont plusieurs auteurs ont exploré la

présence d'altérations de l'ADN mitochondrial chez les patients atteints de MP (Vives-Bauza *et al.*, 2010 ; Bender *et al.*, 2006).

On assiste aussi à des anomalies mitochondriales causées par l'alpha-synucléine mutée, dont l'accumulation au niveau de la membrane interne des mitochondries a été observée dans le striatum des patients atteints de MP (Devi *et al.*, 2008). Cette accumulation s'associe à un défaut spécifique du Co I de la chaîne respiratoire mitochondriale.

I.4.4. Le stress oxydatif

L'oxygène est essentiel à la vie humaine, sans lui, nous ne pouvons pas survivre. Toutefois l'oxygène est également impliqué dans des réactions toxiques et constitue par conséquent, une menace pour le bien-être de l'individu.

Le stress oxydant joue un rôle important dans la mort des neurones dopaminergiques et dans plusieurs autres maladies neurodégénératives (Gutteridge, 1993). Cet état de stress résulte d'une production excessive de ROS ou radicaux libres (RL) tels que l'O₂ et l'OH, et d'une diminution de la capacité des défenses antioxydantes de l'organisme. Donc le faible impact des défenses antioxydantes face à la surproduction d'espèces extrêmement réactives provoque une mauvaise inhibition des RL (Fig.3) (Fukui et Moraes, 2008).

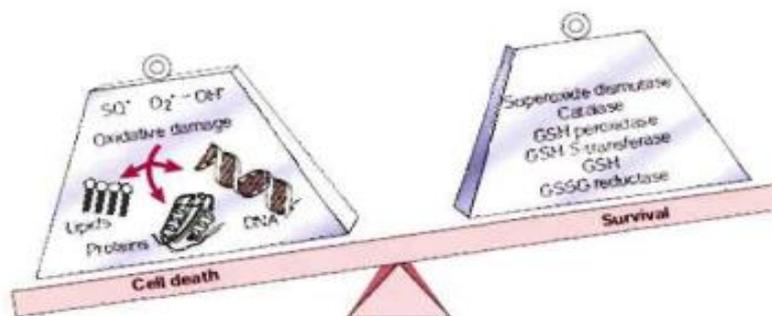


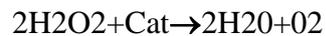
Fig.3. Représentation schématique du déséquilibre entre les ROS causant le stress oxydant et les défenses antioxydantes du corps. (Lotharius and Brundin, 2002).

Les RL sont des espèces extrêmement réactives. L'absence d'électrons rend ces molécules très instables en réagissant avec des composants cellulaires (ADN, ARN et protéines). Les RL proviennent de deux sources, peuvent être produits de façon naturelle par le corps ou ils sont essentiels au bon fonctionnement du métabolisme ou bien d'une façon externe ce qui crée un déséquilibre interne. Chez les Parkinsoniens, certaines enzymes antioxydantes présentent une réduction de leurs activités, ce qui contribue à la forte présence d'espèces réactives (Schulz

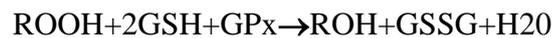
et al., 2000). Ces enzymes interviennent comme une barrière naturelle contre l'effet néfaste, des enzymes qui neutralisent les radicaux libres. Il s'agit de la catalase (Cat) et de la glutathion peroxydase (GPx), les Superoxydes Dismutases (SODs, cytosolique et mitochondriale). La SOD possède une activité antioxydante très effective. La réaction suivante illustre celle catalysée par la SOD.



La Cat se retrouve principalement dans les peroxysomes et elle possède un métabolisme très élevé. C'est une enzyme catalysant la décomposition de l'eau oxygénée en eau et en O₂ par la réaction chimique suivante.



La GPx se retrouve essentiellement sous deux formes. Cette enzyme décompose les peroxydes organiques, avec l'aide du glutathion, en eau (Landis et Tower, 2005).



Dans la maladie de Parkinson, il y a la présence d'altérations au niveau des défenses (enzymes) antioxydantes suite à l'influence de différentes toxines (MPP⁺ et peroxyde d'hydrogène) qui vont créer une diminution de la Cat et de la GPx (Tsai et Yin, 2008). De plus ces recherches sont conformes à la baisse en Cat dans le SNC de patients Parkinsoniens. D'autres études immuno-histochimiques ont montré que la GPx est presque totalement absente dans le SNC des patients Parkinsoniens (Kunikowska et Jenner, 2003). Tandis que des études conduites en post-mortem sur des cerveaux des patients atteints de MP ont révélé l'augmentation des taux de peroxydation des lipides et de l'oxydation de protéines et d'ADN au niveau de la SN (Zhang et al, 1999). Au cours de la MP, le défaut sélectif du complexe I de la chaîne mitochondriale pourrait engendrer une excessive production de EROs (Parker *et al.*, 2008). D'autres facteurs pouvant être altérés, comme un contenu élevé en dopamine et en des produits de son métabolisme, en fer au niveau du SN peut expliquer la mort neuronale dans la MP (Jenner *et al.*, 2003) ont été observés, par conséquent la dopamine est chimiquement instable et subit une auto-oxydation, ce qui va conduire à la mort des neurones dopaminergiques (Scherman *et al.*, 1989).

I.4.5. Le métabolisme du fer

Le fer est présent dans toutes les cellules de l'organisme. Il est nécessaire à toute forme de vie. Il intervient dans la constitution de l'hémoglobine, de la myoglobine et d'enzymes. Dans

l'organisme, le fer existe sous deux formes le fer hémérique et le fer non hémérique. Le fer ferrique (Fe^{3+}) (non hémérique) doit être réduit en fer ferreux (Fe^{2+}) (hémérique). Cette réduction est effectuée par une enzyme la ferri-réductase duodénale (DCYTB [Duodenal Cytochrome B]) localisée dans les bordures des entérocytes (McKie AT *et al.*, 2001). Le fer passe dans la circulation grâce à la ferroportine (FPN). L'export du fer par la FPN nécessite une activité ferroxydase, assurée par 2 enzymes la céruloplasmine et l'héphaestine. Il est pris en charge dans le plasma par la transferrine, une protéine de liaison abondante, de haute affinité et capable de neutraliser la réactivité du fer et le transporte essentiellement aux organes utilisateurs (moelle osseuse, muscles, foie) mais aussi aux réserves (ferritine éthémossidérine) (Abboud S *et al.*, 2000). Une autre forme de fer existe dans la circulation, il s'agit du fer non lié à la transferrine (NTBI [Non-Transferrin Bound Iron]). Dans toutes les cellules, le fer non utilisé est stocké (réserves) sous une forme non réactive, grâce à la ferritine par des chaperons cytoplasmiques, tels que la PCBP1 (Poly (rC)-Binding Protein 1) (Shi, Bencze *et al.*, 2008).

Maintenant, comment peut-on expliquer la relation entre le contenu du fer et la MP ? ils ont démontré une augmentation significative du contenu en fer chez des patients en stade avancé de la maladie (Riederer *et al.*, 1989). L'augmentation du fer dans le SNC est une conséquence de la mort neuronale et la substitution de ces neurones par des cellules à forte concentration en fer. De plus, la hausse de fer pourrait s'expliquer par une défaillance de la barrière hémato-encéphalique (BHE) qui permet un grand passage de fer au cerveau (Zecca *et al.*, 2004). Finalement, un polymorphisme dans le gène de la transferrine serait aussi responsable de l'augmentation du fer dans le cerveau (Borie *et al.*, 2002).

I.4.6. Les mécanismes inflammatoires et immunologiques

L'intervention de plusieurs mécanismes a été découverte, dont l'inflammation. En effet le système immunitaire inné a sa part de responsabilité dans la dégénérescence neuronale dans le plexus.

Lors de certaines recherches, il a été dédicié que la neurotoxine 1-méthyl-4-phényl-1, 2,3,6-tétrahydropyridine engendre une réponse ainsi qu'une carence en immunité innée (Salthun-lassalle, 2016).

I.5. Diagnostic de la maladie de parkinson

Le diagnostic clinique repose principalement sur la présence de symptômes moteurs (Postuma *et al.*, 2015). Néanmoins, le processus neurodégénératif cellulaire sous-jacent commence bien

avant l'apparition des symptômes moteurs, et des changements cognitifs peuvent survenir au cours de ces phases de neurodégénérescence (Postuma et Berg, 2019).

Dans certains cas, des examens complémentaires, tels que les examens biologiques sanguins ou des examens d'imagerie cérébrale, peuvent être effectués pour éliminer d'autres causes. Le diagnostic de maladie de Parkinson n'est confirmé qu'après plusieurs mois d'évolution lorsqu'une amélioration est observée sous traitement.

De nos jours, le diagnostic de la maladie de Parkinson s'appuie sur des données cliniques, épidémiologique, et fonctionnelles. La réponse à la dopamine et l'évolution des fluctuations motrices sont deux critères essentiels dans le diagnostic.

-différence entre les signes cliniques précoces et tardifs :

Les troubles de la démarche ainsi que la rigidité musculaire et la bradykinésie ne sont pas des signes précoces chez les patients atteints de la maladie de Parkinson.

A l'opposé les tremblements au repos sont généralement relevés de façon précoce chez les patients (Rizek *et al.*, 2016).

L'imagerie en général, et la résonance magnétique (IRM) en particulier est un moyen très utilisé dans le diagnostic de la maladie de Parkinson

De nombreuses variantes de l'imagerie (neuro-imagerie, échographie doppler, tomographie, tomodensitométrie) sont autant de moyens technologiques permettant une meilleure approche diagnostique de la maladie de Parkinson (Gonzalez-Latapi *et al.*, 2021).

I.5.1. Les aspects cliniques et la maladie de Parkinson

Les aspects cliniques de la maladie de Parkinson reposent principalement sur les symptômes relevés chez les patients.

La maladie de Parkinson est une pathologie chronique, à évolution lente et progressive, difficile à identifier au début, et se développant de façon intermittente.

Les signes sont d'abord unilatéraux (droit ou gauche), puis évoluent avec le temps pour devenir bilatéraux. Ceci dit, ils restent toujours asymétriques quant à l'intensité des symptômes.

En ce qui concerne les symptômes moteurs, la maladie se caractérise par l'association des trois symptômes du syndrome Parkinsonien: **tremblement, akinésie (lenteur des mouvements) et rigidité**. La présence des trois symptômes en même temps n'est pas obligatoire. Leur intensité peut être également différente. Par ailleurs d'autres symptômes (état dépressif, fatigue, troubles digestifs) sont souvent associés.

Pour ce qui est des signes non moteurs, ces derniers se résument à des déficiences cognitives légères pouvant aller jusqu'à la démence (Gonzalez-Latapi *et al.*, 2021), voire des manifestations psychiatriques beaucoup plus graves telles que la dépression (Marsh, 2016).

I.5.1.1. Les symptômes moteurs

-Le tremblement de repos

Celui-ci apparaît lorsque le patient a les muscles totalement relâchés, et disparaît lors du mouvement. Ce tremblement est lent et affecte principalement les membres supérieurs (bras ou mains). Le patient donne l'impression d'émietter du pain ou de compter de la monnaie.

Il peut également affecter les lèvres et le menton. Ce tremblement est intermittent (il apparaît ou disparaît selon les moments). Le tremblement de repos n'est pas systématique chez tous les patients atteints de la maladie de Parkinson. (Friedman, 1994).

-L'akinésie ou lenteur dans les mouvements

Il est noté une lenteur et incoordination motrice. Cela a une influence incontournable sur les activités quotidiennes de la vie courante :

- ralentissement de la marche, petits pas, balancement moins remarquable des bras.
- difficultés à se lever d'une chaise ou à se retourner dans son lit.
- visage figé et clignement des paupières moins fréquent.
- voix affaiblie.
- Difficultés de réalisation de mouvements précis (fermer sa chemise, écrire...).

-La rigidité des mouvements ou hypertonie

Elle est due à une tension exagérée des muscles. Elle conduit à une raideur musculaire qui peut être douloureuse. Tous les muscles du corps peuvent être touchés, mais avec une prédominance des muscles de la colonne vertébrale, ce qui donne une position penchée vers l'avant. (Friedman, 1994).

I.5.1.2. Les symptômes non-moteurs

Comme décrit auparavant, la maladie de Parkinson est la deuxième maladie neurodégénérative la plus fréquente. Les principaux symptômes cliniques sont surtout des symptômes moteurs qui découlent de la perte de neurones dopaminergiques. Néanmoins, il existe des symptômes non moteurs tels que des signes psychiatriques (dépression, anxiété, hallucinations, délire, apathie) et de comportements (impulsifs et compulsifs, troubles cognitifs) (Ji Won Han *et al.*, 2018).

-La dépression

Sur le plan épidémiologique, La prévalence de la dépression chez les patients Parkinsoniens est d'environ 35%, quant à la dépression mineure, elle n'affecte que dans 18% des cas. Cette prévalence varie selon les critères de diagnostic utilisés (Aarsland et Kramberger, 2015).

La dépression chez les patients Parkinsoniens se caractérise généralement par une apathie, des symptômes somatiques et neurovégétatifs, tels que la fatigue, le manque de concentration, l'insomnie, etc (Torbey *et al.*, 2015).

Les symptômes dépressifs chez les patients peuvent apparaître selon différentes formes de gravité, de chronicité et d'étiologie. Les troubles dépressifs agissent négativement sur la qualité de vie. Les risques de suicides sont importants lors des situations graves.

Les connaissances des données physiopathologiques de la dépression dans la maladie de Parkinson restent limitées. Cependant, des études cliniques montrent l'efficacité de certains médicaments et psychothérapies, ce qui justifie l'importance de leur détection précoce (Marsh, 2016).

-L'anxiété

Signe clinique insidieux, pas nécessairement lié à la maladie de Parkinson. Elle représente un signe subclinique. Elle touche jusqu'à 60% des patients. Elle apparaît dans la phase précédant l'apparition des signes moteurs.

Elle peut aussi apparaître sous forme d'une anxiété généralisée avec des symptômes somatiques, des crises d'angoisse, agoraphobie (trouble mental et comportemental) et isolement social (Schapira *et al.*, 2017).

-Psychose

Celle-ci se manifeste surtout par des hallucinations à prédominance visuelle (délires). Il est difficile de distinguer certaines formes de psychose (Parkinsoniennes, d'origine médicamenteuse, ou combinée).

Les premiers symptômes apparaissent sous forme d'hallucinations de passage ; dont la plus fréquente étant une hallucination de personnes, d'animaux ou d'objets inanimés. Lors des premiers stades, les malades sont conscients de ce qu'ils voient. Aux stades avancés, la psychose se décline sous forme non visuelle accompagnée de délire. (Aarsland et Kramberger, 2015).

Le délire peut apparaître sous différentes formes telles que la culpabilité, l'estime de soi, la religiosité, la jalousie... 22% à 38% des patients Parkinsoniens présentent des hallucinations visuelles, pouvant être accompagnés de signes auditifs.

Le déclin cognitif représente un facteur de risque important de l'apparition de psychose dans la maladie de parkinson. La psychose augmente le risque de démence (Fytche *et al.*, 2017).

-Apathie / Anhédonie

L'apathie est définie comme étant une perte de motivation non liée aux trois aspects suivants (détresse émotionnelle, déficience intellectuelle, ou diminution du niveau de conscience). (Lanctôt *et al.*, 2017).

L'anhédonie se présente comme étant une capacité d'éprouver du plaisir, ou une perte d'intérêt. L'anhédonie et l'humeur dépressive sont les deux principaux symptômes recherchés lors du diagnostic d'un trouble dépressif (Kaji et Hirata, 2011).

La prévalence de l'apathie dans la maladie de parkinson se situe entre 16,5% et 40%, et peut apparaître au stade précoce de la maladie.

La moitié des patients apathiques ne souffrent pas de dépression concomitante ou de déficience cognitive, L'apathie est généralement associée à la fatigue.

Il a été démontré que l'apathie chez les patients traités à un stade précoce était associée à des symptômes moteurs plus graves, un état cognitif plus mauvais et une faible qualité de vie. (Aarsland et Kramberger, 2015 ; Drijgers, 2010).

L'échelle d'évaluation de l'apathie s'articule autour de quatre signes cliniques : la curiosité, l'initiation à l'action, l'émotion et la conscience de soi.

-Trouble du contrôle des impulsions (TCI)

La prévalence déclarée du trouble du contrôle des impulsions fluctue entre 35,9 % et 60 % (Aarsland et Kramberger, 2015). Des études récentes sur des patients Parkinsoniens menés sur 5 années ont montré que le délai de l'incidence cumulée du TCI est d'environ 46%.

Les symptômes du TCI se sont révélés compulsifs, tels que le jeu, l'achat, le comportement sexuel, la créativité et l'alimentation. Cela représente l'une des causes essentielles d'orientation vers le service psychiatrique, car cela peut mener vers de graves problèmes financiers, juridiques ou psychosociaux (Corvol *et al.*, 2018).

-La démence

Ce signe est présent dans plus de 80% des cas atteints de Parkinson. Cette démence peut être mixte corticale et sous-corticale. Elle se manifeste par un dysfonctionnement frontal et visio-spatial.

Chez les Parkinsoniens, le risque de démence est 5 à 6 fois plus élevé que chez les sujets sains. Sa prévalence augmente avec l'âge (Shapira *et al.*, 2017).

Les manifestations de la démence se caractérisent par des signes mixtes (sous corticaux et corticaux).

Les premiers se déclinent par une bradyphrénie et une mémoire de travail affectée. Les seconds se caractérisent par des troubles de la mémoire et des troubles de langage.

La démence est souvent associée à des troubles comportementaux à des prévalences diverses, tels que la dépression (58%), anxiété (49%), hallucination (44%), apathie (54%), désinhibition et irritabilité (Aarsland *et al.*, 2007).

Le déclin de la mémoire n'est pas nécessairement le premier signe clinique. De ce fait, le diagnostic de la démence peut être tardif (Emre *et al.*, 2007).

En conclusion de tous les signes évoqués plus haut, nous pouvons retenir que l'identification, l'évaluation, le traitement et la prise en charge des signes psychiatriques dans la maladie de parkinson peuvent exiger une démarche globale et pluridisciplinaire basée sur un modèle Bio-Psycho-Social (Engel, 1980).

I.5.1.3. Les signes neurovégétatifs

Il est connu que la maladie de parkinson se caractérise par une dégénérescence des structures neuronales (partie extrapyramidale) associées à des troubles neurovégétatifs en général, et ceux responsables de dysfonctionnements sexuels et sphinctériens vésicaux en particulier. D'autres signes neurovégétatifs sont notés lors de la maladie de parkinson. Nous citerons entre autres la synthèse d'auto-anticorps dirigée contre les structures sympathique, l'hypotension orthostatique, la dysautonomie cardio-vasculaire.

-Synthèse d'auto-anticorps

Emile *et al* en 1980 ont réalisé une étude sur 85 patients Parkinsoniens et ont constatés que 66% d'entre eux, développaient ce type d'anticorps, alors que ce taux n'était que de 20% chez le lot témoin. La fréquence de cette apparition était plus précoce chez les patients atteints depuis longtemps. Il est noté en plus une hypotension orthostatique chez les sujets vieux (Emile *et al*, 1980).

-Hypotension orthostatique

Des travaux menés récemment ont tenté d'établir une corrélation entre la dysautonomie cardio-vasculaire et l'hypotension orthostatique chez les patients atteints de la maladie de Parkinson. Sur un échantillonnage de 185 sujets, 52 malades (soit 28%) ont montré un lien entre ces deux signes neurovégétatifs cités (Cicero *et al.*, 2019).

-Troubles sphinctériens vésicaux

Selon la progression de la maladie, ce type de troubles survient dans 30 à 90% des cas. L'hyper-réflexie de la vessie est la conséquence d'une levée d'inhibition causée par le déficit en dopamine. Il en résulte une irritation qui peut conduire à une incontinence urinaire.

Par ailleurs, l'hyperactivité vésicale ne conduit pas nécessairement à une augmentation du débit urinaire. Sur le plan médicamenteux, le traitement est basé sur l'emploi d'anticholinergiques. Cela n'est pas sans risque de provoquer une hypotension artérielle. L'indication chirurgicale prostatique doit être murement réfléchi, et les risques d'incontinence post-chirurgicale ne sont pas à écarter (Soler *et al.*, 2004).

-Dysautonomie cardio-vasculaire

L'altération des cellules nerveuses du système sympathique conduit à un dysfonctionnement cardiovasculaire très répandue chez les Parkinsoniens. L'une des conséquences majeures de ce dysfonctionnement est l'hypotension orthostatique. D'autres symptômes tels que la modification de la fréquence cardiaque et des paramètres de l'électrocardiogramme (ECG) peuvent apparaître aux stades précoces et tardifs de la maladie. En général les Parkinsoniens ont une activité parasympathique nettement diminuée et une activité sympathique augmentée. Ces troubles augmentent le risque de lésion cardiaque (tachycardie et vasoconstriction) (Cuenca-Bermejo *et al.*, 2021).

I.5.1.4. Les autres signes rencontrés dans la maladie de Parkinson

En dehors des signes cliniques de la maladie de parkinson décrits antérieurement (signes moteurs, non moteurs et neurovégétatifs), on peut noter d'autres signes cliniques non caractéristique tels que:

- une baisse des capacités de la mémoire.
- des troubles de l'attention.
- un ralentissement de la pensée.
- des troubles du sommeil (rêves agités).
- Une perte de motivation voire un état dépressif (chez 50% des patients).

Par ailleurs, d'autres signes peuvent apparaître lors de l'évolution de la maladie mais n'y sont pas associés régulièrement :

- une fatigue importante.
- une somnolence.
- une diminution de l'odorat.
- une constipation.
- un amaigrissement.
- des troubles de la déglutition. (Friedman, 1994).

I.5.2. La classification des patients en fonction de la forme clinique

La maladie de Parkinson est une affection à évolution lente et progressive. Parmi la population, 67 (64,42%) avaient une maladie de Parkinson idiopathique et 37 cas (35,47%) présentaient un syndrome parkinsonien secondaire ou atypique.

Les premiers signes restent le plus souvent peu évocateurs : fatigabilité, crampes, douleurs diverses chez les patients (Tolosa *et al.*, 2009). Les patients peuvent présenter des symptômes moteurs: une akinésie, une hypertonie musculaire, un tremblement).

Le patient peut également présenter une forme clinique dite un **syndrome dépressif**, des troubles génito-urinaires, des troubles de la mémoire ou de la reconnaissance des objets, voire des troubles cardiaques.

Aussi les formes inaugurales : forme asthénique, forme avec une dépression inaugurale, forme pseudo-rhumatologique avec des douleurs, et forme dystonique chez le sujet jeune beaucoup plus.

Les formes familiales sont rares et représentent environ 10 % des patients de maladie de Parkinson d'origine génétique.

Parmi ces dernières, les plus fréquentes sont : une forme de transmission autosomique dominante appelée PARK1, liée à une mutation sur le gène (chromosome 4) de l' α -synucléine, une forme de transmission autosomique récessive (PARK2), par mutation d'un gène (chromosome 6) qui code une protéine de fonction inconnue, la « parkine ». (Huisman *et al.*, 2004 ; Lücking *et al.*, 1998).

I.5.3. Les critères diagnostiques de la maladie de parkinson

Pour le diagnostic de la maladie de Parkinson, les critères les plus utilisés depuis 20 ans, proposaient un diagnostic clinique classique en trois étapes : diagnostic du syndrome parkinsonien, recherche de critères d'exclusion, puis mise en évidence de critères évolutifs positifs. Aujourd'hui, Le diagnostic de maladie de Parkinson se base sur de nouveaux critères cliniques, la triade bradykinésie, tremblement de repos et rigidité sensible aux traitements dopaminergiques, associée à des fluctuations et des dyskinésies (Defebvre et al., 2017).

II. Les aspects génétiques de la maladie de Parkinson

II.1. La maladie de Parkinson héréditaire

La maladie de Parkinson est-elle héréditaire ?

Dans la maladie de Parkinson, seuls 15% des malades ont des antécédents familiaux. Les recherches récentes proposent une combinaison de facteurs à la fois génétiques et environnementaux pouvant être à l'origine.

Les causes génétiques ont été évoquées depuis de longtemps. L'avènement de la biologie moléculaire a apporté une contribution non négligeable à la mise en évidence de plusieurs mutations responsables de formes familiales de maladie de Parkinson (Thobois, 2002).

Plusieurs gènes sont impliqués dans cette maladie, et les chercheurs ne cessent d'étudier de nouvelles mutations. Nous citerons en exemple quelques gènes associés à la maladie tels que ceux de la Glucocérébrosidase (GBA), la LRRK2, la PARK2 (Parkin).

Les facteurs génétiques contribuent au risque de l'apparition de la maladie de Parkinson, à la fois sporadique et familial.

En 2011, des études ont permis le séquençage de l'exome qui a été identifié (VPS35) comme étant un gène supplémentaire impliqué dans l'apparition tardive de la maladie familiale (Zimprich *et al.*, 2011 ; Vilarino-Güell *et al.*, 2011).

Il est probable que les facteurs génétiques impliqués dans l'apparition de la maladie comprennent à la fois des variants génétiques à fort effet ainsi que des variants à effet plus faible qui participent à l'apparition de la maladie. La nécessité d'étudier de façon plus approfondie les différentes altérations génétiques impliquées dans la maladie s'impose pour mieux comprendre la pathogénie de Parkinson et ainsi de donner plus d'options de traitements plus spécifiques (Schulte *et al.*, 2014).

Les formes autosomiques sont réparties en plusieurs formes entre récessives et dominantes.

II.2. La maladie de Parkinson idiopathique

La maladie de Parkinson idiopathique est une affection neurodégénérative de cause inconnue caractérisée par des déficiences motrices. Elle est due à une diminution des concentrations en dopamine dans le striatum, liée à la perte des neurones dopaminergiques de la substance noire associées ou non à des complications non motrices (Beyer *et al.*, 1995). Si la maladie de Parkinson touche principalement la motricité, la plupart des patients Parkinsoniens perdent du poids d'autant plus important que le patient Parkinsonien a un stade évolué de la maladie (Cheshire et Wszolek, 2005). Cette perte de poids apparaît avant même que la maladie ne se

déclare sur le plan symptomatique (Chen *et al.*, 2003 ; Markus *et al.*, 1993). Un dysfonctionnement de l'hypothalamus, centre régulateur du métabolisme énergétique, pourrait jouer un rôle déterminant dans ce phénomène. A l'inverse, l'utilisation de la stimulation cérébrale profonde des noyaux sub-thalamiques comme traitement reconnu fiable et efficace pour les formes avancées de la MPI permet de réduire la sévérité des symptômes moteurs de la maladie mais s'accompagne d'une prise de poids rapide et importante, parfois même d'une obésité (Derost *et al.*, 2007).

II.3. Les facteurs génétiques impliqués dans la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson peut être causée par des facteurs génétiques et environnementaux, qui peuvent affecter 13 loci et 9 gènes.

Après avoir établi l'arbre généalogique (d'une famille prédisposée à la MP) ou un pedigree. On détermine le mode de transmission. :

-Autosomique dominant ou récessif.

Une confirmation du diagnostic est réalisée par l'analyse de panels de gènes correspondant à chaque mode de transmission chez les sujets suspects (Defebvre, 2010).

II.3.1. Les gènes responsables des formes autosomiques dominantes

Les premières mutations ont été mises en évidence sur le gène PARK1 sur ces formes. Par contre, elles sont, beaucoup plus rares que les formes récessives.

On en distingue :

PARK 1

Cette forme a été décrite en 1990 chez une grande famille italo-américaine. Ensuite, d'autres familles ont été atteintes de la même forme, mais cette mutation reste rare.

Les symptômes cliniques apparaissent vers 45 ans, caractérisés par une démence, mais rarement accompagnés de tremblements. Cette forme évolue rapidement vers la mort (environs 9 ans). Le patient réagit bien à la dopa au début.

Néanmoins, le tableau clinique peut être très variable (myoclonies, hypotension, incontinence urinaire, hypoventilation d'origine centrale).

Les lésions relevées sur le plan histologique s'apparentent à celles de la maladie de Parkinson avec présence du corps de Lewy.

Génétiquement, la transmission est autosomique dominante et la mutation a été repérée sur le gène PARK1 du chromosome 4 codant pour une protéine appelée l' α -synucléine.

Le rôle de cette protéine, très présente dans les corps de Lewy, est mal connu. L' α -synucléine est également retrouvée dans d'autres affections neurodégénératives (maladie de Parkinson idiopathique, maladie d'Alzheimer, atrophies multi systématisées, sclérose latérale amyotrophique...) mais avec une topographie lésionnelle différente (Thobois, 2002).

PARK 3

Depuis déjà plusieurs années, un locus situé sur le chromosome 2 appelé PARK3, a été mis en évidence chez plusieurs familles européennes.

Cette forme apparaît vers 60 ans et s'apparente phénotypiquement à la maladie de Parkinson. Histologiquement, il est décelé des corps de Lewy mais aussi la présence de plaques neurofibrillaires et de plaques amyloïdes (Thobois, 2002).

PARK 4

Les symptômes cliniques des patients atteints par cette forme sont similaires à ceux relevé chez les parkinsoniens.

L'apparition de cette forme est plus précoce (34 ans de moyenne) avec une bonne réponse à la dopa. Les patients perdent du poids et sont de moins en moins autonomes, et une démence d'évolution rapide s'installe.

La dégénérescence nigrale, la présence de corps de Lewy, de vacuoles dans l'hippocampe et d'autres régions du cerveau, sont les principales trouvailles en histologie.

La mutation de cette forme se situe sur le chromosome 4 en 4p15 (Thobois, 2002).

PARK 8

Cette forme a été décrite pour la première fois en 1978 chez une famille japonaise. Il s'agit du dernier locus identifié concernant ces formes autosomiques dominantes de maladie de Parkinson.

Cliniquement, les symptômes de cette forme apparaissent vers l'âge de 51 ans, la réponse à la L-dopa est bonne. Il n'y a pas de corps de Lewy. Le locus a été identifié en position 12p11.2-q13.1. (Thobois, 2002).

II.3.2. Les gènes responsables des formes autosomiques récessifs

PARK 2

Le Japon a été le premier pays où a été décrite cette forme avant de devenir cosmopolite. Sur le plan clinique, la pathologie se manifeste avant 30 ans et parfois même avant (formes juvéniles). En plus des trois signes caractéristiques de la maladie de Parkinson, certaines données sémiologiques telles que la dystonie focale, des réflexes ostéo-tendineux vifs, un

bénéfice majeur du sommeil et une grande dopasensibilité avec apparition précoce de dyskinésies. La symptomatologie parkinsonienne est symétrique en général.

Sur le plan histologique, on relève une absence du corps de Lewy associé à une dégénérescence nigrostriée massive.

Génétiquement, il a été prouvé que ce sont les **mutations d'un gène situé sur le bras long du chromosome 6** qui sont à l'origine de cette forme autosomique récessive. Ce gène code pour une protéine nommée **Parkin**.

Métaboliquement, on retrouve la 18F-dopa, et ce en utilisant la tomographie grâce à un marqueur présynaptique de la voie dopaminergique nigrostriée. Le mode d'action de la protéine Parkin reste à nos jours inconnu, mais il semblerait qu'elle ait un rôle de dégradation des substrats spécifiques, peut-être, impliquées dans le transport de substances entre le cytoplasme et les synapses (Thobois, 2002).

PARK 6

Des travaux ont révélé chez une famille sicilienne un nouveau locus qui n'implique pas une mutation du gène codant pour la protéine Parkin.

A ce propos, 50% environ des formes autosomiques récessives ne sont pas lié à ce gène. Il s'agit d'un locus situé sur le chromosome 1.

Les formes cliniques se manifestent à partir de l'âge de 35 ans, avec les signes caractéristiques de la triade parkinsonienne asymétrique, associée à des réflexes ostéo-tendineux parfois vifs, et une bonne dopasensibilité. On note aussi des mouvements désordonnés qui apparaissent assez tôt et évoluent lentement (Thobois, 2002).

PARK 7

La symptomatologie clinique de cette forme est presque identique à celle relevée chez les patients atteints de la forme PARK 6 (21). Cette forme apparait en moyenne à l'âge de 32 ans.

Les patients réagissent bien à la dopa et celle-ci retarde la progression de la maladie.

Dans certains cas, d'autres symptômes ont été rapportés tels que des troubles psychiatriques et de comportement.

La mutation est située sur le chromosome 1p36, mais le gène reste inconnu. (Thobois, 2002).

II.4. Le gène LRRK2 (PARK8)

II.4.1. Identification et localisation génomique du gène LRRK2

Ces dernières années, un nouveau gène responsable de la maladie de Parkinson a été découvert, c'est le gène LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2) qui code pour la dardarine. Les

mutations de ce gène sont les plus fréquentes dans la maladie de Parkinson (PARK8) (Gandhi *et al.*, 2008).

La découverte du locus du gène LRRK2 a été faite en 2002 au Japon chez une famille ayant développé la forme autosomique dominante de la maladie ; deux ans après d'autres études ont mis en évidence l'existence de mutations faux sens dans de multiples familles. Au fil des années, plusieurs autres variations ont été découvertes chez 15% des patients, mais entre autres le pouvoir pathogène n'a été prouvé que dans certain nombre de variations qui sont les suivantes : p.R1441C, p.R1441G, p.Y1699C, p.G2019S, p.I2020T, p.R1628P, p.G2385R. (Ben romdhan, 2019).

II.4.2. Séquence du gène LRRK2

Le gène leucin reach repeat kinase (LRRK2) également appelé PARK8 (LRRK2, PARK8, dardarin, OMIM 609007) est localisé sur le bras long du chromosome 12 en 12q12. Il s'étend sur 144 Kb, sa séquence codante est répartie en 51 exons, codant pour une enzyme appartenant à la superfamille Ras/GTPase et la famille ROCO appelée la dardarin. (NCBI gene bank).

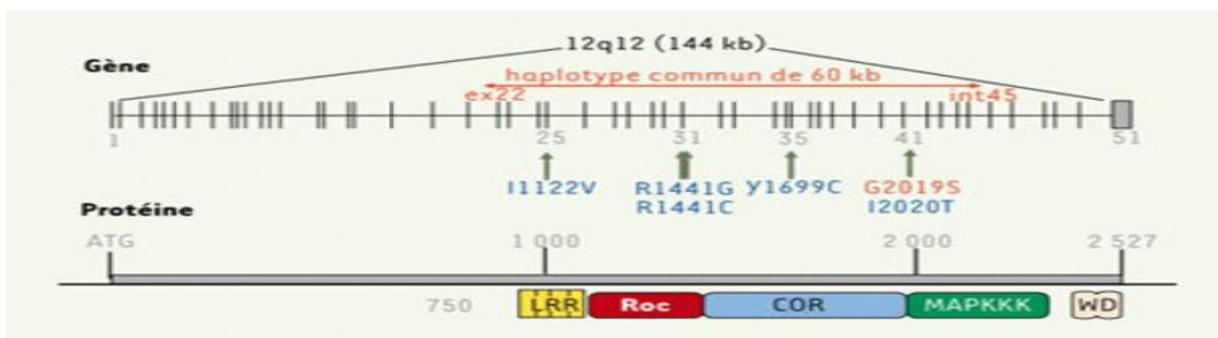


Fig.4. Le gène LRRK2 (Suzanne Lesage, *et al.* 2005)

II.4.3. L'ARNm du gène LRRK2

En 2004, Paisan-Ruiz *et al.* (Paisan-Ruiz *et al.*, 2004) ont identifié le transcrite pathogène putatif DKFZp434H2111 dans une région de 2,6 Mb englobant un locus de la maladie de Parkinson PARK8. Puis, Zimprich *et al.* (Zimprich *et al.*, 2004) ont cloné LRRK2 à partir d'une bibliothèque d'ADNc de cerveau humain et ont découvert qu'il codait pour la protéine LRRK2.

L'analyse par Northern blot a permis de détecter un transcrit majeur de 9 kb à des niveaux faibles dans la plupart des régions du cerveau par contre les niveaux de transcription les plus élevés ont été obtenus dans le Putamen, la substantia nigra ou locus Niger ou substance noir et le poumon. La présence de bandes plus petites a suggéré un épissage alternatif.

En réalisant une 5-prime-RACE de l'ADNc de cerveau humain (**RACE-PCR** « rapid amplification of cDNA-ends by polymerase chain reaction » ou « amplification rapide des extrémités de cDNA par réaction en chaîne par polymérase »), West et al. (West *et al.*, 2005) ont également identifié un variant d'épissage, résultant de l'utilisation d'un site d'épissage cryptique dans l'intron 50, qui code pour une protéine amputée de 6 acides aminés près du domaine WD40 C-terminal. Dans des cellules rénales embryonnaires humaines transfectées, l'ARNm de LRRK2 était largement exclu du noyau et localisé dans le cytosol, mais environ 10 % de LRRK2 était associé à la membrane mitochondriale externe. La protéine LRRK2 issue de cet ARNm a migré à une masse moléculaire apparente de 280 kD.

II.4.4. La protéine codée par le gène LRRK2

Le gène LRRK2 code pour la protéine LRRK2 qui fait partie de la famille des ROCO (Ras-GTP) (Lesage, 2006). Il s'agit d'une GTPase (domaine ROC) et d'une Kinase (domaine MAPKKK) à la fois. Elle s'exprime dans différents tissus, y compris le système nerveux central ou elle est abondamment exprimée.

Elle joue un rôle dans l'autophagie des neurites mais aussi le transport des molécules vers l'intérieur de la cellule par endocytose, elle interfère aussi avec d'autres protéines : PARKINE et ALPHA-Synucléine.

LRRK2, une protéine de 2527 acides aminés ayant une masse moléculaire d'environ 250 kD. Cette protéine se trouve abondamment dans le cytoplasme mais aussi dans la membrane externe de la mitochondrie. Il s'agit d'une protéine composée de 5 domaines fonctionnels :

- Un domaine de répétition riche en leucine (LRR) N-terminal.
- Un domaine Roc (Ras de protéine complexe) qui partage une homologie de séquence avec la superfamille GTPase liée à Ras.
- Un domaine COR (C-terminal de Roc).
- Un domaine de protéine kinase (kinase activée par un agent mitogène) (MAPKKK).
- Un domaine de répétition WD40 C-terminal (Paisan-Ruiz *et al.*, 2004).

En 2004, des expériences réalisées sur des souris par Dorval *et al.* ont montré que dans le cerveau la LRRK2 joue un rôle modeste dans la régulation de la transcription génique chez les mammifères ; ces effets régulateurs sont plutôt dépendants du contexte et du type d'ARN. Ces

résultats préparent un terrain large pour les études à venir concernant la fonction du gène LRRK2 dans le développement de la maladie de Parkinson (Dorval et al, 2016).

LRRK2 contient un domaine ROC " Ras of complex proteins " qui pourrait agir comme une GTPase pour réguler son activité kinase (Deng *et al.*, 2008). Deng et al ont décrit la structure cristalline du domaine ROC de LRRK2 à une résolution de 2,0 angströms comme un complexe avec GDP-Mg²⁺. La structure a montré un repliement dimérique produit par une inversion importante des domaines, ce qui donne une paire de sites actifs avec des groupements fonctionnels essentiels provenant des deux monomères. Deux résidus mutés dans PARK8, arg1331 et ile1371, étaient situés à l'interface des 2 monomères et ont fourni des interactions pour stabiliser le dimère ROC. Deng et al. (Deng *et al.*, 2008) ont conclu que les mutations associées à PARK8 dans le domaine ROC perturberaient la formation du dimère, ce qui entraîne une diminution de l'activité GTPase. Ils ont proposé que le domaine ROC régule l'activité kinase de LRRK2 sous forme de dimère, peut-être par l'intermédiaire du domaine COR qui joue le rôle de charnière moléculaire (OMIM® - Online Mendelian Inheritance in Man).

L'ARNm de LRRK2 est largement exprimé dans le cerveau et dans d'autres organes, notamment les reins, le cœur, les poumons et le foie. Dans le cerveau, il est relativement élevé dans les régions dopamino-ceptives et non dans les neurones dopaminergiques (Giesert *et al.*, 2013).

Des travaux approfondis ont été menés pour explorer le rôle physiopathologique de LRRK2. Plusieurs données suggèrent que LRRK2 participe à la régulation de la croissance des neurites et de la dynamique du cytosquelette, au maintien des fonctions d'autophagie et des lysosomes (Plowey ED *et al.*, 2008 ; Alegre-Abarrategui J *et al.*, 2009 ; Orenstein SJ *et al.*, 2013 ; Dodson MW *et al.*, 2012), à la modification de la traduction des protéines (Gehrke S *et al.*, et du trafic des vésicules (Arranz AM *et al.* ; MacLeod *et al.* 2013 ; Matta *et al.*).

II.5. Les mutations et polymorphismes du gène LRRK2 (PARK8) dans la maladie de Parkinson

Depuis toujours, la fonction biologique du gène LRRK2 et la façon dont les mutations conduisent à la maladie de Parkinson sont mal définies. Différentes études ont suggéré l'implication du gène LRRK2 dans la régulation de la transcription génique, mais cette question est restée controversée.

Plus de 75 substitutions ont été découvertes dans LRRK2, et sept mutations faux-sens (G2019S, I2020T, N1437H, R1441G/C/H et Y1699C) considérées comme des mutations définitivement pathogéniques, toutes concentrées dans les domaines catalytiques centraux, ce qui suggère un rôle essentiel des domaines GTPase et kinase dans la pathogenèse de la MP (Dachsel JC *et al.*, 2010 ; Martin I *et al.*, 2014). La plupart de ces mutations sont rares, à l'exception de la mutation Arg1441Gly commune aux familles Parkinsoniennes d'origine Basque, d'où le nom de «Dardarine» donné initialement à LRRK2, du mot basque *dardara* signifiant «tremblement» (Paisan-Ruiz *et al.*, 2006). A un moindre degré, cette même mutation a été répertoriée dans les populations chinoises (Xiao-xia li *et al.*, 2015). Trois substitutions du même codon aboutissant 3 substitutions différentes du même acide aminé (R1441C, R1441G et R1441H) ont été identifiés comme des causes génétiques importantes de la maladie de Parkinson (Hao Deng *et al.*, 2006). La R1441C retrouvée dans une famille d'origine occidentale du Nebraska (Zimprich *et al.*, 2004). La R1441G dans le nord de l'Espagne et la R1441G expliquerait 9 jusqu'à 20% des cas familiaux (Gonzalez-Fernandez *et al.*, 2007).

Quatre autres mutations sont apparues dans au moins deux familles non apparentées dont la Y1699C (retrouvée dans deux grandes parentés, ascendance germano-canadienne et une parenté britannique).

II.5.1. La mutation LRRK2 G2019S

La mutation **G2019S** est localisée dans le 41^{ème} exon du gène LRRK2 (144 Kb). Un nombre élevé des formes autosomiques dominantes et de formes idiopathiques ont été reliées à cette mutation. La mutation G2019S est présente chez 40% des patients présentant une MP sporadique ou familiale d'Afrique du Nord et 18% des juifs ashkénazes. La plus vaste étude génétique de LRRK2 a démontré que cette mutation est présente dans 1,3% des cas sporadiques, 4% des cas familiaux et 0,07% des contrôles appariés dans le monde (Lesage *et al.*, 2006). La fréquence de cette mutation varie d'une zone géographique à une autre et d'un peuple à un autre, elle est répartie ainsi :

- inférieure à 0,1 % en Asie.

- Quarante pour cents (40 %) en Afrique du nord, cet important pourcentage observé en Afrique du nord se doit aux cas des populations maghrébines berbères qui est de 41 % (Lesage *et al.*, 2006).

-Cette mutation a été initialement associée à 6-7% des formes familiales de la maladie de Parkinson d'origine européenne (Nichols et al., 2005).

Par ailleurs des études menées en 2007 par Jin-Whan Cho *et al.* (Jin-Whan Cho *et al.*, 2007), ont montré que cette mutation est très rare dans les populations coréennes et qu'elle dépendrait significativement de la race. Une autre étude réalisée en Colombie a montré que la mutation G2019S n'est pas un facteur causal important de la maladie de Parkinson et présente une fréquence similaire à celles notées dans les autres populations d'Amérique latine (Duque *et al.*, 2015). Depuis, de nombreuses études ont montré que la fréquence de la mutation G2019S varie considérablement selon l'origine géographique et ethnique des populations étudiées (Brice *et al.*, 2005).

La majorité des porteurs de la G2019S partagent un haplotype commun. Cette mutation G2019S est localisée dans le segment d'activation du domaine kinase de LRRK2 (Nolen *et al.*, 2004). Ce qui entraîne une surexpression de l'activité kinase de LRRK2 (West *et al.*, 2005) et donc un gain de fonction à l'origine de l'augmentation de la neuro toxicité apparente (Greggio *et al.*, 2006). Ainsi, la position de la mutation G2019S au sein de la séquence primaire suggère qu'elle pourrait moduler directement le statut catalytique de LRRK2. D'autres études ont suggéré que cette mutation est associée à une accumulation d'alpha-synucléine, d'un dysfonctionnement mitochondrial et d'une altération de la signalisation de la dopamine dans le cerveau humain, aboutissant finalement à la perte de neurones dopaminergiques (Hsieh *et al.*, 2016 ; Manzoni et Lewis, 2013).

II.6. Place du gène LRRK2 dans la forme autosomique dominante

La majorité des mutations du gène LRRK-2 ne sont pas très fréquentes, sauf la mutation Arg144Gly, elle est considérée comme la mutation responsable des formes familiales par transmission autosomiques dominantes, elle peut être aussi observée (à faible pourcentage) dans les cas sporadiques. Les sujets âgés présentent une pénétrance incomplète de la MP ce qui peut faire le point entre les cas familiaux et sporadiques, mais aussi sa présence chez des sujets sains (Lesage *et al.*, 2005).

III. Les corrélations phénotypes/génotypes dans la maladie de Parkinson

Il a été démontré que quelques particularités cliniques sont dues à la mutation LRRK2-p.G2019S, et que les patients portants cette mutation montrent des caractéristiques phénotypiques semblables à ceux de la forme idiopathique.

L'étude de comparaison de la mutation p.G2019S entre les patients porteurs de la mutation et ceux non porteurs en prenant en considération les aspects cliniques suivants :

-Porteurs mâle et femelle

-Porteurs homozygotes et hétérozygotes

-Il y'a aussi eu la collecte d'informations sur chaque patient (données épidémiologiques, antécédents médicaux, données cliniques).

Plusieurs évaluations et examens ont également été effectués pour mesurer l'intensité des symptômes (échelle Hoen et Yahr), et les troubles psychologiques (saut d'humeur, dépression) grâce à l'inventaire Beck's depression inventory (Benromdhan, 2019).

Ces études ont montré que chaque patient Parkinsonien est différent de l'autre par rapport à l'âge d'apparition des symptômes, et ce qui fait cette différence est la variation des mutations des gènes responsables de la maladie Parkinson chez chaque individu, c'est ce qui a aussi permis d'établir une corrélation génotype/phénotype comme ceci :

Alpha-synuclein (PARK1/PARK4) : Apparition précoce.

-
- Parkin (PARK2) : apparition précoce.
 - Gène inconnu (PARK3) : apparition tardive.
 - UCH-L1(PARK5) : apparition tardive (signalé dans une paire de frères et sœurs).
 - PINK1(PARK6) : apparition précoce.
 - DJ-1(PARK7) : apparition précoce.
 - LRRK2(PARK8) : apparition tardive.
 - ATP13A2(PARK9) : apparition précoce.
 - Gène inconnu (PARK10) : phénotype non identifié.
 - GIGYF2(PARK11) : apparition tardive (pathogénicité incertaine).
 - Gène inconnu (PARK12) : phénotype non identifié.
 - HTRA2(PARK13) : phénotype non identifié et pathogénicité incertaine.
 - PLA2G6(PARK14) : Dystonie- Parkinsonisme sensible à la L-dopa (en attente d'autres informations).
 - FBX07(PARK15) : Parkinsonisme - syndrome pyramidal (Kumari et Tan, 2009).

La mutation qui intéresse principalement notre étude est la mutation G2019S du gène LRRK2, qui est présente à une fréquence élevée dans la population nord-africaine, maghrébine plus précisément. Des études ont été faites sur une population nord-africaine et ont permis d'établir une corrélation génotype/ phénotype chez les porteurs et non porteurs de la mutation G2019S les résultats sont les suivants :

Tableau.1. Représentation des caractéristiques cliniques des patients porteurs et non porteurs de G2019S (Bouhouche *et al.*, 2017).

Tableau 1 : Les caractéristiques cliniques des patients présentant une maladie de Parkinson

	Porteurs de la G2109S	Non porteurs de la G2019S	Valeur p
	(n = 41)	(n = 59)	
Symptome initial			0.019
Akinesye	14 (34.1)	9 (15.3)	
Tremblement	11 (26.8)	31 (52.5)	
Tremblement et akynésie	16 (39)	19 (32.2)	
phenotype clinique			0.012
Rigidité akynésique	10 (24.4)	10 (16.9)	
Tremblement_dominant	7 (17.1)	27 (45.8)	
Mélangé	24 (58.5)	22 (37.3)	
Dystonie	9 (21.9)	3 (5.1)	0.011

Trouble de la marche	21 (51.2)	23 (39)	0.225
Instabilité posturale	17 (41.5)	29 (49.2)	0.448
UPDRS III ON	11 [6.5–19]	11 [6–21]	0.858
H-Y score	2 [1–4]	3 [1–4]	0.875
LEDD	727.9 [500–1100]	500 [300–800]	0.002
Fluctuations	25 (61)	29 (49.2)	0.243
Dyskinesie	23 (56.1)	15 (25.4)	0.002
Troubles urinaires	30 (73.2)	48 (82.8)	0.253
Constipation	21 (51.2)	31 (52.5)	0.896
hypotension	16 (39.0)	29 (49.2)	0.318
Douleur	22 (53.7)	31 (52.5)	0.912
Troubles psychiatriques	25 (61.0)	28 (47.5)	0.184
Troubles cognitive	26 (63.4)	26 (44.1)	0.059
Trouble du sommeil	22 (53.7)	19 (33.3)	0.046

IV. Les thérapies de la maladie de Parkinson

Traitements médicamenteux

Une thérapie anti-MP par doit soulager le patient de ses symptômes, mais ne mène pas à la guérison de la maladie. La Levodopa (L-Dopa) est utilisée comme traitement de substitution de la dopamine dont l'amélioration des symptômes de la maladie. En réalité, seule une faible partie de L-dopa administrée pénètre dans le cerveau. La plus grande partie, environ 95%, est rapidement décarboxylée et transformée en DA qui ne pénètre pas dans le cerveau.

Le précurseur de la L-Dopa est utilisé en association avec des inhibiteurs de la Dopa décarboxylase périphérique, soit le bensérazide ou le carbidopa. Ces inhibiteurs ne pénètrent pas dans le cerveau et, en conséquence, ils inhibent la dopa-décarboxylase périphérique et la L-dopa est moins détruite à la périphérie. La L-dopa devient alors plus disponible pour pénétrer dans le cerveau (Fahn, 2006).

Il existe également d'autres types de médicaments sur le marché, les agonistes dopaminergiques, ces molécules réduisant le turn-over de la dopamine (e.g. entacapone, sélégiline), et des anticholinergiques. D'autres médicaments, moins utilisés sont aussi utilisés: l'amantadine.

Traitements chirurgicaux

Le traitement par neurochirurgie de la MP consiste en un blocage de l'une des structures du circuit nigro-stri-pallidothalamique. Ce traitement chirurgical appelé thalamotomie consiste en une destruction des noyaux cibles du cerveau ce qui permet d'éliminer l'activité excessive ou anormale de cette structure. Cette destruction localisée a pour effet essentiel de faire cesser le tremblement. Cette dernière est efficace sur les dyskinésies dopa-induite. Les inconvénients majeurs de ces techniques résident dans leur irréversibilité et dans leurs effets indésirables majeurs observés en cas de lésion bilatérale et/ou troubles cognitifs (Anaes, 2002).

Ce "blocage" est possible aussi par une stimulation cérébrale profonde (SCP) à haute fréquence du thalamus introduite en 1987 et appliquée en 1993 sur le noyau sous thalamique pour traiter la MP avancée. Il s'agit d'une neurochirurgie fonctionnelle utilisant des impulsions électriques à haute fréquence (>100Hz) permettant ainsi de changer des séquences de signaux électriques anormaux du cerveau dont le but est d'implanter dans le cerveau une sonde munie de microélectrodes, reliées par une extension sous-cutanée à un neurostimulateur implanté sous la clavicule. La SCP reste un traitement chirurgical de choix (Benabid *et al.*, 2009). La SPC des noyaux sous-thalamiques réduit la bradykinésie et permet une diminution des doses de L-dopa, impliquant aussi une diminution de la sévérité des dyskinésies (Olanow *et al.*, 2000).

Traitement neuro-protecteur

Deux médicaments sont utilisés et leur usage est limité à la MP. La sélégiline a été le premier d'entre eux et son efficacité n'a pas été démontrée mais elle est toujours commercialisée. La rasagiline a récemment été commercialisée suite à un essai thérapeutique suggérant qu'à la dose d'un milligramme par jour, ce traitement permettrait de ralentir l'évolution de la maladie (Olanow *et al.*, 2009).

Thérapies par transplantation de cellules souches

Le traitement par la transplantation de neurones dopaminergiques dans le striatum a utilisé deux types de cellules souches dans le but de transplantations: les cellules souches somatiques multipotentes et les cellules souches embryonnaires pluripotentes, isolées de tissus adulte et embryonnaire/fœtal, respectivement. Le but serait alors de pousser ces cellules à se différencier en neurones dopaminergiques nigraux, grâce à certains facteurs de transcription et facteurs de croissance très spécifiques, puis de les transplanter dans des cerveaux humains afin de restaurer la fonction des neurones (Arjona *et al.*, 2003).

Ce traitement a rapidement été freiné par de très mauvais résultats chez l'homme et par l'apparition de nombreux effets indésirables. Un autre frein supplémentaire à cette technique, la quantité de donneurs humains de tissu embryonnaire reste très limitée. De plus, l'utilisation d'embryons humains reste une matière à débats, tant sur les plans éthiques que politiques et juridiques. Le traitement de patients par ces techniques est par ailleurs interdit par la loi en Suisse ainsi qu'en Europe et dans la plupart des pays du monde (Clarkson *et Freed*, 1999).

Thérapie génique

Trois approches de thérapie génique utilisant des enzymes de biosynthèses de la dopamine ont été étudiées :

L'acide L aminé aromatique décarboxylase (AADC), la CH1 et La GAD. Les chercheurs ont donc eu l'idée d'introduire dans le cerveau les gènes de ces trois enzymes permettant ainsi à un neurone de produire de la dopamine en continue. Le transfert des gènes à l'endroit désiré est possible grâce à l'utilisation d'un vecteur viral sans danger pour l'organisme. Trois approches thérapeutiques à l'aide d'un adeno associate (AAV) ont été évaluées dans des essais cliniques de la MP et toutes ces thérapies géniques à base d'AAV ont démontré que l'utilisation de ce vecteur est sûre et bien toléré (Palf *et al.*, 2014).

Facteurs neurotrophiques et thérapie génique

Les facteurs eutrophiques sont des protéines très importantes pour le cerveau. Secrétés par les neurones eux-mêmes. Plusieurs facteurs ont été démontrés comme protecteurs des neurones

dopaminergiques. Cependant un facteur dérivé de lignées cellulaires gliales (GDNF) membre de la famille des transforming growth factor-beta (TGF β) est le facteur neurotrophique puissant et crucial pour l'excroissance et la survie des neurones dopaminergiques (Sauer *et al.*, 1995). Malgré son action importante, le GDNF est rapidement dégradé dans le corps humain et ne traverse pas la BHE. Par conséquent, pour le traitement de la MP, le seul mode efficace de délivrer du GDNF au patient est de l'injecter directement dans la zone du cerveau souhaitée (Deierborg *et al.*, 2008). Grâce à des vecteurs en petite taille, par une procédure permettant un effet prolongé. Ceci a été envisagé soit par thérapie génique ex vivo par la libération de GDNF au niveau cérébral grâce à des cellules génétiquement modifiées ou par thérapie génique in vivo (transfert direct de vecteur codant le GDNF) (Douglas et Hazlehurst, 2010).

Deuxième partie

Etude expérimentale

V. Patients et méthodes

V.1. Patients

Il s'agit d'une étude prospective et descriptive ayant comme principale visée les caractéristiques clinico-démographiques et la mise au point et la recherche de mutation au niveau du de l'exon 41 du gène LRRK2 chez 40 patients présentant une MP. Elle a été réalisée au laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine 3 logé au niveau du laboratoire d'hormonologie du CHU de Constantine et du service de neurologie du CHUC durant la période Avril et début du mois de juin 2022.

V.1.1. Recrutement des cas index

Notre étude a porté sur 40 patients présentant une maladie de Parkinson des deux sexes adressés par le service de neurologie du CHU de Constantine.

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis pour les patients :

Critères d'inclusion

Ont été inclus dans l'étude les sujets des deux sexes

Atteints de la maladie de Parkinson, avec ou sans antécédents familiaux.

Critères d'exclusion

Tous les patients présentant toute autre maladie neurologique ou autres.

Tous les patients refusant le prélèvement.

Deux types de malades ont été distingués

- ❖ Les cas familiaux : lorsqu'il y a la présence d'un cas similaire dans la famille.
- ❖ Les cas sporadiques : Lorsque l'enquête familiale ne retrouve qu'un seul cas de la MP.

Tous les diagnostics des patients ont été portés par des neurologues. L'ensemble des échantillons de tous ces patients va bénéficier d'une analyse moléculaire

De l'exon 41 du gène LRRK2.

Nous avons procédé :

-Le recueil systématique des informations cliniques et biologiques a été réalisé grâce à un questionnaire approprié comportant

Etat civil, Circonstances de découverte du MP, L'examen neurologique.

-A l'établissement d'un arbre généalogique le plus complet possible (Annexe I).

V.2. Méthodes

La recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2 a été réalisée par PCR séquençage en appliquant l'algorithme de travail suivant

- Extraction de l'ADN à partir de sang total par la méthode au NaCl
- Quantification et dilution de l'ADN
- L'évaluation du procédé d'extraction
- PCR ou amplification de l'exon 41 du gène LRRK2
- Contrôle des produits de PCR de l'exon par électrophorèse sur gel d'agarose
- Purification des produits de PCR
- Réalisation des PCR de séquences
- Purification des produits des réactions de séquences
- Séquençage et lecture de la séquence à la recherche de mutations par le séquenceur 3500 Genetic Analyzer.

V.2.1. Extraction D'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler un gène ou un fragment de gène de cellules ou de tissus et de le multiplier rapidement.

La lyse est réalisée en général à + 4°C pendant 20 à 30 mn. Le lysat est centrifugé 10 mn à 3900 tr/mn. Après élimination du surnageant, on obtient le culot de leucocytes.

- Dans un tube falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du Tris EDTA (TE) 20:5
- laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 mn à 3900 rpm
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide
- Ajouter quelques ml de TE: 20:5 au culot et remettre en suspension avec une passette stérile.
- Compléter à 25 ml avec du TE: 20:5 et laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot de leucocytes.
- Le culot contenant les leucocytes est transvasé dans un tube falcon de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse des leucocytes en dilacérant le culot avec une passette stérile.

- Ajouter 200 µl de SDS (sodium dodécyl sulfate) à 10% qui est un détergent anionique utilisé pour lyser les GB mais, c'est aussi un activateur de la protéinase K, il inhibe les nucléases et dénature les protéines.
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg /ml.

L'ADN nucléaire libéré dans le milieu est alors le plus souvent traité par une protéinase très active, la protéinase K qui a pour but de digérer les protéines qui lui étaient associées.

- Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.

Le traitement par la protéinase K (10 mg/ml) est effectué pendant 1 à 2 h à 65 °C ou 2 à 3h à 56°C ou 3 à 18 h ou over night à 37 °C.

- Le lendemain, refroidir dans la glace le contenu du tube falcon.

Extraction et purification de l'ADN : méthodes utilisant des solvants non organiques : le NaCl

Le principe consiste à traiter uniquement le lysat cellulaire par une solution saline, dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines.

- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main
- Remettre 5mn dans la glace (précipitation des protéines)
- Centrifuger 15 mn à 2500 tr/mn

Précipitation de l'ADN

La précipitation est le plus souvent réalisée par de l'éthanol absolu à froid et à haute concentration. L'éthanol se trouvait à -80°C et à concentration 2.5 volumes par rapport à l'échantillon. La pelote d'ADN se forme, puis précipite sous forme de filament visible à l'œil nu. Le précipité est ensuite lavé et redissolu dans l'eau ou du tampon TE : 10 :1 .

- Transvaser le surnageant dans un Falcon de 15ml , ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : Il y aura formation d'une « méduse » visible à l'œil nu, qui sera récupérée par enroulement sur une pipette Pasteur puis lavée dans l'éthanol à 70% 2 fois pour éliminer les sels ou les traces d'isopropanol, elle sera ensuite séchée.

Dans le cas où la concentration des acides nucléiques est faible (< 50 µg / ml) le temps de précipitation devra être plus long (>10h). Parfois la précipitation a lieu en présence de sels comme l'acétate de Na pour augmenter la force ionique.

Mettre la pelote dans un tube nunc et l'ADN sera réhydraté par une solution de TE (tris: EDTA) ou de l'eau bidistillée, puis conservé à 4°C ou à -20°C.



Figure 5 : Image de la formation d'une méduse lors l'extraction (précipitation) de l'ADN

Solubilisation

- Ajouter entre 300 et 1000 μ l de TE : 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37 °C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

V.2.2. Quantification et dilution de l'ADN : Dosage des acides nucléiques

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm. Les contaminations par les protéines et le phénol peuvent fausser la concentration de l'ADN. Les protéines absorbent à 260 nm et à 280 nm tandis que le phénol absorbe à 270 nm.

Pour cela on effectue une mesure de la densité optique ou DO de l'ADN dilué à 260 nm et à 280 nm.

Conservation de l'ADN

Le tableau I. Les différentes conditions de conservation de l'ADN.

Température	Durée de la stabilité de la solution d'ADN
Ambiante	Quelques jours
+ 4°C	6 mois
-20 °C	1 an au minimum
- 80 °C	7 ans au minimum

V.2.3. PCR ou amplification de l'exon 41 du gène LRRK2

La PCR est un outil fondamental de la biologie moléculaire. Elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, présent même en quantité infime dans un mélange puis de le multiplier rapidement.

La PCR a été décrite pour la première fois par Kary Mullis en 1983 et publiée en 1985, ce qui a valu à Kary Mullis le prix Nobel de chimie en 1993.

Principe

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire, d'un ADN servant de matrice.

La PCR consiste en une succession cyclique de 3 étapes

Première étape : Dénaturation thermique

Cette étape consiste à séparer par la chaleur les deux brins en rompant les liaisons hydrogènes. L'ADN double brin est chauffé à 94°C. Cette température est supérieure à la température de dénaturation (Température melting ou T_m) de l'ADN qui passe alors sous forme simple brin. Ces brins servent de matrice au cours des cycles d'amplification.

Deuxième étape : Hybridation des amorces

Le milieu réactionnel est amené à une température inférieure au T_m des amorces. Ce T_m est fonction de la séquence et est en général de l'ordre de 45 à 70 °C. Les amorces en large excès, s'hybrident à tout l'ADN simple brin comportant la séquence complémentaire.

Troisième étape : Elongation des amorces

Une ADN polymérase (la taq polymérase) allonge les amorces en y incorporant les désoxynucléotides complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle est hybridée.

La synthèse s'effectue dans le sens 5'→3' à 72°C (température optimale).

A la fin du cycle, deux copies de la séquence d'ADN cible sont obtenues.

Un nouveau cycle commencera par l'étape de dénaturation, suivie successivement des étapes d'hybridation et élongation.

A chaque cycle correspond le doublement du nombre de copies de la séquence cible. De manière générale 15 à 40 cycles sont effectués, générant un nombre considérable de copies de la séquence cible.

Le tableau II. Résume les températures des 3 étapes de la PCR

Étapes	Température
Dénaturation	94°C
Hybridation	70 °C
Elongation	72°C

Optimisation de la PCR

-Choix de l'enzyme

La Taq ADN polymérase est une enzyme très largement utilisée pour effectuer les PCR. Cette enzyme obtenue à partir de *thermus aquaticus* possède une bonne thermolabilité, ce qui lui permet de résister dans certaines limites aux températures élevées nécessaires à la séparation des doubles brins.

La quantité de Taq ADN polymérase utilisée pour une réaction de PCR, varie de 0.2µl et 0.4 µl, voire 1 µl.

Choix des amorces

Les amorces sont des séquences exactement complémentaires du fragment à amplifier.

Principes généraux relatifs aux choix des amorces :

- La taille des amorces doit être entre 20 et 30 nucléotides.
- Leur composition en G+C doit être de 50%
- L'hybridation des amorces sur elles-mêmes et entre elle doit être évitée car il y a un risque de formation de produits de PCR non spécifiques.

Les amorces utilisées dans l'amplification de l'exon 41 du gène LRRK2 sont présentées au suivant

Tableau III. Les amorces utilisées pour l'amplification de l'exon41 de LRRK2

Exon 41 Amorce sens ou Forward F 5' →3'	5'-GAGCACAGAATTTTGGATGCTTG-3'
Exon 41 Amorce antisens ou reverse R 5' →3'	5'TTTTATCCCCATTCCACAGCAGTAC-3'

Température de fusion et d'hybridation

-La température de fusion (melting température T_m) des amorces doit être suffisamment élevée (au minimum 55 °C) quand cela est possible.

Plus le T_m d'une amorce est élevé, moins le risque d'hybridation non spécifique est important.

-La température d'hybridation est égale à la T_m moins 5 °C ($T^\circ \text{ hybridation} = T_m - 5^\circ\text{C}$). Une température d'hybridation trop basse risque de donner des hybridations non Spécifiques.

Concentration des chlorures de magnésium

Le chlorure de magnésium est un cofacteur essentiel pour la Taq polymérase. Il existe une relation inverse entre la quantité de dNTP utilisée et la concentration de $MgCl_2$. Les dNTP chélatent une partie des ions Mg^{2+} et par conséquent, une augmentation des dNTPs diminue la concentration disponible d'ions Mg^{2+} libres.

Nous avons utilisé une solution de $MgCl_2$ à 25 mM et nous avons réalisé une gamme de $MgCl_2$.

Problèmes rencontrés au cours de la réaction de PCR

- Bandes parasites : les bandes parasites sont le reflet d'un manque de spécificité et probablement de sensibilité.
- En front de migration : Ce sont des dimères d'amorce. Il faut revoir le choix des amorces et les conditions expérimentales de la PCR.

Détection des contaminations

La PCR est une technique très sensible. La contamination est le risque majeur et permanent de la PCR. Pour réaliser une PCR, plusieurs précautions sont donc à prendre

- Il est nécessaires d'insérer des contrôles dans des séries d'analyse par PCR, pour vérifier la qualité et les performances du test et détecter certaines anomalies.
- Ne pas hésiter à jeter tout réactif suspect.
- Stériliser les tampons, les pointes de pipettes, les tubes.
- Décontaminer les pipettes à l'eau de javel diluée.
- Ne pas oublier d'irradier aux UV la zone de travail pendant environ 15 mn une fois le travail terminé.

Validation du test

Pour chaque série de réactions de PCR, il est indispensable d'effectuer un contrôle négatif et, éventuellement, un contrôle positif.

➤ *Contrôle négatif*

Il s'agit d'un tube contenant tous les réactifs et l'enzyme, mais sans ADN, il permet de s'assurer qu'aucun réactif ou enzyme n'est contaminé.

➤ *Contrôle positif*

Il s'agit d'un tube contenant tous les réactifs et l'enzyme avec un ADN connu et déjà étudié. Ce contrôle, qui permet de s'assurer que la réaction s'est bien effectuée.

Préparation de l'échantillon d'ADN sous forme d'une solution de travail adéquate et vérification que tous les réactifs nécessaires sont disponibles, et en quantité suffisante.

Préparation des Mix PCR

Cette opération s'effectue dans une pièce appelée de Pré PCR sous hotte stérile. Dans des tubes eppendorff de 1.5 ml, on prépare les Mix ou mélange total des réactifs nécessaires à notre PCR pour chaque exon, en tenant compte du nombre d'échantillons à traiter, plus un témoin négatif.

Tableau IV. Composition du mix de la PCR

Réactifs	Volume
H2O	35.2 μ l
dNTP	5 μ l
Tampon	5 μ l
Mgcl2	3 μ l
F	0.2 μ l
R	0.2 μ l
Taq	0.4 μ l
ADN	2 μ l



Figure 6 : L'ADN des patients en vue de la réalisation d'une PCR



Figure 7 : réalisation de mix PCR dans des tubes eppendorff

Programme du thermocycler

Les micro-tubes sont placés dans un thermocycler qui sera programmé comme suit

Le tableau V. Programme du thermocycler (cycle 1 of 32)

95°C	3 :00 min
94°C	0 :45
60°C	0 :45
72°C	1 :00min
72°C	5 :00min
4.0	∞

Après amplification des exons par PCR, les produits de PCR sont contrôlés par électrophorèse.

V.2.4. Contrôle par électrophorèse des produits de PCR de l'exon 41

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer les exons en fonction de leur taille. Elle est réalisée dans une cuve de migration horizontale.

Le contrôle de PCR est réalisé sur un gel d'agarose à 2 %.

Le tampon Tris-Borate est le plus utilisé, sous forme de mélange Tris-Borate-EDTA.

Le Tris et le borate ne portent quasiment pas de charges au PH désiré, ce qui réduit leur mobilité. Un avantage du tampon Tris est qu'il s'agit d'une molécule de taille suffisamment importante, ce qui freine sa migration électrophorétique.

Les produits de PCR sont préparés pour être déposés, avec une pipette de précision sur le gel. Le gel placé avec son support dans la cuve sera totalement immergé.

Il faut remplir délicatement et très lentement la cuve avec le tampon TBE jusqu'à recouvrir le gel. Ajouter le colorant de charge 2 μ l de bleu de bromophénol à chaque 10 μ l produit de PCR de chaque échantillon, pour pouvoir suivre visuellement la migration des dépôts.

Un marqueur de taille, déposé dans un puits est utilisée pour chaque série d'échantillons.

La migration électrophorétique dure environ 45 mn à 100 volts. Elle peut être arrêtée lorsque le courant de charge arrive à proximité du bord opposé du gel.



Figure 8: Préparation des produits de PCR Figure 9 : mettre le mélange dans les puits du gel d'agarose

La visualisation des exons séparés en fonction de leur taille par transillumination du gel qui contient du Bromure d'ethidium ou BET, molécule qui a l'habitude de s'intercaler entre les bases des acides nucléiques.

Dans ces conditions, l'exposition du gel à un rayonnement UV de 312 nm permet la fluorescence du BET lié à l'ADN.

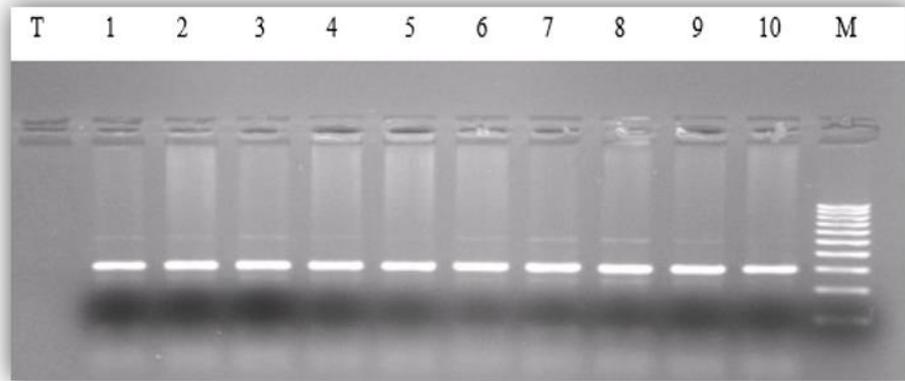


Figure 10 : la lecture d'électrophorèse sur gel d'agarose

V.2.5. Purification du produit de PCR pour la réalisation de la réaction de Séquençage

Principe

Pour obtenir des produits de PCR de bonne qualité, il est nécessaire de les purifier pour éliminer les dNTP libres non incorporés, les amorces en excès, le Mgcl2 et tous les autres produits de la réaction de PCR qui risquent de gêner les différentes manipulations suivantes.

La technique utilisée au laboratoire est la chromatographie d'adsorption sur colonne de silice, avec un tampon qui contient généralement un sel chao-tropique (ex: chlorhydrate de guanidine) qui permet le changement de PH.

Dans un eppendorf, mettre

- B2 + 10 ml iso propanol
- W1 + 64ml ethanol, le mélange est agité par vortex
- 4 volumes de solution B2 + 1 volume de produit de PCR
- Centrifuger la colonne 1min à 1200 t/min

- Jeter le contenu de l'ependorf puis centrifuger encore une fois pendant 1 a 2 min
- Laisser reposer 1 minute et puis centrifuger pendant une minute à 12000 tours/minutes
- Le liquide obtenu sur l'ependorf est le produit PCR purifié

V.2.6. PCR de séquence

Tableau VI. Mix PCR de séquences

Big Dye terminator	0.8 μ l
Tampon	3.6 μ l
H2O	12.1 μ l
Pipter	16.5 μ l
Amorce F/R	1 μ l
ADN	1 μ l



Figure 11 : Les étapes de la réalisation PCR de Séquence

Après on remet les tubes dans le thermocycleur programmé.

V.2 .7. Purification PCR de séquences

Cette procédure est nécessaire pour purifier les réactions de séquences faites en Big Dye Terminator. Elle permet l'évacuation des ddNTP fluoromarqués non incorporés dans la réaction de séquence de Sanger, des amorces en excès et les sels.

L'accumulation des sels peut altérer la qualité des analyses (décroissance des pics de fragments), il est donc conseillé de purifier les échantillons de PCR.

La méthode utilisée au laboratoire consiste en la préparation de colonnes de gel d'exclusion à l'aide de G50 superfine que l'on met à gonfler sur une plaque dont la membrane n'a pas de propriété physico-chimique (Plaque Millipore Multiscreen) et ne servent qu'à retenir les colonnes.

Préparation de la plaque

- Prendre une plaque support de G50 superfine (poudre sèche) et le chargeur de colonnes,
- Verser la G50 superfine en excès sur les puits du chargeur de colonnes.
- A l'aide de la plaque transparente, étaler la poudre pour remplir chaque puits de façon homogène en prenant garde que chaque puits soit bien rempli complètement.
- Récupérer le surplus de G50.
- Disposer une plaque sur le chargeur de colonnes, les puits dirigés vers le chargeur,
- Retourner le dispositif et le taper 1 ou 2 fois sur la paillasse pour transvaser la G50 superfine du chargeur vers la plaque.
- Reprendre la plaque et ajouter 300 µl d'eau distillée stérile par puits.
- Laisser reposer 3 heures à température ambiante.

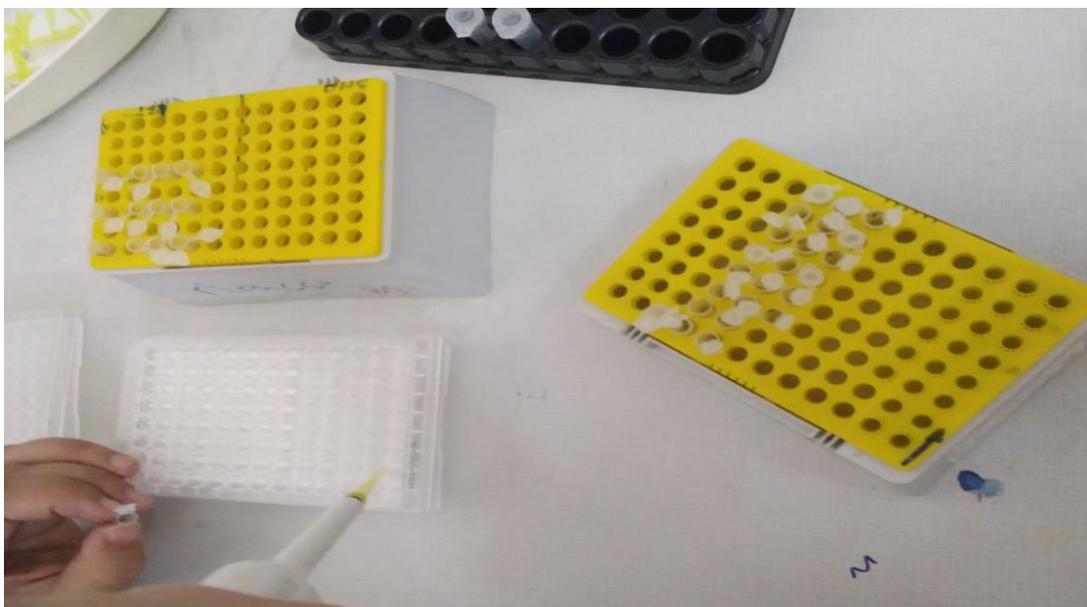


Figure 12 : Préparation de la plaque millipore

La plaque millipore est positionnée sur une autre plaque de séquençage, bien scotchée, bien enfermée et bien équilibrée par une pesée.

Entre temps prendre une autre plaque neuve pour séquences et mettre dans les 98 puits et selon le nombre des patients qu'on a on rajoute 40 µl d'ETDA filtré (faut mettre dans les puits vides sans malades de l'ETDA filtré pour que le séquenceur n'aspire pas de l'air qui est dangereux pour le capillaire

Ensuite après les 4min, retirer la plaque de G50 de la centrifugeuse et verser l'eau contenue dans la G50 qui a été retenue dans la plaque de réception.

Ensuite remettre , celle qu'on a remplacé avec 40 µl d'ETDA filtré, bien la positionnée sur la plaque de G50 et ajouter la totalité du produit purifié a la G50 de la réaction de séquence, ensuite grâce a une pipette positionner juste au centre de la G50 tout le produit de pcr de séquences et centrifuger 4min a 2500t /mn.

Récupérer la plaque de réception, lui placer un film de caoutchouc Septa et la placer en sandwich entre deux plaques noir et blanche et donner au séquenceur.

Si l'utilisation est différée dans le temps

- Conservation possible de la plaque millipore à +4 degrés (plaque emballée dans du film plastique Saran pour éviter l'évaporation).
- Réutilisation de la plaque multiscreen de millipore :
- Les plaques multiscreen de millipore peuvent être réutilisées une fois après lavage, pour cela :
- Laisser sécher la plaque une nuit (après utilisation)
- Evacuer par retournement le gel séché dans une poubelle de déchets septiques
- De nouveau laisser sécher la plaque une nuit
- Retourner la plaque et la taper sur un essuie-tout pour évacuer les derniers résidus de G50 séchées
- Charger 300 µl d'eau distillée dans chaque puits, évacuer par retournement
- De nouveau charger 300 µl d'eau distillée, positionner une plaque poubelle sous la plaque, centrifuger 5mn à 910 g à température ambiante,
- Vider la plaque poubelle et recommencer une centrifugation pour finir de sécher les membranes de la plaque millipore,
- Laisser sécher une nuit pour s'assurer de la bonne déshydratation des 96 membranes,
- La plaque est maintenant prête à être réutilisée.

V.2.8. Le séquençage

Principe

Le séquençage des gènes consiste à déterminer la séquence des nucléotides qui les constituent. C'est une étape majeure dans la connaissance du génome. Il n'existe aucune méthode directe de détermination de la séquence des nucléotides, mais aujourd'hui de nombreuses manipulations nécessaires au séquençage sont automatisées.

Les nucléotides au sein des acides nucléiques, sont liés par une liaison phosphodiester qui s'établit entre le groupement OH du carbone 3' du ribose du nucléotide dit en position 5' et le phosphore du groupe phosphoryle en position 5' du nucléotide dit en position 3'.

La méthode de séquençage de Sanger (dite par terminaison de chaîne) utilise des nucléotides appelés didésoxyribonucléotides (ddNTP) qui ont un atome d'hydrogène à la place du groupement OH sur le carbone 3' du ribose. Ils peuvent donc être incorporés dans un brin d'ADN en cours de synthèse, mais ils ne permettent pas qu'un autre nucléotide soit incorporé après eux: en effet, l'absence de l'atome d'oxygène en 3' empêche la formation d'une nouvelle liaison phosphodiester. L'allongement du brin d'ADN s'arrête donc au niveau du ddNTP incorporé, d'où terminaison de la synthèse de l'ADN.

Les didésoxyribonucléotides utilisés sont chacun marqué par un fluorophore spécifique.

Les fragments d'ADN synthétisés portant ce fluorophore terminal sont appelés des terminateurs d'élongation ou "*BigDye Terminators*" ou "*Dye-labeled terminator*".

L'incorporation d'un ddNTP stoppe la réaction d'élongation (formation d'un fragment plus court que le fragment d'origine). Les didésoxynucléotides, étant en concentration limitée, ne s'incorporent que rarement et au hasard, car le ratio ddNTP / dNTP est de l'ordre de 1/100. Il existe donc 100 fois plus de chance d'incorporer un dNTP qu'un ddNTP.

Si le fragment de PCR initial comporte 100 A (adénine), comme la réaction est faite avec un très grand nombre de copies de la matrice, il y aura incorporation d'un ddATP à toutes les positions possibles (incorporation aléatoire). Il existera dans le tube 100 fragments néosynthétisés de longueurs différentes, tous porteurs à leur extrémité 3' un ddTT fluorescents.

Pour un produit de PCR de 800 pb, il y aura donc génération de 800 fragments fluorescents de tailles différentes.

Ces 800 fragments seront ensuite séparés et analysés par un séquenceur à capillaire, ABI Prism 3500 Genetic Analyzer.

En général une réaction de séquence est effectuée sur les deux brins de l'ADN, ce qui permet de contrôler la présence d'une mutation au niveau de l'ADN et donc de la différencier des erreurs effectuées par l'ADN polymérase utilisée lors de la réaction de séquence.

Il est à noter que parmi les brins néosynthétisés, certains peuvent ne contenir aucun ddNTP (molécule pleine Longueur), ce ne représente qu'un faible pourcentage de l'ensemble des brins obtenus, ne gênent pas la réaction de séquence. Ils ne sont pas détectés car ne sont pas fluorescents.

Chaque type de ddNTP porte un fluorochrome spécifique, ce qui fait que cette technique utilise 4 fluorochromes différents qui émettent, après excitation par un faisceau laser, des fluorescences de couleurs différentes (tableau 7).

Chacune de ces couleurs physiques est convertie en une couleur informatique par un logiciel de traitement de ces différentes fluorescences.

Tableau VII. Les différents ddNTP, les fluorochromes de marquage et les couleurs correspondantes

Didesoxynucleotide tri phosphate	Fluorochrome (couleur physique)	Couleur informatique
ddGTP	R110	Noir
ddTTP	6-TAMRA	Rouge
ddATP	R6G	Vert
ddCTP	ROX	Bleu

La méthode la plus pratiquée aujourd'hui dans les laboratoires a été mise au point par Fred Sanger.

Le fragment d'ADN à séquencer doit être disponible en grande quantité (clonage ou PCR) et les deux brins doivent être séparés.

Ces brins sont placés chacun dans un microtube en présence d'amorces qui s'hybrident avec une des extrémités et qui permettront d'initier la synthèse du brin complémentaire.

Dans ces conditions qui ressemblent à celles de la PCR, la synthèse du second brin d'ADN a lieu, l'ADN polymérase incorpore les nucléotides, mais lorsqu'elle incorpore un nucléotide modifié, la synthèse s'arrête.



Figure 13 : Séquenceur ABI prism (3500 Genetic Analyzer)

V.3. Analyse statistique

Les données ont été recueillies sur fichier Excel. Les valeurs moyennes, les valeurs maximales et minimales, l'écart type et les valeurs de pourcentage et la variance ont été calculées par ordinateur sur Excel.

Troisième partie

Résultats et discussion

VI. Résultats

Notre étude a porté sur total 40 patients atteints de maladie de Parkinson. Nous avons collecté les données démographiques dont l'âge de début (un patient jeune est inférieur à 50 ans), l'âge de diagnostic, le genre (masculin ou féminin); les antécédents familiaux de maladie de Parkinson, le symptôme initial (tremblements de repos, troubles de la marche, rigidité, lenteurs), les manifestations motrices de la maladie de Parkinson. Et dessiné les arbres généalogiques de tous les patients.

VI. 1. Répartition des patients selon le sexe

Tableau VIII. Répartition des patients selon le sexe

	Patients présentant une maladie de Parkinson	
Sexe	Hommes	Femmes
Nombre et pourcentage	21 (52.5%)	19 (47.5%)
Sex Ratio H/F	1.05	
P value	Non significative	

Nos patients atteints de maladie de Parkinson ont été répartis en 21 (52.5%) hommes et 19 (47.5%) femmes.

Nous avons constaté que notre recrutement a comporté plus d'homme que de femmes mais cette différence dans le genre est non significative.

Le sexe Ratio H/F calculé a été de 1.05.

VI.2. Répartition des patients selon l'âge

L'âge de début de la maladie était variable. En effet 70% de nos patients ont débuté la maladie à un âge précoce à un âge moyens de 37.86 avec des extrêmes allant de 12 à 57 ans et 30% à un stade tardif, soit à une moyenne d'âge de 68.5 avec des extrêmes allant de 61 à 80 ans.

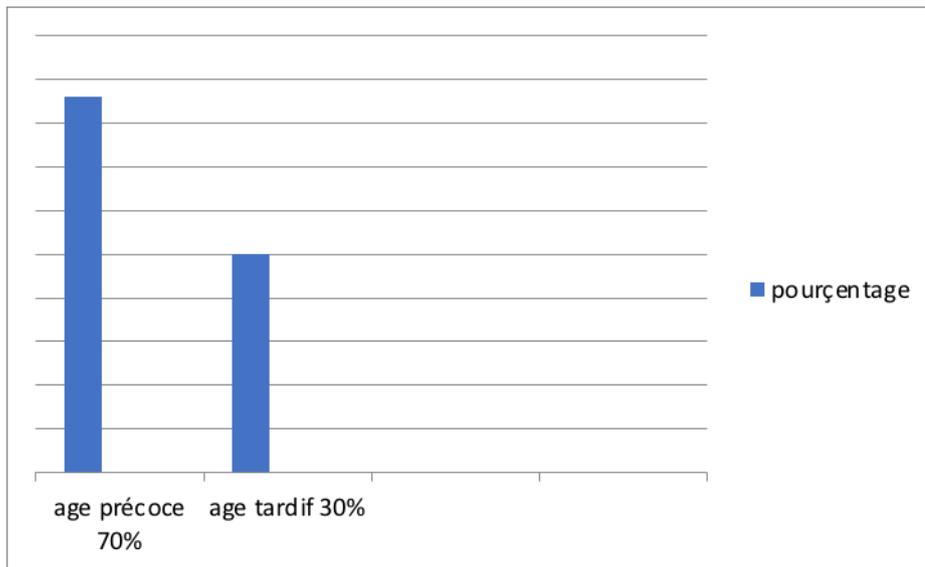


Figure 14. La répartition des patients par tranche d'âge

VI.3. Répartition des patients selon les antécédents familiaux et la consanguinité

Nos patients étaient issus de mariages consanguins dans La consanguinité 17, 5 %. Et vingt-sept virgule cinq pourcent (27.5%) de nos patients ont présenté des antécédents familiaux de maladie de Parkinson.

VI.4. Répartition des patients selon la durée d'évolution de la maladie

La durée moyenne d'évolution de la maladie était de 5 ans avec des extrêmes allant de 1an à 20 ans.

VI.5. Répartition des patients selon les signes cliniques

VI.5.1. Répartition des patients selon les signes cliniques majeurs de la maladie de Parkinson

Tableau. IX. Répartition des patients en fonction des signes majeurs de la maladie

Signes cliniques majeurs	Nombre et %
Tremblement isolé	32.5
Akinésie isolé	12.5

Tremblement et akinésie associés	52.2
Hypertonie plastique	2.8

Certains patients présentant un tremblement comme signe initial d'autres une akinésie et la plupart des patients présentant les deux.

Le tremblement de repos et l'akinésie étaient notés d'une manière isolée respectivement chez 32.5 % et 12.5 % des patients. Ces 2 symptômes moteurs étaient observés d'une manière associée chez 52.2% des patients.

Seulement 2.8 % de nos patients ont présenté une l'hypertonie plastique.

VI.5.2. Répartition des patients selon les signes moteurs de la maladie de Parkinson

Tableau X. Répartition des patients selon les autres signes moteurs

signes moteurs	N (patients)	%
Troubles de la marche	6	15%
Instabilité posturale	2	5%
Fluctuations	3	7.5%
Dyskinésies	2	5%
Dystonie	4	10%

Quinze pour cent de nos patients ont présenté un trouble de la marche, 10% une dystonie, 7.5% des fluctuations et 5% une instabilité posturale et une dyskinésie respectivement. Les fluctuations et dyskinésie et autres sont apparues au cours de l'évolution.

VI.5.3. Répartition des patients selon les signes non moteurs de la maladie de Parkinson.

Tableau XI. Répartition des patients selon les signes non moteurs

Signes non moteurs	N (patients)	%
Douleur	3	8%
Anxiété	6	15%

Troubles du sommeil	3	8%
Troubles dysautonomiques	0	0%
Chutes	1	2.5%
Troubles de la mémoire	3	7.5%
Hallucinations visuelles	0	0%

L'anxiété a représenté 15% des signes non moteurs chez nos patients, suivie de la douleur et des troubles du sommeil puis des troubles de la mémoire avec respectivement une même fréquence de 8%, puis des troubles de la mémoire (7.5%) et enfin des chutes (2.5%). Aucun de nos patients n'a présenté Troubles dysautonomiques ou Hallucinations visuelles.

VII. Résultats de la mise au point de la technique moléculaire

Le but de la deuxième partie de l'étude était de développer le diagnostic moléculaire de la maladie de Parkinson par la recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR/séquençage de Sanger.

Pour la mise au point de la technique de génotypage de la mutation G2019S du gène LRRK2, nous avons utilisé de nombreux articles de la mutation S2019G de l'exon 41 du gène LRRK2. Pour l'achat des amorces, **nous avons utilisé comme référence plusieurs articles dont celui de Dipanwita Sadhukhan et al. réalisé en 2020 (Dipanwita Sadhukhan et al., 2020)**

Au cours du développement de la technique, les conditions de la réaction PCR n'ont pas été maintenues identiques à celles de l'article. La température d'hybridation a été ajustée à 56.5°C et la concentration des amorces a été diluée à 20 pmol/μl au lieu de 25 à 30 pmol/μl et la concentration de dNTP ajustée à 2.5mM au lieu de 5 mM .

Les températures d'hybridation des amorces qui encadrent l'exon 41 gène LRRK2 à amplifier proposées par les articles variaient de 56 à 61°C (Cho JW et al.,2007 ; Lu CS et al., 2005. Nous avons aussi calculé la température d'hybridation à partir de la formule suivante : $(2AT + 4GT) - 5^{\circ}C$.

Nous avons réalisé un gradient de température et nous avons opté ensuite pour la température 60°C car c'était le profil le plus net sur notre gel d'agarose à 2%.

La concentration des amorces n'était pas aussi la même dans les articles que nous avons utilisé. Nous avons ajustée la concentration des amorces à 20 pmol/μl au lieu de 10 pmol/μl et 25 pmol/μl réalisé une gamme de Mgcl2 nous avons opté pour la concentration de.

Après la mise au point de la PCR, nous avons séquencé l'exon 41 du gène LRRK2 chez 4 patients seulement.

Après alignement des séquences des patients avec celle de l'exon 41 importé de la base de données NCBI, nous avons constaté qu'aucun de nos patients n'a présenté la mutation S2019 de l'exon 41 du gène LRRK2.

Le séquençage de l'exon 41 des autres patients est en cours.

VIII. Discussion

Cette étude nous a permis d'étudier les caractéristiques cliniques de 40 patients présentant une maladie de Parkinson et génétique de seulement 4 patients vue les contraintes que nous avons rencontré pour la mise au point de la technique de recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2, la durée courte de notre stage et la présence d'un délai pour le dépôt de notre mémoire.

-Le sexe

Le sexe est le premier facteur de risque de la maladie de Parkinson. En effet, cette dernière est plus fréquente chez les hommes que les femmes. Cependant, nos résultats ont montré qu'il n'existait pas de différence significative entre le sexe masculin et féminin dans l'apparition de la maladie ce qui est en accord avec de nombreux résultats dont ceux Ahmed Bouhouche *et al.* (Ahmed Bouhouche *et al.*, 2017) et Gan-Or *et al.* (Gan-Or *et al.* 2015), El-Tallawy Hamdy *et al.* (El-Tallawy Hamdy *et al.*, 2013) et discordant de ceux des résultats de PringsheimT *et al.* (PringsheimT *et al.*, 2014) et Benito-León J *et al.* , Bermejo-Pareja F *et al.* (Bermejo-Pareja F *et al.* 2003) et Clavería LE *et al.* (Clavería LE *et al.*, 2002).

-L'âge

La prévalence de la maladie de Parkinson augmente avec l'âge (Rijk Maarten, *et al.* 1997. Dans notre étude 70% des patients ont présenté la maladie à un âge précoce avec un âge moyen de début de 37.86 avec des extrêmes allant de 12 à 57 ans et 30% à un stade tardif, soit à une moyenne d'âge de 68.5 avec des extrêmes allant de 61 à 80 ans.

Dans l'étude Egyptienne d'El-Tallawy *et al.* ayant porté sur 15,482 sujets, l'âge moyen des patients au diagnostic de la maladie était de 40 ans (El-Tallawy *et al.*, 2013), ce qui est très proche de nos résultats. Cela pourrait être expliqué par le très grand nombre de la population Égyptienne mais aussi et à leur âge moyen plus jeune car la prévalence augmente avec l'âge mais devenant plus faible chez les personnes très âgées (Wong Suzy *et al.*, 2014).

Mc Inerney-Leo A *et al.*, ont rapporté un âge moyen plus jeune chez les noirs . Mais actuellement dans les pays en voie de développement une augmentation de l'espérance de vie a été observée ainsi une augmentation des maladies liée à l'âge telle que la maladie de Parkinson (Mc Inerney-Leo A *et al.* en 2004).

-Prévalence et incidence de la mutation G2019S LRRK2

Dans d'autres études antérieures, il a été rapporté que l'incidence de la MP augmentait rapidement après l'âge de 60 ans. Plus fréquente chez l'homme (91%) que chez les femmes, sauf chez les asiatiques (Van Den Eeden Stephen *et al.*, 2003).

Il a été aussi démontré dans certaines études que la prévalence de la MPI est plus élevée chez les personnes âgées mais faible chez les personnes jeunes. Il existe une prédominance masculine, car il y a le rôle protecteur probable de l'œstrogène chez la femme (Yoav Ben-Shlomo , 1997 ; Femi Owolabi Lukman *et al.*, 2012, Hirsch Lauren *et al.* , 2016.)

Selon Wong *et al.*, la durée moyenne d'évolution de la maladie était de 5ans avec des extrêmes allant de 1 an a 20 ans avec un âge de début de 64.4 ans avec un retard de diagnostic de 1,9 ans. Pour la MP du sujet jeune, le délai était de 7 ans. Donc, un jeune âge au début est associé à un délai plus long pour le diagnostic (Wong *et al.*, 2014).

- La consanguinité

Nos patients étaient issus de mariages consanguins dans 17, 5 % . Et ont présenté dans vingt-sept virgule cinq pourcent (27.5%) des antécédents familiaux de maladie de Parkinson. En effet, le taux de consanguinité est élevé dans la population Algérienne. Fréquents dans de nombreux pays africains, les mariages consanguins ne sont pas sans risques. Ces unions entre cousins ou descendants du même ancêtre favorisent l'apparition de maladies génétiques. Surtout pour celles dont la transmission se fait de manière autosomique récessive.

Il faut dire que l'enquête la plus récente en Algérie a été effectuée en 2018. Cette enquête réalisée par la Fondation pour la recherche médicale (Forem, 2007) avait révélé que 38,30 % des mariages en Algérie sont consanguins. Les résultats de cette enquête montrent un taux de consanguinité variable d'une wilaya à une autre. Le taux le plus élevé a été enregistré dans la wilaya de Tébessa (Est), avec 88 %, tandis que le plus bas a été recensé à Oran (ouest), avec 18,50 %.

-Aspects moteurs

Tremblement et l'akinésie

Sur le plan clinique, nos patients ont montré que le tremblement de repos et l'akinésie étaient notés d'une manière isolée respectivement chez 32.5% et 12.5 % des patients. Ces 2 symptômes moteurs étaient observés d'une manière associée chez 52.2% des patients. Par contre 2.8 % seulement de nos patients ont présenté une l'hypertonie plastique.

Une étude Egyptienne réalisée en 2013 a montré que la forme tremblante de MP dominait avec une fréquence de 51,50%, mixte dans 27,30% et akinéto-rigide dans 21,20% (El-Tallawy *et al.*, 2013). Alors que dans l'étude réalisée par Okubadejo Njideka *et al.*, les tremblements dominant dans 31,6 % des cas ; ils étaient mixtes dans 55,1% et akinéto-rigide dans 14,3% (Okubadejo Njideka *et al.*, 2010). Les troubles cognitifs étaient à 24,20% dans une étude d'El-Tallawy HN *et al.* (El-Tallawy *et al.*, 2013).

Dyskinésies et dystonies

Les résultats des études concernant les dyskinésies et les dystonies sont controversées certains auteurs ont retrouvées une plus grande prévalence des dyskinésies (Nishioka *et al.*, 2010) et de la dystonie et d'autres au contraire ont montré des chiffres similaires entre les deux groupes (Nabli *et al.*, 2015).

-Aspects non moteurs

Troubles du sommeil

Les troubles du sommeil ont été vus chez 8% de patients nos ; Ce résultat est discordant de celui des données de la littérature qui rapportent une fréquence plus élevée de ces derniers évalués uniquement par l'item 11 du score NPI (Neuropsychiatric Inventory). (Goldwurm *et al.*, 2006).

Aucun trouble dysotonique n'a été retrouvé chez nos patients ce qui n'est pas en accord avec la plus part des données de la littérature (Gaig *et al.*, 2014).

Concernant la mise au point de la technique moléculaire on comparant la séquence de l'exon 41 importé de la base de données NCBI, on constate aucun changement, alors qu'aucun de nos patients n'a présenté la mutation de l'exon 41 du gène LRRK2. La mutation G2019S joue un rôle important en Afrique du nord associé par un effet sporadique ou familiale, le domaine commence à réaliser que les gènes à l'origine identifiés dans des grandes familles parkinsoniennes peuvent également contenir des mutations rares à pénétrance incomplète à l'origine de formes sporadiques. Et il est maintenant clairement

établi que la fréquence des mutations pathogéniques responsables de la MP varie d'une population à l'autre. Cette dernière observation s'applique aussi aux polymorphismes associés à la MP (Satake et al, 2009).

Conclusion

La maladie de parkinson n'est pas rare dans notre pays. L'analyse des données épidémiologiques, cliniques et certaines données génétiques a montré qu'il n'existait pas de différence significative ente le sexe masculin et féminin dans l'apparition de la maladie de Parkinson. Un âge précoce d'apparition de cette dernière avec une fréquence de 70% et un âge moyen de début de 37.86 ans et un âge de 68.5 avec dans les formes tardives.

Nos patients étaient issus de mariages consanguins dans 17, 5 %. Et dans 27.5% des cas ont présenté des antécédents familiaux de maladie de Parkinson.

Sur le plan clinique, le tremblement de repos et l'akinésie étaient notés d'une manière isolée respectivement chez 32.5% et 12.5 % des patients. Ces 2 symptômes moteurs étaient observés d'une manière associée chez 52.2% des patients. Par contre 2.8 % seulement de nos patients ont présenté une l'hypertonie plastique. Les troubles du sommeil ont été vus chez 8% des patients et aucun trouble dystonique n'a été retrouvé chez nos patients.

Après alignement des séquences des patients avec celle de l'exon 41, nous avons constaté qu'aucun de nos patients n'avait présenté la mutation S2019 de l'exon 41 du gène LRRK2.

Le séquençage de l'exon 41 des autres patients est en cours.

Nos résultats concordent avec de nombreuses données de la littérature.

Perspectives thérapeutiques

Il existe aujourd'hui plusieurs stratégies de traitement, dont la levodopa. Traitement médicamenteux de référence, considéré comme la molécule la plus efficace sur les troubles moteurs mais provoquent des dyskinésies et des fluctuations motrices à long terme. D'autres traitements médicamenteux ont vu le jour pour palier aux effets indésirables liés à la levodopa. D'autres stratégies telles que la diffusion d'apomorphine en sous cutané ou la stimulation cérébrale ont été proposées aux patients. Mais aujourd'hui le problème avec ces différentes stratégies est que la maladie continue d'évoluer. Donc l'un des objectifs phares des scientifiques et des chercheurs a été de pouvoir remplacer les cellules endommagées au niveau cérébral. C'est ainsi qu'une nouvelle façon d'envisager la prise en charge médicale par la thérapie cellulaire et la thérapie génique de la MP a été entreprise. Plusieurs essais cliniques de phase I et II sur des patients atteints de la MP ont été effectués suite aux effets bénéfiques constatés sur les essais précliniques. Ces thérapies innovantes apportent un espoir aux malades avec peut être de futures applications thérapeutiques au delà des essais cliniques.

Références bibliographiques

- Aarsland D, Brønnick K, Ehrt U, De Deyn PP, Tekin S, Emre M, et al: Neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease and dementia: frequency, profile and associated care giver stress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 78: 36-42, 2007.
- Aarsland D, Kramberger MG: Neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis*, 5: 659-67, 2015.
- Abboud S et Haile DJ: A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem*, 275: 19906-12, 2000.
- Alcalay RN, Mirelman A, Saunders-Pullman R, Tang M-X, Mejia Santana H, Raymond D, et al: Parkinson disease phenotype in Ashkenazi Jews with and without LRRK2 G2019S mutations. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*, 28: 1966-71, 2013.
- ANAES: « Rapport d'étape » : Évaluation de la stimulation cérébrale profonde idiopathique, 2002.
- Arjona V, Minguez-Castellanos A, Montoro RJ, Ortega A, Escamilla F, Toledo-Aral JJ, et al: Autotransplantation of human carotid body cell aggregates for treatment of Parkinson's disease. *Neurosurgery*, 53: 321-8, discussion 328-30, 2003.
- Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FE: In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science* 1, 353: 43-54, 2016.
- Bastianetto S: telencéphale. *neuromédia*. 2021.
- Ben Romdhan S : étude génétique et corrélation génotype/phénotype de la maladie de Parkinson. *Génétique humaine*, 2019
- Benabid AL, Chabardes S, Mitrofanis J, Pollak P: Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 8: 67-81, 2009.
- Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH, Jaros E, Hersheson JS, Betts J, Klopstock T, Taylor RW, Turnbull DM: High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nature genetics*, 38: 515-517, 2006.
- Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT: Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature neuroscience*, 3: 1301-1306, 2000.

- Beyer PL, Palarino MY, Michalek D, Busenbark K, Koller WC: Weight change and body composition in patients with Parkinson's disease. *J Am Diet Assoc*, 95: 979–83, 1995.
- Blanckenberg J, Bardien S, Glanzmann B, et al: The prevalence and genetics of Parkinson's disease in subSaharan Africans. *J Neurol Sci*, 335: 22–5, 2013.
- Bonifati V, Rizzu P, Squitieri F, Krieger E et al: DJ-1 (PARK7), a novel early-onset recessive autosomal Parkinsonism gene. *Neurol Sci*, 24: 159-160, 2003.
- Bonnet AM et Houeto JL: Pathophysiology of Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother*, 53: 117 -121, 1999.
- Borie C, Gasparini F, Verpillat P et al: Association study between polymorphisms of iron-related genes and parkinson's disease. *Neurol J*, 249: 801-804, 2002.
- Bouhouche A, Tibar H, Ben El Haj R et al: LRRK2 G2019S mutation: prévalence and clinical features in marrocans with parkinson's disease. *Parkinson disease*, 1-7, 2017.
- Bower JH et Zenebe G: Neurologic services in the nations of Africa. *Neurology*, 64: 412–5, 2005. Doi: 10.1212/01.WNL.0000150894.53961.E2.
- Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, et al: Influence of strict, intermediate, and broad diagnostic criteria on the age and sex-specific incidence of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 15: 819–25, 2000.
- Brice A: Genetics of Parkinson's disease: LRRK2 on the rise. *Brain*, 128: 27-29, 2005.
- BRONSTEIN J, CARVEY P, CHEN H, et al: Meeting Report: Consensus Statement-Parkinson's Disease and the Environment: Collaborative on Health and the Environment and Parkinson's Action Network (CHE PAN). *Environ Health Perspect* , 117: 117-121, 2009.
- Chen H, Huang X, Guo X, et al: Smoking duration, intensity, and risk of Parkinson disease. *Neurology*, 74: 878–84, 2010.
- Chen H, Zhang SM, Hernan MA, Willett WC, Ascherio A: Weight loss in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 53: 676–9, 2003.
- Cheshire Jr WP et Wszolek ZK: Body mass index is reduced early in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 11: 35–8, 2005.
- Cicero CE, Raciti L, Monastero R, Davi M, Zappia M, Nicoletti A: Cardiovascular autonomic function and MCI in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2019. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.10.023>.

- Clarkson ED et Freed CR: Development of fetal neural transplantation as a treatment for Parkinson's disease. *Life Sci*, 65: 2427-37, 1999.
- Corti O et Brice A: la maladie de Parkinson : que nous apprennent les gènes responsables des formes familiales. *médecine/science*, 613-619, 2003.
- Corvol JC, Artaud F, Cormier-Dequaire F, Rascol O, Durif F, Derkinderen P, et al: Longitudinal analysis of impulse control disorders in Parkinson disease. *Neurology*, 91: 189-201, 2018.
- Cuenca-bermejo L, Almela P, Navarro-zaragoza P, Villalba EF, Gonzalez-Cuello AM, Laorden ML, Herrero MT: Cardiac Changes in Parkinson's Disease: Lessons from Clinical and Experimental Evidence. *International Journal of Molecular Science*, 22: 2021. DOI: 10.3390/ijms222413488.
- Defebvre L: Les nouveaux critères diagnostiques de maladie de Parkinson. *Pratique neurologique*, 8: 3-7, 2017.
- Defebvre L: maladie de Parkinson : rôle des facteurs génétiques et environnementaux implication en pratique clinique quotidienne. *Revue neurologique*. 764-769, 2010.
- Deierborg T, Soulet D, Roybon L, Hall V, Brundin P: Emerging restorative treatments for Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol*, 85: 407–432, 2008.
- Deng H, Dodson M, Huang H, Guo M: Parkinson's disease pink 1 and parkin genes promote mitochondrial fission and/or inhibit fusion in fruit flies. *PNAS*, 105: 14503-14508, 2008.
- Derost PP, Ouchchane L, Morand D, Ulla M, Llorca PM, Barget M, et al: Is DBS-STN appropriate to treat severe Parkinson disease in an elderly population? *Neurology*, 68: 1345–5, 2007.
- Devi L, Raghavendran V, Prabhu BM, Avadhani NG, Anandatheerthavarada HK: Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain. *The Journal of biological chemistry*, 283: 9089-9100, 2008.
- Dorval V, Mandemakers M, Jolivette F, Coudert L, Mazroui R, De Strouper B, Hebert S: Gene and MicroRNA transcriptome analysis of Parkinson's related LRRK2 mouse models. *PLoS One*, 10, 9, 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0085510.
- Douglas M et Hazlehurst J: Gene Therapy for Parkinson's Disease. 431: 430–431, 2010.
- Drijgers RL, Dujardin K, Reijnders JS, Defebvre L, Leentjens AF: Validation of diagnostic criteria for apathy in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 16: 656-60, 2010.

- Duque AF, Lopez JC, Benitez B, Hernandez H, Yunis JJ, Fernandez W, Arboleda H, Arboleda G: Analysis of the *LRRK2* p.G2019S mutation in Colombian Parkinson's Disease Patients. *Colombia Médica*, 46: 122-126, 2015.
- Ehringer H, Hornykiewicz: Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system. *Klin Wochenschr*, 38: 1236-1239, 1960.
- Elbaz A et Damier P: Epidémiologie de la maladie de Parkinson. *La Lettre du Neurologue*, 8: 13-15, 2004.
- Emile J et al: Parkinson's disease, dysautonomy, and auto-antibodies directed against sympathetic neurones. *Rev Neurol*, 1980.
- Emre M, Aarsland D, Brown R, Burn DJ, Duyckaerts C, Mizuno Y et al: Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Mov Disord*, 22: 1689-1707, 2007.
- Engel GL: The clinical application of the biopsychosocial model. *Am J Psychiatry*, 137: 535-544, 1980.
- Equipe Passeport santé: cervelet. *Passeport santé*. 2017.
- Fahn S: Levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neural. Transm*, 71: 1-15, 2006.
- Fahn S: Levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neural. Transm. Suppl*, 71: 1-15, 2000.
- Fearnley JM, Lees AJ: Ageing and parkinson's disease: regional selectivity of black matter. *Brain*, 5: 2283-2301, 1991.
- Fercchichi S, Giraud M, Smaghe A: La démence a corps de Lewy. *Revue de Geriatrie*. 493-498, 2000.
- Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Pappas N, Logan J, MacGregor R, Alexoff D, Shea C, Schlyer D, Wolf AP, Warner D, Zezulkoiva I, Cilento R: Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers. *Nature*, 379: 733-6, 1996.
- Friedman A: Old-onset Parkinson's disease compared with young-onset disease: clinical differences and similarities. *Acta Neurol Scand*, 89: 258-26, 1994.
- Fukui H et Moraes CT: The mitochondrial impairment, oxidative stress and neuro degeneration connection: reality or just an attractive hypothesis? *Trends Neurosci* 31: 251-256, 2008.

- Fytche DH, Creese B, Politis M, Chaudhuri KR, Weintraub D, Ballard C et al: The psychosis spectrum in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*, 13: 81-95, 2017.
- Gandhi PN, Wang X, Zhu X, Chen SG, Wilson-Delfosse AL: The Roc domain of leucine rich repeat kinase 2 is insufficient for interaction with microtubules. *J Neurosci Res*, 86: 1711-1720, 2008.
- German DC, Manaye K, Smith WK: Loss of mesencephalic dopaminergic cells in parkinson's disease : computer visualisation. *Annals of neurology*, 4: 507-514, 1989.
- Gillies GE, Pienaar IS, Vohra S et al: Sex differences in Parkinson's disease. *Front Neuroendocrinol*, 2014.
- Goldwurm S, Zini M, Di Fonzo A, De Gaspari D, Siri C, Simons EJ et al: LRRK2 G2019S mutation and Parkinson's disease: a clinical, neuropsychological and neuropsychiatric study in a large Italian sample. *Parkinsonism Relat Disord*, 12: 410-419, 2006.
- Gonzalez-Fernandez MC, Lezcano E, Ross OA, Gomez-Esteban JC, Gomez-Busto F, Velasco F et al: Lrrk2-associated parkinsonism is a major cause of disease in Northern Spain. *Parkinsonism Relat Disord* 13: 509-515, 2007.
- Gonzalez-Latapi P, Bayram E, Litvan I, Marras C: Cognitive Impairment in Parkinson's disease: Epidemiology, Clinical Profile, Protective and Risk Factors. *Behavioral sciences*, 11: 5-22, 2021.
- Gowers WR: A manual of diseases of the nervous system. *Philadelphia: Blakiston*, 1893.
- Greggio E, Jain S, Kingsbury A, Bandopadhyay R, Lewis P, Kaganovich A, van der Brug MP, Beilina A, Blackinton J, Thomas KJ et al: Kinase activity is required for the toxic effects of mutant LRRK2/dardarin. *Neurobiol. Dis*, 23: 329–341, 2006.
- Gutteridge JM: Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun*, 19: 141-158, 1993.
- Hao Deng, WeiDong Le, Yi Guo, Hunter BC, Wen Jie Xie, MaoSheng Huang, Jankovic J: Genetic analysis of LRRK2 mutations in patients with Parkinson disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 251: 102–106, 2006.
- Hartl FU, Bracher A et Hayer-Hartl M: Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, 20, 475: 324-332, 2011.
- Hattori N, Tanaka M, Ozawa T, Mizuno Y: Immunohistochemical studies on complex I, II, III, and IV of mitochondria in Parkinson's disease. *Annals of neurology*, 30: 563- 571, 1991.

- Healy DG, Falchi M, O'sullivan SS, Bonifati V et al: phenotype, genotype and global genetic penetration of LRRK2-associated Parkinson's disease : a case-control study. *The lancet neurology*, 7: 583-590, 2008.
- Hernan MA, Takkouche B, CaamanoIsorna F, GestalOtero JJ: A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 52: 276-84, 2002.
- Hong DP, Fink AL, Uversky VN: Smoking and Parkinson's disease: does nicotine affect alpha-synuclein fibrillation? *Biochim Biophys Acta*, 1794: 282-90, 2009.
- Hsieh CH, Shaltouki A, Gonzalez AE, Bettencourt da Cruz, Burbulla: Functional impairment in Mito degradation and mitophagy is a Shared feature in familial and Sporadic parkinson disease. *Cell stem cell*, 19: 709-724, 2016.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/120892> (National Center for Biotechnology Information: NCBI gene bank).
- Huisman E, Uyling Hbm, Hoogland PV: A 100 % increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in Parkinson s disease. *Mov Disord*, 19: 687-692, 2004.
- Hulihan MM, Ishihara-Paul L, Kachergus J, Warren L, Amouri R, Elango R, et al: LRRK2 Gly2019Ser penetrance in Arab–Berber patients from Tunisia: a case-control genetic study. *Lancet Neurol*, 7: 591-4, 2008.
- Infante J, Rodríguez E, Combarros O, Mateo I, Fontalba A, Pascual J, et al. LRRK2 G2019S is a common mutation in Spanish patients with late-onset Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 395: 224-226, 2006.
- Jafari S, Etminan M, Aminzadeh F et al: Head injury and risk of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*, 28: 1222–9, 2013.
- Jenner P: Oxydative stress in parkinson's disease. *Annals of neurologie*, 53: 26-38, 2003.
- Ji Won Han, Yebin D, Ahn, Won-Seok Kim, Cheol Min Shin, Seong Jin Jeong, Yoo Sung Song, Yun Jung Bae, Jong-Min Kim: Psychiatric Manifestation in Patients with Parkinson's Disease. *J Korean Med Sci*, 19, 2018.
- Jin-Whan Cho, Sung-Yeon Kim, Sung-Sup Park, Han-Jun Kim, Tae-Beom Ahn, Jong-Min Kim, Beom-Seok Jeon: The G2019S LRRK2 Mutation is Rare in Korean Patients with Parkinson's Disease. *Can. J. Neurol. Sci*, 34: 53-55, 2007.
- Kaji Y et Hirata K: Apathy and anhedonia in Parkinson's disease. *ISRN Neurol*, 2011.

- Kamel F, Tanner C, Umbach D et al: Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. *Am J Epidemiol*, 165: 364–374, 2007.
- Kasten M, Chade A, Tanner CM: Epidemiology of Parkinson's disease. *Handb Clin Neurol*, 83: 129–51, 2007.
- Katzenschlager R et al: Mucuna pruriens in Parkinson's disease: a double blind clinical and pharmacological study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 75: 1672-1677, 2004.
- Kiebertz K, Wunderle KB: Parkinson's disease: Evidence for environmental risk factors. *Mov Disord*, 28: 8–13, 2013.
- Kim YE, Hipp MS, Bracher A, Hayer-Hartl M, Hartl FU: Molecular chaperone functions in protein folding and proteostasis. *Annu Rev Biochem* 82: 323-355, 2013.
- Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H et al: Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*, 392: 605-608, 1998.
- Kumari U et Tan EK: LRRK2 in parkinson's disease: genetic and clinical studies from patients. *The FEBS journal* , 22: 6455-6463, 2009.
- Kunikowska G, Jenner P: Alterations in m-RNA expression for CU,Znsuperoxide dismutase and glutathione peroxidase in the basal ganglia of MPTP-treated marmosets and patients with Parkinson's disease. *Brain Res*, 968: 206-218, 2003.
- Lambeng N., Hourez R., Torch S et al: mort neuronale dans le modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson. *Médecine /science*. 457-466, 2002.
- Lanctôt KL, Agüera-Ortiz L, Brodaty H, Francis PT, Geda YE, Ismail Z, et al: Apathy associated with neurocognitive disorders: recent progress and future directions. *Alzheimers Dement*, 13: 84-100, 2017.
- Landis GN, Tower J: Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev*, 126: 365-379, 2005.
- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I: Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*, 219: 979-80, 1983.
- Lesage S, Durr A, Tazir M, Lohmann, E, Leutenegger AL, Janin S, Pollak P, Brice A: LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. *N. Engl. J. Med*, 354: 422–423, 2006.

- Lesage S, Leutenegger AL, Brice A: LRRK2 un gène de la famille RCO impliqué dans la maladie de Parkinson. *médecine/science*, 1015-1017, 2005.
- Lücking CB, Abbas N, Dürr A, et al: Homozygous deletions in parkin gene in European and North African families with autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Lancet*, 1998.
- Ma CL, Su L, Xie JJ et al: The prevalence and incidence of Parkinson's disease in China: A systematic review and meta-analysis. *J Neural Transm*, 121: 123–34, 2014.
- Manzoni C, Lewis PA: Dysfunction of the autophagy/lysosomal degradation pathway is a shared feature of the genetic synucleinopathies. *FASEB J*, 27: 3424–3429, 2013.
- Marieke C, Coulibaly T, Bardien S et al: Parkinson's disease research on the African continent: obstacles and opportunities. *Frontiers in Neurology*, 2020.
Doi : 10.3389/fneur.2020.00512.
- Markus HS, Tomkins S, Poupe GM : increased prevalence of undernutrition in parkinson's disease and its relationship to clinical parameters of the disease. *Journal of neural transmission*, 5: 117-125, 1993.
- Marras C, Schüle B, Schuele B, Munhoz RP, Rogaeva E, Langston JW, et al: Phenotype in parkinsonian and nonparkinsonian LRRK2 G2019S mutation carriers. *Neurology*, 77: 325-33, 2011.
- Marsh L: Depression and Parkinson's Disease: Current Knowledge. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 12, 2016. Doi: 10.1007/s11910-013-0409-5
- McKie AT et al: An ironregulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 29: 1755-1759, 2001.
- Mellick GD, Gartner CE, Silburn PA, Battistuta D: Passive smoking and Parkinson's disease. *Neurology*, 67: 179-80, 2006.
- Moisan f, Spinosi J, Dupupet JL, et al: The relation between type of farming and prevalence of Parkinson's disease among agricultural workers in five French districts. *Mov Disord*, 26: 271–9, 2011.
- Muangpaisan W, Hori H, Brayne C: Systematic review of the prevalence and incidence of Parkinson's disease in Asia. *J Epidemiol* 19: 281–93, 2009.
- Nabli F, Ben Sassi S, Amouri R, Duda JE, Farrer MJ, Hentati F: Motor phenotype of LRRK2-associated Parkinson's disease: A tunisian longitudinal study: Motor Phenotype of LRRK2 PD. *Mov Disord*, 30: 253-258, 2015.

- Nabli F, Ben Sassi S, Amouri R, Duda JE, Farrer MJ, Hentati F. Motor phenotype of LRRK2-associated Parkinson's disease: A tunisian longitudinal study: Motor Phenotype of LRRK2 PD. *Mov Disord*, 30: 253-258, 2015.
- Nicard Q: Thalamus. *Passeport santé*. 2016.
- Nichols WC, Pankratz N, Hernandez D, et al: Genetic screening for a single common LRRK mutation in familial Parkinson disease. *Lancet*, 365: 410-2, 2005.
- Nishioka K, Kefi M, Jasinska-Myga B, Wider C, Vilarino-Guell C, Ross OA, et al: A comparative study of LRRK2, PINK1 and genetically undefined familial Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 81: 391-5, 2010.
- Nolen B, Taylor S, Ghosh, G: Regulation of protein kinases: controlling activity through activation segment conformation. *Mol. Cell*, 15: 661–675, 2004.
- Olanow CW, Brin MF, Obeso JA: The role of deep brain stimulation as a surgical treatment for Parkinson's disease. *Neurology*, 55: S60-66, 2000.
- Olanow CW, Rascol O, Hauser R, Feigin PD, Jankovic J, Lang A, Langston W, Melamed E, Poewe W, Stocchi F, Tolosa E: A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 361: 1268-78, 2009.
- Ozelius LJ, Senthil G, Saunderson-Pullman R, Ohmann E, Deligtisch A, Tagliati M, et al: LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*, 354: 424–425, 2006.
- Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans EW, Gilks WP, Simon J, van der Brug M, Lopez de Munain A, Aparicio S, Martinez Gil A, Khan N, Johnson J, Martinez JR et al: Cloning of the genecontaining mutations that cause PARK8-linked Parkinson'sdisease. *Neuron*, 44: 595-600, 2004.
- Palf S, Gurruchaga JM, Ralph GS, Lepetit H, Lavisse S, Buttery PC, Watts C, Miskin J et al: a Mitrophanous, “Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial”. *Lancet*, 383: 1138–1146, 2014.
- Panov AV, Lund S, Greenamyre JT: Ca²⁺-induced permeability transition in human lymphoblastoid cell mitochondria from normal and Huntington's disease individuals. *Molecular and cellular biochemistry*, 269: 143-152, 2005.

- Parker WD, Parks JK, Swerdlow RH: Complex 1 deficiency in parkinson's disease frontal cortex. *Brain research*, 1189: 215-218, 2008.
- PARKINSON J: An essay on the shaking palsy. *Whittingham and Rowland, London*, 1817.
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide S et al : Mutation of the α -synuclein gene identified in families with parkinson's disease. *Science*, 276: 2045-2047, 1997.
- Postuma RB et Berg D: Prodromal Parkinson's Disease: The Decade Past, the Decade to Come. *Mov. Disord*, 34: 665–675, 2019.
- Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, Obeso J, Marek K, Litvan I, Lang AE et al: Clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov. Disord*, 30: 1591–1601, 2015.
- Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*, 29: 1583-1589, 2014.
- Rajput AH et Birdi S: Epidemiology of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 3: 175-186, 1997.
- Riederer P, Sofic E, Rausch WD, Schmidt B, Reynolds GP, Jellinger K, Youdim MB: Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in parkinsonian brains. *J Neurochem*, 52: 515-520, 1989.
- Ritz B et Yu F: Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California 1984–1994. *Int J Epidemiol*, 29: 323–9, 2000.
- Rizek P, Kumar N, Jog MS: An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *CMAJ*, 188, 2016.
- Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, Morens DM, Grandinetti A, Tung KH, Tanner CM, Masaki KH, Blanchette PL, Curb JD, Popper JS, White LR: Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. *JAMA*, 283: 2674-2679, 2000.
- Ruberg M: maladie de Parkinson vers un mécomisme de mort neuronale. *Annales de l'institut Pasteur*, 11: 25-45, 2000.
- Saaksjarvi K, Knekt P, Rissanen H, Laaksonen MA, Reunanen A, Mannisto S: Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's disease. *Eur J Clin Nutr*, 62: 908-115, 2008.
- Salthun-Lassale B: parkinson: le role de l'immunité. *Cerveau & psyco*, 80, 2016.

- Sauer H, Rosenblad C et Bjorklund A: Glial cell linederived neurotrophic factor but not transforming growth factor- β prevents delayed degeneration of nigral dopaminergic neurons following striatal 6-hydroxydopamine lesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 92: 8935–8939, 1995.
- Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, et al: Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet*, 41: 1303-1307, 2009.
- Schapira AH, Chaudhuri KR, Jenner P: Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci*, 18: 435-50, 2017.
- Schapira AH, Mann VM, Cooper JM, Dexter D, Daniel SE, Jenner P, Clark JB, Marsden CD: Anatomic and disease specificity of NADH CoQ1 reductase (complex I) deficiency in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*, 55: 2142-2145, 1990.
- Scherman D, Desnos C, Darchen F et al: Striatal dopamine deficiency in parkinson's disease: role of ageing. *Annals of neurologie*, 26: 551-557, 1989.
- Schon EA et Przedborski S: Mitochondria: the next (neurode) generation. *Neuron*, 70: 1033-1053, 2011.
- Schulte EC, Ellwanger DC, Dihanich S, Manzoni C et al: Rare variants in LRRK1 and Parkinson's disease. *Neurogenesis*, 15: 49–57, 2014. DOI 10.1007/s10048-013-0383-8.
- Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J: Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem* 267: 4904-4911, 2000.
- Schwarzschild MA, Xu K, Oztas E, Petzer JP, Castagnoli K, Castagnoli N, Jr, Chen JF: Neuroprotection by caffeine and more specific A2A receptor antagonists in animal models of Parkinson's disease. *Neurology*, 61: 55-61, 2003.
- Shi H, Bencze KZ, Stemmler TL, Philpott CC: A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin. *Science*, 320: 1207-1210, 2008.
- Shulman LM: Gender differences in Parkinson's disease. *Gend Med*, 4: 8-18, 2007.
- Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S et al: Triplication of the α -synuclein locus causes parkinson's disease. *Sciences*, 302: 841, 2003.
- Soler JM: Bladder sphincter disorders in Parkinson's disease. *Ann Urol*, 2004.

- Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jacke R, Goedert M : α -Synucleine in Lewy Bodies, *Nature*, 388: 839-840, 1997.
- Tan LC, Koh WP, Yuan JM, Wang R, Au WL, Tan JH, Tan EK, Yu MC: Differential Effects of Black versus Green Tea on Risk of Parkinson's Disease in the Singapore Chinese Health Study. *Am J Epidemiol*, 167: 553-560, 2008.
- Tanner CM: The role of environmental toxins in the etiology of Parkinson's disease. *Trends in neurosciences*, 12: 49-54, 1989.
- Taylor JP, Mata IF, Farrer MJ: a common pathway for Parkinsonism, pathogenesis and prevention? *Trends Mol Med*, 12: 76-82, 2006.
- Taymans JM, Cookson MR: Mechanims of dominant parkinsonism: the toxic triangle of LRRK2, α -synuclein. *Bioessays*, 32 : 227-235, 2010.
- Thobois S: Génétique et maladie de parkinson. *Act.Méd.Int.Neurologie*, 3: 125-128, 2002.
- Tolosa E, Gaig C, Santamaría J, Compta Y: Diagnosis and the premotor phase of Parkinson disease. *Neurology*, 72: 12-20, 2009.
- Torbey E, Pachana NA, Dissanayaka NN: Depression rating scales in Parkinson's disease: a critical review updating recent literature. *J Affect Disord*, 184: 216-24, 2015.
- Tsai SJ et Yin MC: Antioxidative and anti-inflammatory protection of oleanolic acid and ursolic acid in PC12 cells. *J Food Sci*, 73: 74-178, 2008.
- Van den Eeden S, Tanner CM, Bernstein AL et al: Incidence of Parkinson's disease: Variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol*, 157: 1015–1022, 2003.
- Vanitallie TB: Parkinson disease: primacy of age as a risk factor for mitochondrial dysfunction. *Metabolism*, 57: 50-55, 2008.
- Vila, M et Przedborski S: Targeting programmed cell death in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci*, 4: 365-375, 2003.
- Vilarino-Güell C, Wider C, Ross OA et al: VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am J Hum Genet*, 89: 162–167, 2011.
- Vives-Bauza C, Zhou C, Huang Y, Cui M, de Vries RL, Kim J, May J, Tocilescu MA, Liu W, Ko HS, Magrane J, Moore DJ, Dawson VL, Grailhe R, Dawson TM, Li C, Tieu K, -Przedborski S: PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 378-383, 2010.

-West AB, Moore DJ, Biskup S, Bugayenko A, Smith WW, Ross CA, Dawson VL, Dawson TM: Parkinson's disease-associated mutations in leucine-rich repeat kinase 2 augment kinase activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 102: 16842–16847, 2005.

-Wooten GF, Currie LJ, Bovbjerg VE et al: Are men at greater risk for Parkinson's disease than women? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75: 637–9, 2004.

-Xiao-Xia Li, Qin Liao, Huan Xia, Xin-Ling Yang: Association between Parkinson's disease and G2019S and R1441C mutations of the LRRK2 gene. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 10: 1450-1454, 2015.

-Zecca L, Youdim M, Riederer P, Connor JR, Crichton RR : Iron, brain ageing and neurovegetative disorders. *Nat Rev Neurosci*, 5: 863-873, 2004.

-Zhang J, Perry G, Smith MA, Robertson D, Oison SJ, Graham DG, Montine TJ: Parkinson's disease is associated with oxidative damage to 122 cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am J Pathol*, 1999.

-Zimprich A, Benet-Pages A, Struhal W et al: A Mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes lateonset Parkinson disease. *Am J Hum Genet*, 89: 168–175, 2011.

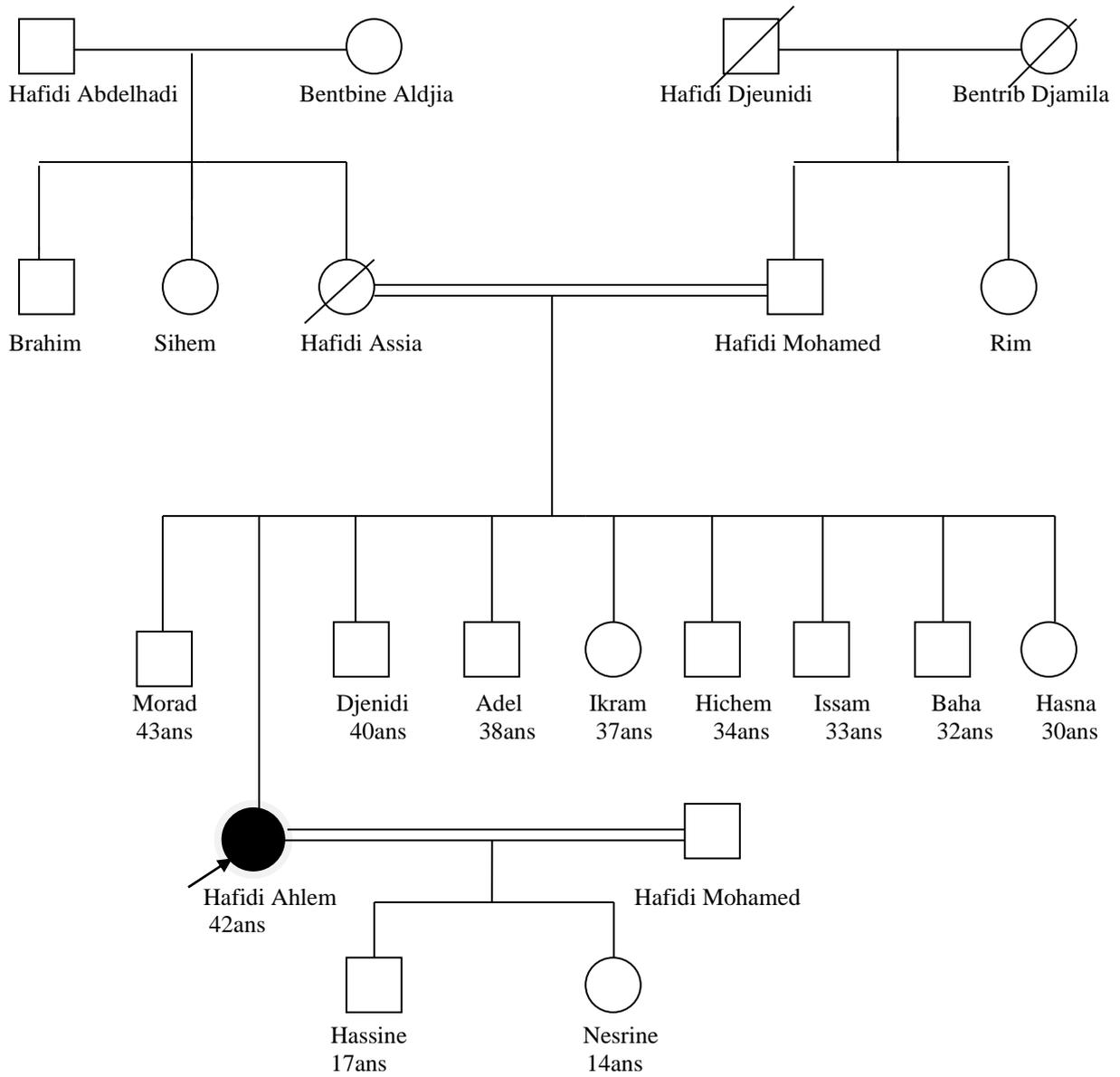
-Zimprich A, Biskup S, Leitner P, Lichtner P, Farrer M, Lincoln S et al: Mutations in LRRK2 cause autosomal dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*, 44: 601-607, 2004.

-Zimprich A, Muller-Myhsok B, Farrer M, Leitner P, Sharma M, Hulihan M, Lockhart P, Strongosky A, Kachergus J, Calne DB, Stoessl J, Uitti RJ, Pfeiffer RF, Trenkwalder C, Homann N, Ott E, Wenzel K, Asmus F, Hardy J, Wszolek Z, Gasser T: The PARK8 locus in autosomal dominant parkinsonism: confirmation of linkage and further delineation of the disease-containing interval. *Am J Hum Genet*, 74: 11–19, 2004.

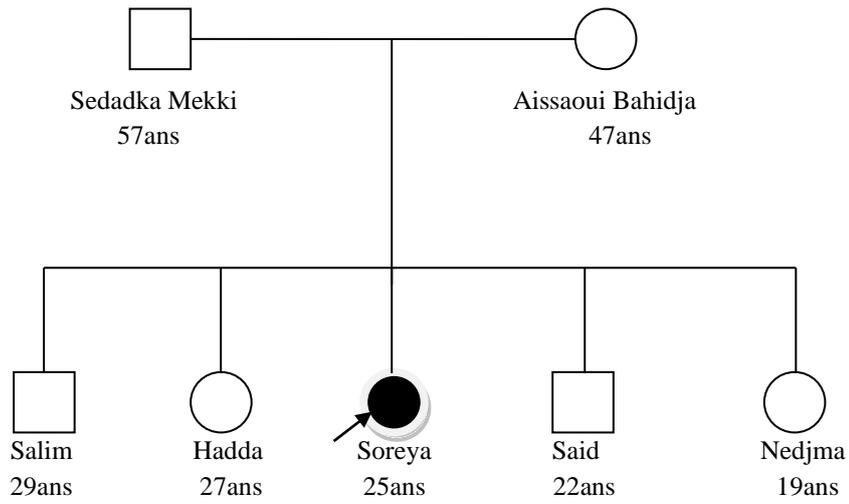
Annexe I

Arbres généalogiques

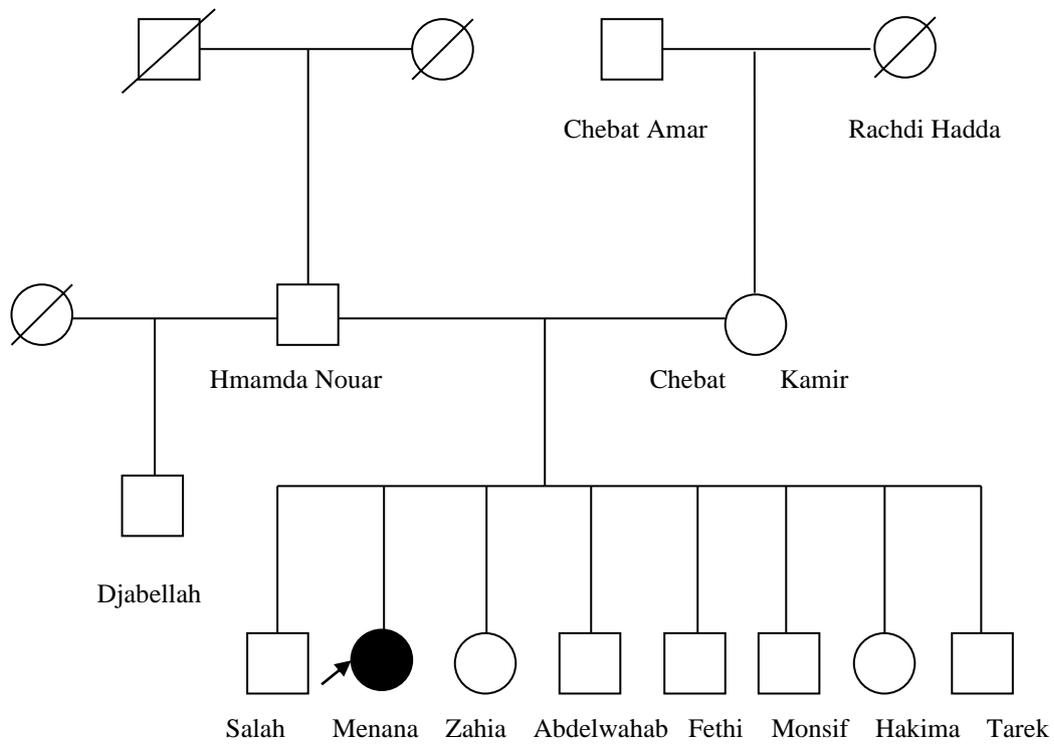
Patiente 3 HA



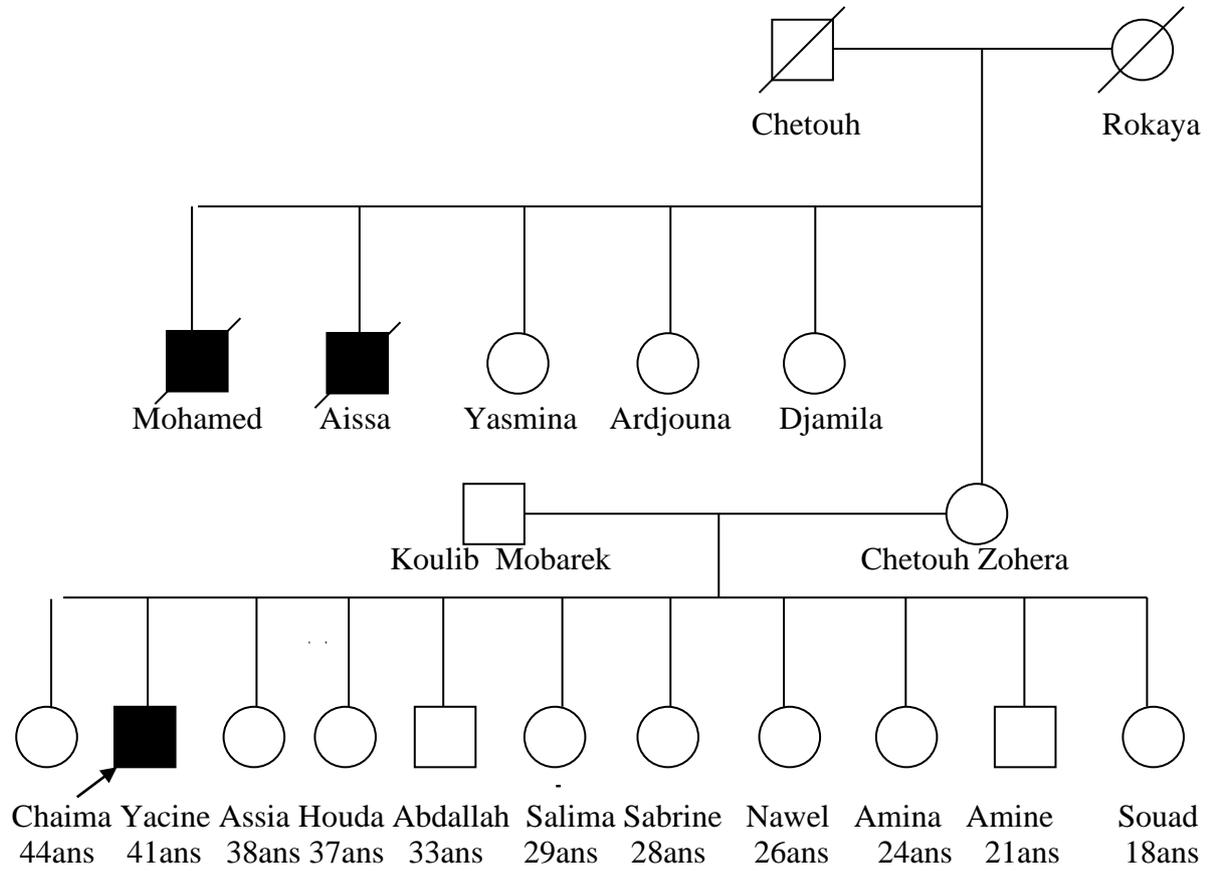
Patiente 4 SS



Patiente 11 HM



Patient 15 KY



Résumé

Introduction

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative. Du point de vue pathologique, elle se caractérise par une neurodégénérescence dopaminergique sévère et relativement sélective dans la voie nigro-striatale par la présence de corps de Lewy (LB) cytoplasmiques, principalement constitués d'alpha-synucléine agrégée. Actuellement à Constantine, il n'existe aucune donnée concernant ses manifestations cliniques et sa génétique

Objectifs :

-Etudier les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de patients présentant une maladie de Parkinson.

-Mettre au point la technique de recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR/séquençage chez des patients atteints de la maladie de Parkinson de l'Est Algérien

Patients et méthodes

Notre étude est du type prospective analytique ayant porté sur 40 patients présentant une maladie de parkinson et ayant comme principale visée l'analyse des données épidémiologiques, cliniques , génétiques et la mise au point de la technique de génotypage de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR /séquençages.

Résultats

Nous avons colligé 40 patients présentant une MP dont l'analyse clinico-démographique et génétiques a montré qu'il n'existait pas de différence significative ente le sexe masculin et féminin dans l'apparition de la maladie de Parkinson. Un âge précoce d'apparition de cette dernière avec une fréquence de 70% et un âge moyen de début de 37.86 ans et un âge de 68.5 avec dans les formes tardives.

Nos patients étaient issus de mariages consanguins dans 17, 5 %. Et dans 27.5% des cas ont présenté des antécédents familiaux de maladie de Parkinson.

Sur le plan clinique, le tremblement de repos et l'akinésie étaient notés d'une manière isolée respectivement chez 32.5% et 12.5 % des patients. Ces 2 symptômes moteurs étaient observés d'une manière associée chez 52.2% des patients. Par contre 2.8 % seulement de nos patients ont présenté une l'hypertonie plastique. Les troubles du sommeil ont été vus chez 8% des patients et aucun trouble dystonique n'a été retrouvé chez nos patients.

Après alignement des séquences des patients avec celle de l'exon 41, nous avons constaté qu'aucun de nos patients n'avait présenté la mutation G2019S de l'exon 41 du gène LRRK2.

Conclusion

La mutation G2019S est très fréquente chez les Parkinsoniens et sa présentation clinique est globalement similaire au Parkinson idiopathique.

Mots clés : Maladie de Parkinson, caractéristiques clinico-démographique, gène LRRK2, mutation G2019S.

Laboratoire de recherche de biologie et génétique moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine 3

Abstract

Introduction

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder. Pathologically, it is characterised by severe and relatively selective dopaminergic neurodegeneration in the nigro-striatal pathway by the presence of cytoplasmic Lewy bodies (LBs), mainly consisting of aggregated alpha-synuclein. Currently in Constantine, there are no data concerning its clinical manifestations and genetics

Objective

- To study the epidemiological and clinical characteristics of patients with Parkinson's disease.
- To develop the technique of searching for the G2019S mutation of the LRRK2 gene by PCR/sequencing in patients with Parkinson's disease from eastern Algeria

Patients and methods

Our study is of the prospective analytical type and involved 40 patients with Parkinson's disease. The main aim of the study was to analyse the epidemiological, clinical and genetic data and to develop a genotyping technique for the G2019S mutation of the LRRK2 gene by PCR/sequencing.

Results

We collected 40 patients with PD whose clinico-demographic and genetic analysis showed that there was no significant difference between male and female gender in the onset of Parkinson's disease. An early age of onset of Parkinson's disease with a frequency of 70% and an average age of onset of 37.86 years and an age of 68.5 years in the late forms.

Our patients were from consanguineous marriages in 17.5%. And in 27.5% of the cases there was a family history of Parkinson's disease.

Clinically, resting tremor and akinesia were noted in isolation in 32.5% and 12.5% of patients respectively. These two motor symptoms were observed in association in 52.2% of patients. However, only 2.8% of our patients had plastic hypertonia. Sleep disorders were seen in 8% of patients and no dystonic disorders were found in our patients.

After alignment of the patients' sequences with that of exon 41, we found that none of our patients had the G2019S mutation in exon 41 of the LRRK2 gene.

Conclusion

The G2019S mutation is very common among parkinsonian and its clinical presentation is globally similar to idiopathic parkinson

Key words: Parkinson's disease, clinico-demographic characteristics, LRRK2 gene, G2019S mutation.

Research laboratory of biology and molecular genetics Faculty of Medicine Salah Boubnider University Constantine 3

ملخص

مقدمة

مرض باركنسون هو مرض تنكس عصبي. من وجهة النظر المرضية، يتميز بتنكس عصبي دوباميني حاد وانتقائي نسبيا في المسار الاسود المخطط من خلال وجود اجسام لوي السيئوبلازمية، المكونة أساسًا من مجمع ألفا سينوكلين. حاليا في قسنطينة، لا توجد بيانات تتعلق بمظاهره السريرية وعلم الوراثة

أهداف

دراسة الخصائص الوبائية والسريرية لمرضى باركنسون
تطوير تقنية البحث عن طفرة G2019S لجين LRRK2 عن طريق تفاعل البوليميراز المتسلسل

مرضى وطرق

دراستنا من النوع التحليلي المرتقب حيث ركزت على 40 مريضًا يعانون من مرض باركنسون وكان الهدف الرئيسي منها وتحليل البيانات الوبائية والسريرية والوراثية وتطوير تقنية التنميط الجيني عن طريق البوليميراز المتسلسل

نتائج

جمعنا 40 مريضًا مصابًا بداء باركنسون أظهر تحليلهم الإكلينيكي والديموغرافي والجيني أنه لا يوجد فرق كبير بين الجنسين بين الذكور والإناث في بداية مرض باركنسون. سن مبكرة لظهور هذا الأخير بتكرار 70٪ ومتوسط عمر يبدأ 37.86 سنة وعمر 68.5 مع الأشكال المتأخرة

كان مرضانا من زواج الأقارب بنسبة 17.5٪. وفي 27.5٪ من الحالات ظهرت عليها تاريخ عائلي للإصابة بمرض باركنسون

سريريًا ، لوحظ وجود رعاش أثناء الراحة وعدم القدرة على الحركة في عزلة في 32.5٪ و 12.5٪ من المرضى ، على التوالي. لوحظ هذان العرضان الحركيان بطريقة مرتبطة بهما في 52.2٪ من المرضى. من ناحية أخرى ، فإن 2.8٪ فقط من مرضانا عانوا من ارتفاع ضغط الدم البلاستيكي. شوهدت اضطرابات النوم في 8٪ من المرضى ولم يتم العثور على اضطراب خلل التوتر في مرضان

استنتاج

الطفرة ج2019س منتشرة بكثرة عند مرضى الباركنسون، و اعراضها السريرية تشبه عامة اعراض مرض الباركنسون مجهول السبب.

الكلمات المفتاحية:

طفرة G2019S ، جين LRRK2 ، مرض باركنسون ، الخصائص الإكلينيكية الديموغرافية.
معمل ابحاث البيولوجيا الجزيئية والوراثة كلية الطب جامعة صلاح بونيدر قسنطينة 3

La maladie de parkinson : Aspects cliniques et génétiques**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique****Résumé****Introduction**

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative. Du point de vu pathologique, elle se caractérise par une neurodégénérescence dopaminergique sévère et relativement sélective dans la voie nigro-striatale par la présence de corps de Lewy (LB) cytoplasmiques, principalement constitués d'alpha-synucléine agrégée. Actuellement à Constantine, il n'existe aucune donnée concernant ses manifestations cliniques et sa génétique

Objectifs :

- Etudier les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de patients présentant une maladie de Parkinson.
- Mettre au point la technique de recherche de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR/séquençage chez des patients atteints de la maladie de Parkinson de l'Est Algérien

Patients et méthodes

Notre étude est du type prospective analytique ayant porté sur 40 patients présentant une maladie de parkinson et ayant comme principale visée l'analyse des données épidémiologiques, cliniques, génétiques et la mise au point de la technique de génotypage de la mutation G2019S du gène LRRK2 par PCR /séquençages.

Résultats

Nous avons colligé 40 patients présentant une MP dont l'analyse clinico-démographique et génétiques a montré qu'il n'existait pas de différence significative ente le sexe masculin et féminin dans l'apparition de la maladie de Parkinson. Un âge précoce d'apparition de cette dernière avec une fréquence de 70% et un âge moyen de début de 37.86 ans et un âge de 68.5 avec dans les formes tardives.

Nos patients étaient issus de mariages consanguins dans 17, 5 %. Et dans 27.5% des cas ont présenté des antécédents familiaux de maladie de Parkinson.

Sur le plan clinique, le tremblement de repos et l'akinésie étaient notés d'une manière isolée respectivement chez 32.5% et 12.5 % des patients. Ces 2 symptômes moteurs étaient observés d'une manière associée chez 52.2% des patients. Par contre 2.8 % seulement de nos patients ont présenté une l'hypertonie plastique. Les troubles du sommeil ont été vus chez 8% des patients et aucun trouble dystonique n'a été retrouvé chez nos patients.

Après alignement des séquences des patients avec celle de l'exon 41, nous avons constaté qu'aucun de nos patients n'avait présenté la mutation G2019S de l'exon 41 du gène LRRK2.

Conclusion

Nos résultats concordent avec de nombreuses données de la littérature

Mots-clefs : Maladie de Parkinson, caractéristiques clinico-démographiques, gène LRRK2, mutation G2019S

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Laboratoire de recherche de biologie et génétique moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine 3

Encadreur : SIFI Karima (Prof- Université Salah Boubnider Constanntine 3).

Co-encadreur : ZIADA Hadia (Dr – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : REZGOUNE Mohamed (Dr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : SEMMAME Ouarda (Dr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

