



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Etude d'une cohorte française de maladie de Parkinson :
rentabilité d'un test génétique et corrélations génotype-phénotype**

Présentée et soutenue publiquement le 12/10/2020 à 18h
au Pôle Formation
par **Manon SWIDERSKI**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Luc DEFEBVRE

Assesseurs :

Monsieur le Professeur David DEVOS

Monsieur le Docteur Thibaud LÉBOUVIER

Monsieur le Docteur Vincent HUIN

Directrice de thèse :

Madame le Docteur Eugénie MUTEZ

AVERTISSEMENT

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

**« La force qui est en chacun de nous est notre plus grand
médecin. »**

Hippocrate

SOMMAIRE

INTRODUCTION	8
I. Généralités	8
1. Epidémiologie	8
2. Clinique et histoire naturelle de la MP	9
2.1. Signes moteurs.....	9
2.2. Signes non moteurs et autres signes évolutifs de MP	9
2.2.1. Marqueurs prodromaux de la MP	9
2.2.2. Autres signes évolutifs apparaissant au cours de la MP (8)	10
2.3. Le stade des complications motrices	11
2.3.1. Fluctuations d'efficacité de la dopathérapie	11
2.3.2. Mouvements involontaires	11
3. Critères diagnostiques de la MP	12
4. Diagnostic différentiel de MP	13
4.1. Paralyse supranucléaire progressive (PSP).....	13
4.2. Atrophie multisystématisée (AMS)	13
4.3. Démence à corps de Lewy (DCL)	14
4.4. Dégénérescence cortico-basale (DCB)	14
5. Anatomopathologie	15
6. Rôle de l'environnement	16
7. Traitement de la MP	16
II. Rôle de la génétique dans la MP	17
1. Histoire de la génétique dans la MP	17
2. Facteurs de risque génétique de MP	18
3. Physiopathologie de la MP et apport de la génétique dans sa compréhension.....	20
4. Description des formes génétiques de MP	22
4.1. Formes autosomiques dominantes (AD).....	22
4.1.1. <i>LRRK2</i> (ou <i>PARK8</i>).....	22
4.1.2. <i>SNCA</i> (<i>PARK1</i> et <i>PARK4</i>)	23
4.2. Formes autosomiques récessives (AR).....	24
4.2.1. <i>PRKN</i> (ou <i>PARK2</i>)	24
4.2.2. <i>PINK1</i> (ou <i>PARK6</i>)	25
4.2.3. <i>DJ1</i> (ou <i>PARK7</i>)	26

5. Développement des tests génétiques et application dans la MP.....	26
OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	29
MATERIELS ET METHODES.....	30
I. Population étudiée.....	30
II. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	30
III. Recueil des données.....	31
1. Données démographiques générales répertoriées.....	31
2. Données concernant la MP.....	32
3. Données relatives à la dopathérapie.....	33
IV. Analyse génétique : Test <i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i> (MLPA).....	33
1. Principes de la technique.....	33
2. MLPA dans la MP.....	34
V. Tests statistiques.....	38
RESULTATS.....	40
I. Résultats de l'analyse en MLPA.....	40
1. Patients porteurs d'une mutation (MLPA+).....	40
1.1. Patients porteurs de la mutation G2019S de <i>LRRK2</i> (ou <i>LRRK2+</i>).....	42
1.2. Patients porteurs d'une mutation du gène <i>PRKN</i> (<i>PRKN+</i>).....	45
1.3. Comparaison des patients mutés pour <i>PRKN</i> et <i>LRRK2</i>	49
1.4. Patients porteurs d'une mutation du gène <i>SNCA</i> (<i>SNCA+</i>).....	50
1.5. Autres mutations.....	54
2. Patients lillois non porteurs d'une mutation en MLPA.....	54
3. Comparaison des résultats des patients lillois porteurs et non porteurs d'une mutation.....	55
4. Calcul des performances diagnostiques du test MLPA.....	57
DISCUSSION.....	61
I. Comparaison de nos résultats avec les données de la littérature.....	61
1. Comparaison de la rentabilité de la MLPA de notre cohorte avec les études de la littérature.....	61
2. Comparaison des caractéristiques générales des patients de notre cohorte avec les études de la littérature.....	64
3. Patients <i>LRRK2+</i>	64
4. Patients <i>PRKN+</i>	68
5. Patients <i>SNCA+</i>	72
6. Autres mutations.....	73
II. Rôle de l'hétérozygotie du gène <i>PRKN</i> comme facteur de risque de la MP.....	73

III. Impact thérapeutique de l'identification d'une mutation en MLPA pour le patient : vers l'émergence de la thérapie ciblée anti <i>LRRK2</i>	75
IV. Points forts de notre étude	76
V. Limites	79
1. Limites de notre étude	79
1.1. Limites dans le recueil des données.....	79
1.2. Biais de sélection.....	80
1.3. Manque de puissance concernant les patients <i>SNCA+</i>	81
2. Limites de la MLPA.....	81
2.1. Limites de la technique : faux négatifs et faux positifs	81
2.2. Interprétation des résultats possiblement complexe	82
2.3. Limites sur la constitution du kit	82
3. Complexité de la génétique dans la MP	83
3.1. Que proposer aux patients négatifs après kit MLPA.....	83
3.2. <i>Next-Generation Sequencing</i> (NGS)	84
3.3. Variabilité phénotypique	85
VI. Sélection des critères d'indication du test	85
CONCLUSION	87
REFERENCES	89
ANNEXE	96

INTRODUCTION

I. Généralités

1. Epidémiologie

La maladie de Parkinson (MP) a été décrite pour la première fois par James Parkinson, chirurgien anglais, en 1817 dans un traité dénommé « an Essay on the *shaking Palsy* » et 50 ans plus tard environ reconnue comme MP par le neurologue Jean-Martin Charcot (1).

Elle représente la 2^{ème} maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer. Sa prévalence est très dépendante de l'âge, d'environ 1% à l'âge de 60 ans (2) et de 1 à 3% après 80 ans (3).

L'apparition de la MP est rare avant l'âge de 50 ans, et il existe une forte augmentation de l'incidence observée après l'âge de 60 ans (2). Selon l'âge de début de la MP, plusieurs formes sont décrites :

- la forme juvénile de MP si l'âge de début est inférieur à 20 ans
- la forme à début précoce (âge de début entre 20 et 50 ans)
- la forme à début tardif (âge de début supérieur à 50 ans).

Il existe une prédominance masculine de la MP idiopathique (2), 60% des patients sont des hommes contre 40% de femmes (4).

Il s'agit d'une maladie neurodégénérative, de cause mal connue et dans la plupart des cas aucune étiologie n'est retrouvée et la MP est dite « idiopathique » (ou MPI). Elle est dépendante de nombreux facteurs impliquant notamment l'âge, l'environnement et la génétique (3).

2. Clinique et histoire naturelle de la MP

Dans la MP, nous pouvons distinguer les symptômes moteurs et les symptômes non moteurs, décrits ci-dessous.

2.1. Signes moteurs

Le syndrome parkinsonien (SP) repose sur la triade motrice représentée par l'akinésie qui correspond à une lenteur du mouvement et un décrétement en amplitude ou en vitesse du mouvement (critère obligatoire) associée soit à une rigidité plastique soit à un tremblement de repos (5).

Les manifestations cliniques motrices ne surviennent que lorsque approximativement 70% des neurones dopaminergiques de la substance noire ont dégénéré (6).

2.2. Signes non moteurs et autres signes évolutifs de MP

2.2.1. Marqueurs prodromaux de la MP

En phase pré motrice, plusieurs symptômes peuvent être présents même des années avant le début de la maladie, au moment où la perte neuronale est localisée au niveau des structures non dopaminergiques du tronc cérébral, selon *Braak et al.* (7) ou même au niveau du système nerveux périphérique. La valeur diagnostique des signes non moteurs est intéressante lorsque plusieurs d'entre eux sont additionnés. La spécificité de chaque signe pris séparément est faible.

Ci-dessous, un tableau issu de la littérature regroupant les marqueurs prodromaux de la MP, selon *Obeso et al.* (1).

Tableau 1 : Marqueurs prodromaux de la MP, selon *Obeso et al. en 2017 (1)*

Marqueur	Niveau de preuve	Risque relatif approximatif	Délai d'apparition par rapport au début de la MP
Troubles de l'olfaction	Haut	5	??
Troubles du comportement en sommeil paradoxal	Haut	50	13 ans
Constipation	Haut	2,5	> 15 ans
Dépression/anxiété	Haut	1,8	Incertain ? biphasique
Troubles de la vision des couleurs	Faible	2,5	> 3 ans ?

2.2.2. Autres signes évolutifs apparaissant au cours de la MP (8)

- Signes neurovégétatifs autres que digestifs : l'hypotension artérielle orthostatique et les troubles vésico sphinctériens sont plus souvent tardifs. Une hypersialorrhée et une hyperhidrose sont possibles.
- Douleurs et troubles sensitifs plutôt subjectifs, très variables.
- Troubles axiaux : tardifs avec troubles de déglutition, dysarthrie, troubles de la marche avec chutes, freezing et festinations, instabilité posturale avec rétropulsion, akinésie axiale.
- Troubles cognitifs : tardifs concernant surtout le traitement des informations visuospatiales, l'attention et les fonctions exécutives.
- Troubles psycho comportementaux : la dépression et l'anxiété sont fréquentes, possibles hallucinations et véritables psychoses sous traitement dopaminergique, troubles des conduites et des impulsions (TCI). Dans la MP, ils peuvent se manifester par un jeu pathologique, des achats compulsifs, une

hypersexualité, des troubles du comportement alimentaire etc... Ils résultent le plus souvent d'effets secondaires de médicaments antiparkinsoniens (en premier lieu les agonistes dopaminergiques).

2.3. Le stade des complications motrices

2.3.1. Fluctuations d'efficacité de la dopathérapie

Au cours de l'évolution de la MP, il existe une réapparition du SP à distance de la prise du traitement (ou blocage).

Ces fluctuations motrices se traduisent le plus souvent par une akinésie de fin de dose, nocturne ou matinale. Elles sont causées par une durée d'action raccourcie de la L-dopa au cours de la maladie en raison de la perte progressive de son stockage cérébral.

Il existe également des fluctuations non motrices pouvant prendre la forme de dysfonctionnements végétatifs, douleurs, troubles psycho comportementaux, dyspnée, sensation d'oppression thoracique etc.

2.3.2. Mouvements involontaires

Classiquement, les mouvements involontaires dans la MP peuvent prendre la forme de (8) :

- dyskinésies de milieu de dose : ce sont surtout des mouvements choréo-athétosiques des membres, du tronc et du cou
- dyskinésies biphasiques : de début de dose (mouvements balliques) et de fin de dose qui annoncent le retour du SP (dystonies des membres inférieurs)

- mouvements dystoniques au réveil en varus équin, avec une extension spontanée du gros orteil.

3. Critères diagnostiques de la MP

En absence de biomarqueur pour la MP, le diagnostic clinique n'est pas toujours aisé et relève de l'expertise du neurologue. Il a donc été proposé des critères diagnostiques par l'*International Parkinson and Movement Disorder Society* en 2015 (5) afin de les rendre reproductibles d'un centre à l'autre et applicable pour des cliniciens moins expérimentés.

Les critères de diagnostic cliniquement établi reposent sur la présence obligatoire d'une akinésie associée soit à une rigidité plastique, soit à un tremblement de repos. De plus, le diagnostic nécessite également une absence de tous les critères d'exclusion, de la présence d'au moins 2 critères de soutien et de l'absence de drapeaux rouges (5). Les critères diagnostiques selon *MDS* sont présentés en annexe de la thèse.

Il ne repose donc sur aucun examen complémentaire du patient. Cependant, en cas de doute diagnostique avec d'autres diagnostics différentiels, la réalisation d'une scintigraphie cérébrale à l'ioflupane (ou DAT scan®) peut être utile et retrouve une déplétion dopaminergique nigrostriée présynaptique significative, compatible avec un processus neurodégénératif.

Le diagnostic de certitude repose sur l'anatomopathologie, examen réalisé sur autopsie du patient. Nous pouvons relever qu'entre 75 et 95% des patients diagnostiqués pour la MP lors de la première évaluation sont confirmés sur l'autopsie (5)(9)(10).

4. Diagnostic différentiel de MP

Nous détaillerons uniquement dans cette partie les SP atypiques dégénératifs ou appelés syndromes parkinsoniens plus. En cas de SP atypique, et notamment en présence de drapeaux rouges (cf annexe des critères diagnostiques *MDS*), il faut reconsidérer le diagnostic de MP. Classiquement, 4 SP atypiques sont décrits, détaillés ci-dessous.

4.1. Paralyse supranucléaire progressive (PSP)

Il s'agit de la cause la plus fréquente de syndrome parkinsonien après la MP (11). La moyenne d'âge de début est de 63 ans. Elle représente 5% des patients avec un SP. Elle se caractérise cliniquement par une paralysie de la verticalité du regard, une mauvaise réponse à la L-dopa, une instabilité posturale et d'un déclin cognitif précoce (12). Il s'agit d'une tauopathie : une maladie neurodégénérative avec accumulation intracérébrale de protéines Tau anormales. La plupart des cas sont sporadiques sans cause retrouvée, mais parfois certaines PSP sont familiales et parfois causées par une mutation génétique (mutations du gène *Microtubule associated protein tau* ou *MAPT* en premier lieu).

4.2. Atrophie multisystématisée (AMS)

Elle associe classiquement un syndrome parkinsonien, un syndrome pyramidal, un syndrome cérébelleux et une dysautonomie (13). Il s'agit d'une synucléinopathie avec une agrégation anormale de l'alpha synucléine. Il existe 2 phénotypes principaux : MSA-P (SP prédominant), MSA-C (syndrome cérébelleux prédominant).

Comme pour la PSP, la plupart des cas n'a pas de cause trouvée, mais certaines AMS ont été associées avec des mutations du gène *SNCA* codant l'alpha synucléine (14) et à des mutations du gène *LRRK2* dans certains cas (15).

4.3. Démence à corps de Lewy (DCL)

Elle se présente cliniquement comme une association d'une démence avec des fluctuations des troubles cognitifs et de la vigilance qui en sont caractéristiques, un SP et des hallucinations visuelles (11). Il existe souvent des troubles du comportement en sommeil paradoxal et une hypersensibilité aux neuroleptiques (13). Il s'agit d'une synucléinopathie. Des mutations du gène *SNCA* ont été identifiées chez des patients présentant un phénotype de type DCL (16). De même, des mutations du gène codant la *glucocérébrosidase (GBA)* ont été associées au développement d'une DCL ainsi que des mutations du gène *GRN* codant la progranuline chez des patients avec un phénotype DCL-like (11)(17).

4.4. Dégénérescence cortico-basale (DCB)

Il s'agit de la cause la moins fréquente de SP atypique. L'âge de début est classiquement supérieur à 60 ans et elle se caractérise cliniquement par une apraxie des membres mais également de la parole, un dysfonctionnement cognitif avec notamment un dysfonctionnement exécutif. Il existe également des myoclonies, une dystonie et une sensation de membre étranger (11).

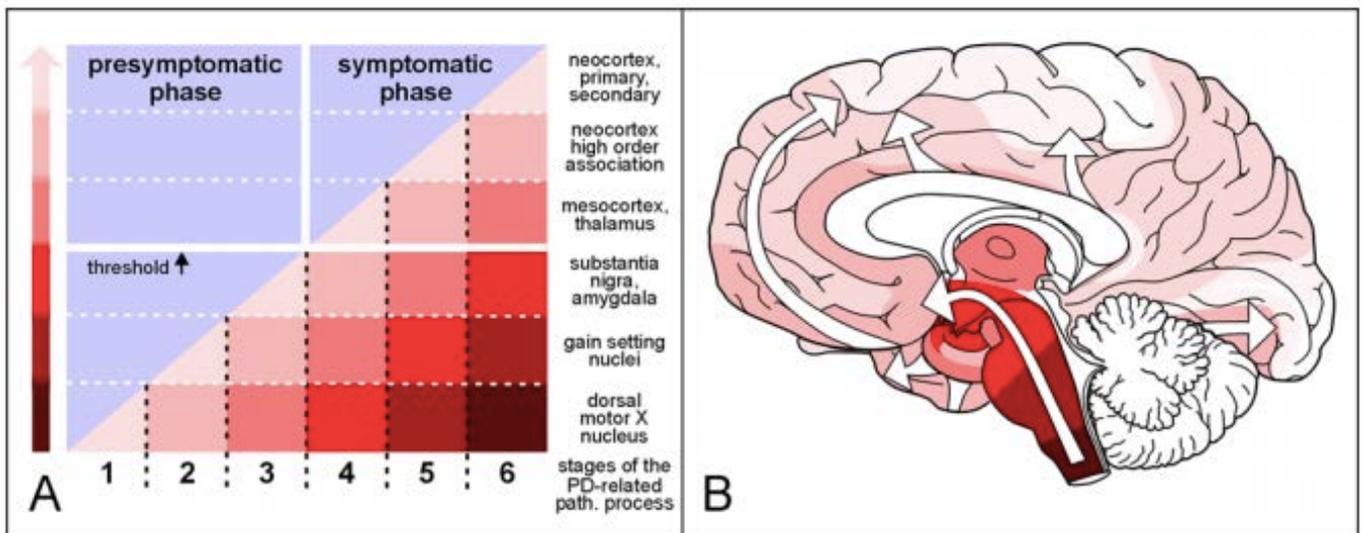
Il s'agit également d'une tauopathie, de rares patients avec un phénotype de DCB-like sont causés par des mutations du gène *GRN* ou du gène *MAPT*.

5. Anatomopathologie

Les critères anatomopathologiques actuels de la MP nécessitent la perte neuronale au niveau de la *pars compacta* de la substance noire (le plus souvent la zone ventrale) et la présence de corps de Lewy (inclusions intra neuronales contenant des agrégats anormaux d'alpha synucléine) (18). La progression de la MP selon la classification de *Braak et al* (7) se ferait en 6 étapes. L'atteinte débuterait au niveau du noyau dorsal du vague au niveau du bulbe et au niveau du bulbe olfactif ou débuterait en périphérie (tractus gastro intestinal) pour gagner progressivement selon une ascension rostrale le tronc cérébral puis les régions limbiques puis le néocortex (7).

Cependant, chez certains malades, il n'est pas retrouvé de corps de Lewy mais seulement une perte neuronale dans la substance noire, notamment chez les patients présentant des mutations du gène *PRKN* qui code pour la protéine parkine (18).

Figure 1 : Progression de la maladie de Parkinson en 6 stades selon *Braak et al.* (7)



6. Rôle de l'environnement

Plusieurs possibles facteurs de risque de MP ont été mis en évidence, notamment la forte consommation de produits laitiers, l'exposition chronique aux pesticides, la consommation de méthamphétamine. Il semblerait en revanche, que la consommation quotidienne de tabac, de café, l'activité physique, la prise d'ibuprofène, d'inhibiteurs calciques ou encore des taux élevés d'urate soient des facteurs protecteurs de la MP (19). Cependant, aucun lien de causalité n'a été mis en évidence dans des études purement rétrospectives et il est difficile d'établir le poids de chaque facteur dans la genèse de la maladie.

7. Traitement de la MP

La prise en charge thérapeutique de la MP à l'heure actuelle repose sur la supplémentation dopaminergique visant à compenser la perte neuronale dopaminergique. Plusieurs thérapeutiques sont possibles et classiquement la stratégie diffère en fonction de l'âge des patients.

En effet, chez les patients jeunes, il est préconisé de débiter par un traitement stimulant les récepteurs dopaminergiques, c'est-à-dire les agonistes dopaminergiques alors que chez les patients plus âgés par un traitement par de la L-dopa exogène qui sera métabolisé en dopamine, la dopamine exogène ne passant pas la barrière hémato encéphalique. Il existe également d'autres traitements réduisant le catabolisme de la dopamine (inhibiteurs enzymatiques). D'autres traitements sont moins utilisés et dans des indications plus spécifiques, notamment les anticholinergiques (en cas de tremblement important) et l'amantadine (indication dans les dyskinésies).

En cas d'évolution de la maladie avec notamment l'apparition des complications motrices, une stimulation dopaminergique continue est possible avec plusieurs alternatives : la stimulation cérébrale profonde (le plus souvent des noyaux subthalamiques), l'injection intraduodénale de L-dopa et l'injection sous cutanée d'apomorphine.

Il faut savoir qu'en 2020 le traitement reste purement symptomatique et ne permet pas de réduire ni de stopper la perte neuronale.

II. Rôle de la génétique dans la MP

1. Histoire de la génétique dans la MP

Selon les différentes études de la littérature, 10 à 15% des patients parkinsoniens rapportent des antécédents (ATCDs) familiaux de MP (20). En 1886, Gowers constatait déjà que 15% de ses patients avaient une histoire familiale de MP et concluait que certains malades devaient avoir une forte influence de l'hérédité (21).

En 1990, il a été rapporté deux grandes familles italiennes avec 41 personnes atteintes sur 4 générations, selon un mode de transmission autosomique dominante (AD) et soulevant l'existence probable d'une composante monogénique pouvant provoquer à elle seule la MP (22).

Ce sont lors d'analyses de liaison de familles parkinsoniennes que sont découverts plusieurs loci de formes monogéniques de MP (nommés PARK et numérotés de 1 à 21) selon la nomenclature (23). Il faut attendre 1997 pour la découverte du premier gène (*SNCA*) causal de MP. 5 à 10% des formes de MP sont imputables à une mutation d'un gène connu (20).

2. Facteurs de risque génétique de MP

Des facteurs de risque génétique sont associés à la MP. Les plus fréquents sont les suivants : les mutations de *GBA* et certaines mutations ou variants génétiques de *LRRK2* et *MAPT* (24). Nous détaillerons uniquement le facteur de risque le plus fort de MP, à savoir les mutations de *GBA* (25).

La présence de mutations du gène *GBA* est classiquement décrite dans la maladie de Gaucher, selon un mode de transmission autosomique récessif (AR). Néanmoins, chez de nombreux patients avec une maladie de Gaucher et chez leurs apparentés a été rapporté un SP. En effet, les mutations hétérozygotes du gène *GBA* constituent le principal facteur de risque génétique de survenue d'une MP (25), avec un odds ratio moyen entre 5 et 6. Une mutation du gène *GBA*, qui code une enzyme lysosomale permettant la décomposition du glucocérébroside en glucose et céramide, entraîne la perte de fonction de cette enzyme. Cela conduit à une accumulation de l'alpha synucléine (3).

Les patients présentent classiquement un âge de début de la maladie plus précoce de et une démence plus fréquente que chez les patients avec une MPI (26). La présence d'une mutation *GBA* est le plus puissant facteur prédictif du déclin cognitif dans la MP (26). Elle prédispose à un phénotype plus sévère qu'une MPI notamment en ce qui concerne les symptômes non moteurs (27).

Tableau 2 : Gènes et loci impliqués dans les formes familiales de MP ou de SP (23)(3)

	Locus	Gène	Type de mutation	Transmission
PARK1	4q21-q22	<i>SNCA</i>	Substitutions : Ala30Pro, Glu46Lys, Ala53Thr, Gly51Asp, pAla53glu	AD
PARK2	6q25-q27	<i>PRKN</i>	Homozygotes ou hétérozygotes composites : mutations non-sens, délétions, multiplications	AR
PARK3	2p13	??		
PARK4	4q21	<i>SNCA</i>	Duplications, triplications	AD
PARK5	4p14	<i>UCHL1</i>	Substitution Ile93Met	AD
PARK6	1p35-p36	<i>PINK1</i>	Délétions d'exons et mutations ponctuelles	AR
PARK7	1p36	<i>DJ1</i>	Mutation L166P homozygote, délétions d'exons, hétérozygotes composites	AR
PARK8	12p12	<i>LRRK2</i>	Nombreuses mutations ponctuelles, la plus fréquente étant la mutation G2019S	AD
PARK9	1p36	<i>ATP13A2</i>	Mutations ponctuelles	AR
PARK10	1p32	??		Dominant ?
PARK11	2q34	<i>GIGYF2</i>	Mutations ponctuelles	Dominant ?
PARK12	Xq21	??		Lié à X
PARK13	2p12	<i>HTRA2</i>	Mutations ponctuelles	AD
PARK14	22q13.1	<i>PLA2G6</i>	Mutations ponctuelles	AR
PARK15	22q12.3	<i>FBX07</i>	Mutations ponctuelles	AR
PARK16	1q32	??		
PARK17	16q12	<i>VPS35</i>	p.Asp620Asn le plus commun	AD
PARK18	3q27.1	<i>EIF4G1</i>	Mutations ponctuelles	AD
PARK19	1p32	<i>DNAJC6</i>	Mutations non-sens, faux sens ou mutation épissage	AR
PARK20	21q22	<i>SYNJ1</i>	Mutations ponctuelles	AR
PARK21	3q22	<i>DNAJC13</i>	Mutations ponctuelles	AD
	12q24	<i>ATXN2</i>	Expansions CAG	AD
	14q22	<i>GCH1</i>	Mutations ponctuelles	AD
	20p13-p12	<i>TMEM230</i>	Mutations ponctuelles	AD
	11p15	<i>RIC3</i>	Mutations ponctuelles	AD
	7p11	<i>CHCHD2</i>	Mutations ponctuelles	AD
	2p23	<i>PTRHD1</i>	Mutations ponctuelles	AR
	7q32	<i>PODXL</i>	Mutations ponctuelles	AR
	15q21	<i>SPG11</i>	Mutations ponctuelles	AR
	15q22	<i>VPS13C</i>	Mutations ponctuelles	AR
	Xq28	<i>RAB39B</i>	Mutations ponctuelles	Lié à X
	13q14.3	<i>ATP7B</i>	Mutations ponctuelles	AR

3. Physiopathologie de la MP et apport de la génétique dans sa compréhension

Seulement certains types de neurones développent des inclusions d'alpha-synucléine, notamment ceux avec des axones longs, minces et peu ou non myélinisés qui sont particulièrement vulnérables (7). De nombreux neurones dégèrent, contenant des neurotransmetteurs variés : dopaminergiques, glutamatergiques, GABAergiques, noradrénergiques, sérotoninergiques, histaminergiques et cholinergiques. Les neurones dopaminergiques situés au niveau de la substance noire sont électivement touchés car plus vulnérables et notamment en raison de la forte teneur en fer de la substance noire. Ils sont plus sensibles au stress oxydatif. La perte des neurones dopaminergiques est à l'origine du SP. La perte des autres neurones est à l'origine des signes non moteurs de la maladie.

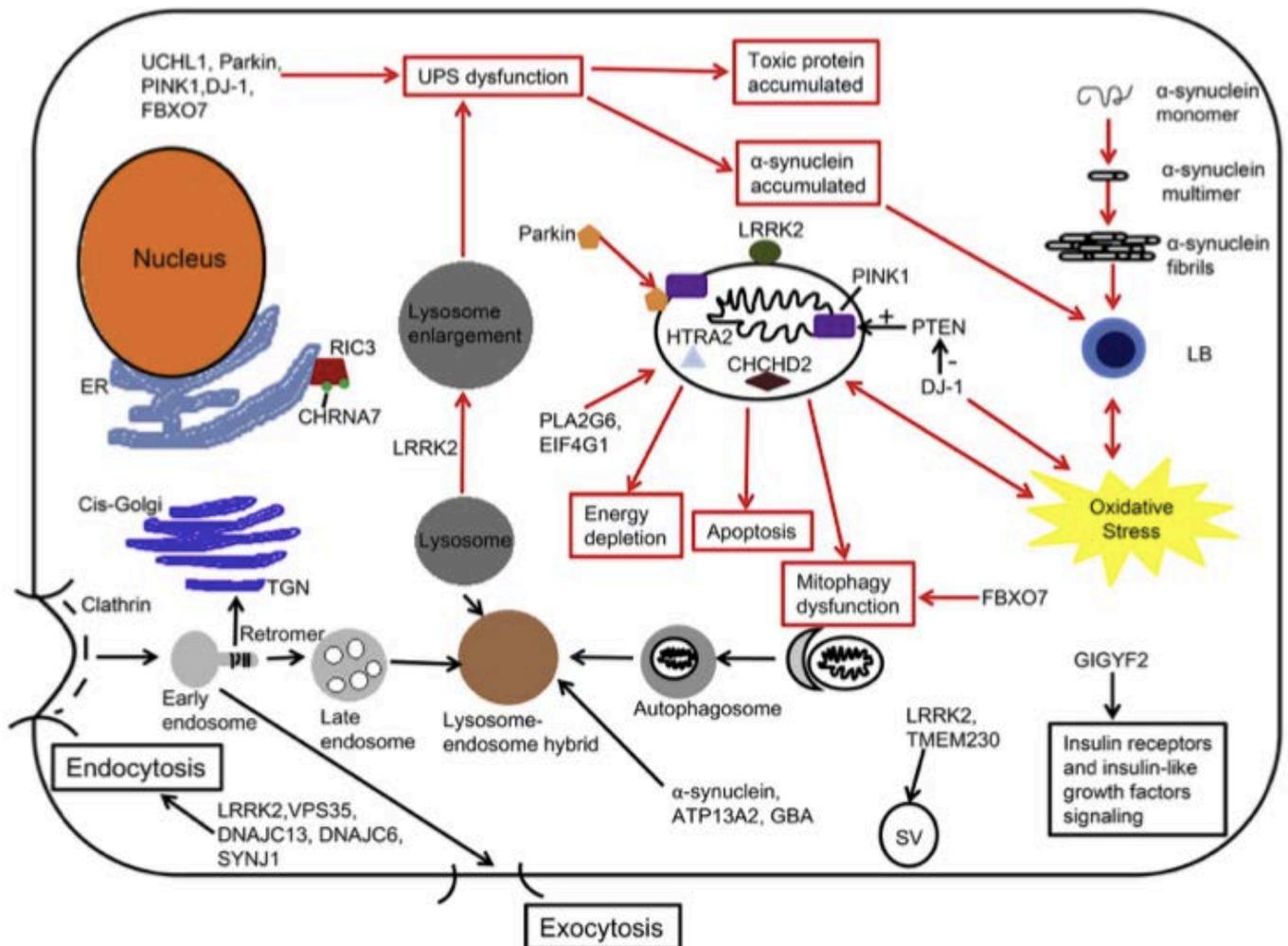
Les mécanismes physiopathologiques rendant compte de la maladie sont nombreux et méconnus. La découverte de gènes impliqués ou alors de mutations génétiques en a permis une meilleure compréhension.

Plusieurs mécanismes physiopathologiques ont été mis en évidence dans la MP (Figure 2) (28) :

- Une agrégation anormale de l'alpha synucléine et donc son accumulation, composant majeur des corps de Lewy
- Des dysfonctionnements des mécanismes du système de dégradation ubiquitine-protéasome et de l'autophagie. Dans la MP, il existe un défaut de clairance favorisant l'accumulation de l'alpha synucléine notamment

- Un défaut de maintien de l'homéostasie mitochondriale, conduisant non seulement à un défaut d'approvisionnement énergétique mais également à un facteur important dans la génération du stress oxydatif avec la production accrue de ROS (espèces réactives de l'oxygène) ayant des conséquences néfastes
- L'inflammation, participant dans la production de radicaux libres oxygénés
- Défaut d'endocytose et recyclage des vésicules synaptiques.

Figure 2 : Physiopathologie de la maladie de Parkinson selon Deng et al. 2017 (29)



4. Description des formes génétiques de MP

Seuls les gènes testés dans le kit MLPA et responsables d'un SP ont été décrits. Les gènes sont décrits selon leur mode de transmission, puis par ordre de fréquence décroissante.

4.1. Formes autosomiques dominantes (AD)

4.1.1. *LRRK2* (ou *PARK8*)

En 2004, *Zimprich et al.* (30) découvrent des mutations ponctuelles du gène *LRRK2*, situé sur le chromosome 12. *LRRK2* code pour une protéine nommée dardarine (« tremblement » en basque), impliquée dans de nombreux processus notamment les voies de signalisation lysosomale et endosomale, la régulation de l'autophagie (31) mais aussi le trafic vésiculaire et la fonction mitochondriale.

Il existe plus de 100 mutations connues, mais seulement sept mutations faux sens sont reconnues pathogènes et dont la plus fréquente est la mutation p.gly2019Ser (ou G2019S).

Les mutations de *LRRK2* sont les plus fréquentes causes de MP génétique, en particulier la mutation G2019S dont la fréquence varie fortement selon les populations : de 1 à 5% des cas selon les études chez les Européens, jusqu'à 41% des formes sporadiques et 37% des formes familiales en Afrique du Nord (32) et 29,7% des cas familiaux et 13,3% des cas sporadiques chez les juifs ashkénazes (33), suggérant une probable origine commune au Moyen-Orient de la mutation.

Le phénotype clinique est généralement similaire à celui de la MPI, avec une progression plus lente selon plusieurs études.

Les patients porteurs de la mutation sont susceptibles d'avoir moins de signes non moteurs que les parkinsoniens idiopathiques, notamment moins de troubles cognitifs, d'anosmie et de troubles du comportement en sommeil paradoxal (34). L'âge de début est après 50 ans le plus communément.

Dans de rares cas, sont retrouvés des cas avec un phénotype de SP atypique (PSP, AMS, DCB etc..) (15). La pénétrance est incomplète et dépendante de l'âge, de l'ethnie et du variant.

4.1.2. SNCA (PARK1 et PARK4)

La mutation faux sens p.Ala53Thr, dans le gène *SNCA*, est la première mutation causale de MP décrite, par *Polymeropoulos et al.* en 1997 (35).

Le gène *SNCA* code pour l'alpha synucléine, une protéine fortement exprimée au niveau des terminaisons présynaptiques cérébrales. Une mutation de *SNCA* est responsable d'une agrégation anormale d'alpha synucléine, jouant un rôle clé dans le processus neurodégénératif, provoquant une cytotoxicité et la mort cellulaire (36).

SNCA joue un rôle majeur dans la physiopathologie des formes familiales et sporadiques de MP, mais également dans les autres synucléinopathies.

Il existe différentes mutations du gène *SNCA* pouvant mener à la MP. Nous pouvons les regrouper en deux catégories distinctes : les mutations ponctuelles faux sens ou PARK1 selon la classification (A30P, E46K, H50Q, G51D, A53E, A53T) et les multiplications (duplications, triplications) ou PARK4 avec un effet de dosage génique (36). La fréquence des mutations de *SNCA* dans la MP est inférieure à 1%.

La mutation A53T est la mutation la plus fréquente, associée à une bonne réponse à la L-dopa. D'autres mutations sont associées à un syndrome parkinsonien plus (E46K et démence à corps de Lewy, G51D et A53E avec un tableau possible d'atrophie multisystématisée) (29).

En ce qui concerne les multiplications de copies du gène *SNCA*, il existe un effet dosage génique avec une corrélation génotype/phénotype selon le nombre de multiplications avec une augmentation de la sévérité, un âge de début précoce, une progression plus rapide, une association avec une démence et une dysautonomie, une moins bonne réponse à la L-dopa en cas de triplication (37). Selon la littérature, les patients porteurs de duplications présenteraient une MP typique (38).

4.2. Formes autosomiques récessives (AR)

4.2.1. *PRKN* (ou *PARK2*)

Les premières mutations du gène *PRKN* codant pour la protéine nommée parkin ont été découvertes en 1998 (39) chez plusieurs patients japonais.

La protéine parkin est une E3 ligase impliquée dans les voies de signalisation du protéasome, permettant la dégradation de protéines cibles endommagées via l'ubiquitination (40). Parkin est également impliquée dans le processus d'élimination appropriée des mitochondries endommagées par l'autophagie, appelée mitophagie, veillant au maintien de l'homéostasie mitochondriale.

Plusieurs types de mutations peuvent être retrouvées : des variations du nombre de copies (délétions surtout) mais également des mutations faux-sens ou non-sens, toutes ces mutations aboutissant à une perte de fonction de la protéine (27).

Les mutations *PRKN* sont la cause la plus fréquente de MP de forme AR et rend compte d'environ 50% des causes de MP à âge de début inférieur à 40 ans (3), et 77% en cas d'âge de début inférieur à 21 ans (forme juvénile) (41).

L'âge de début est précoce, d'environ 30 ans en moyenne dans les différentes études et le plus souvent avant l'âge de 40 ans (42).

Le phénotype clinique est classiquement celui de la MPI, une bonne réponse à la L-dopa mais avec quelques différences par rapport à la forme idiopathique : les patients mutés ont plus de dystonie (surtout des membres inférieurs) et une clinique symétrique initiale, des fluctuations motrices plus précoces, une progression très lente et peu d'évolution vers une démence (43). Les manifestations psychiatriques, la dysautonomie et l'anosmie, sont rares. Une hyperréflexie clinique est possible. Il n'existe pas de différence phénotypique entre les différentes mutations.

La plus grande différence par rapport à la MPI est sur le plan anatomopathologie : la prédominance de la perte neuronale dans la partie ventrale de la substance noire et l'absence de corps de Lewy.

4.2.2. PINK1 (ou PARK6)

Les premières mutations de *PINK1*, codant *the PTEN induced putative kinase 1 gene* ont été décrites par *Valente et al.* en 2004 (44).

La mutation de *PINK1* représente la 2^{ème} cause la plus fréquente de MP génétique avec un mode de transmission AR avec un phénotype typique de MP et un âge de début précoce (44).

La protéine PINK1 interagit avec parkin dans l'autophagie sélective des mitochondries et le maintien de la qualité de la mitochondrie (45). Son dysfonctionnement conduit

donc à une accumulation de mitochondries altérées sources d'espèces réactives d'oxygène (ROS) toxiques, conduisant à la mort des cellules neuronales et à la MP.

Le phénotype est similaire aux patients porteurs d'une mutation *PRKN*, avec un âge de début légèrement plus tardif (moyenne à 32 ans), une bonne réponse à la L-dopa et un déclin cognitif rare. Cependant, il existe moins de signes pyramidaux que les patients mutés pour *PRKN* (3).

4.2.3. DJ1 (ou PARK7)

DJ1 a été retrouvé dans une famille avec plusieurs consanguinités aux Pays-Bas avec un âge de début précoce de la MP en 2001 (46).

Peu de patients mutés pour *DJ1* ayant une MP ont été identifiés mais il reste le troisième gène de MP autosomique récessif à début précoce.

DJ1 peut être impliqué dans la pathogénèse de la MP en modulant l'expression des gènes lors du stress oxydatif (47).

La clinique est dominée par un début de la MP précoce (médiane à 27 ans). Son phénotype est assez similaire aux patients *PRKN* ou *PINK1* mais avec plus de signes non moteurs comme les troubles psycho comportementaux et la démence (43).

5. Développement des tests génétiques et application dans la MP

Au fur et à mesure des années, de nombreuses techniques génétiques se sont développées dans la MP permettant d'identifier une mutation génétique chez certains malades.

Nous citerons le séquençage par technique Sanger qui analyse un gène d'intérêt sélectionné. En effet, il s'agit d'une approche diagnostique génétique rentable, utilisée dans les pathologies avec des phénotypes distincts et une hétérogénéité minimale

(48). Se sont développées ensuite d'autres méthodes, notamment la *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA, technique qui sera détaillée dans matériels et méthodes) et le *Next-Generation Sequencing* (ou NGS) permettant de séquencer de grandes quantités d'ADN en peu de temps. En effet, elles ont permis la découverte de nombreux gènes et variants génétiques rares. Ces dernières techniques NGS (panel de gènes, exome, génome) sont beaucoup plus efficaces dans les pathologies présentant une hétérogénéité génétique importante. Le séquençage de l'exome entier (WES) voire du génome entier (WGS) offrent la méthodologie de test la plus complète, sans se limiter à cibler uniquement des gènes candidats connus pour la maladie, et constitue donc une approche prometteuse, notamment chez les patients chez lesquels les approches monogéniques ou par panel de gènes n'ont pas identifié de mutation causale. Il s'agit donc de méthodes complémentaires pouvant être combinées chez certains patients sélectionnés.

Il existe une augmentation de la disponibilité des tests génétiques et de leur utilisation. Cependant, il existe peu de recommandations officielles sur les patients parkinsoniens à tester. En effet, de nombreuses discordances dans la littérature ont été mises en évidence. Actuellement à l'échelle européenne, les seules recommandations de recherche de mutation génétique chez les patients parkinsoniens, mais non appliquées en pratique, qui existent, datent de 2009, et préconisent (49):

- un séquençage complet du gène *LRRK2* en cas d'antécédents familiaux de SP avec un mode de transmission évocateur autosomique dominant
- une recherche de la mutation G2019S de *LRRK2* en cas d'origine d'Afrique du Nord ou chez les juifs ashkénazes

- une recherche de mutations pour des gènes autosomiques récessifs (à savoir *PRKN*, *PINK1* et *DJ1*) en cas d'antécédents familiaux avec un mode de transmission évocateur autosomique récessif ou en cas de début de la maladie très jeune (< 35 ans).

Di Fonzo et al. en 2018 ont préconisé la recherche des mutations *GBA*, *LRRK2* et *SNCA* en cas de MP à âge de début précoce (inférieur à 40 ans), et en présence de consanguinité de rechercher les mutations *PRKN*, *DJ1* et *PINK1*. En cas de début tardif il n'existe aucune recommandation hormis la recherche de la mutation G2019S de *LRRK2* dans les populations à fort risque (Afrique du Nord et juifs ashkénazes) (50).

Payne et al. en 2019 proposent les tests génétiques en cas d'histoire familiale de MP (1^{er} ou 2^{ème} degré), d'ethnie à risque ou en cas d'âge de début précoce (inférieur à 50 ans) (20).

L'intérêt des tests génétiques est notamment de permettre une meilleure appréhension de l'évolution de la MP et la prédiction du phénotype clinique en fonction de la mutation retrouvée, d'offrir un conseil génétique au niveau familial mais également un possible intérêt sur de potentielles thérapeutiques à l'avenir.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'objectif principal de notre étude était d'établir la rentabilité du kit MLPA chez les patients parkinsoniens, c'est-à-dire le pourcentage de patients testés chez qui une mutation a été identifiée grâce à ce kit.

Les objectifs secondaires étaient les suivants :

- établir des corrélations génotypes-phénotypes chez les patients porteurs d'une mutation et de les comparer avec une population parkinsonienne sans mutation identifiée
- proposer des critères cliniques pour orienter les tests diagnostiques génétiques chez les patients présentant un SP.

MATERIELS ET METHODES

I. Population étudiée

La population étudiée correspond aux sujets chez qui une analyse par une technique de MLPA a été réalisée entre 2007 et 2019 au laboratoire de neurobiologie au CHU de Lille. Les échantillons d'ADN proviennent de patients issus de centres hospitaliers français (Lille, Tourcoing, Valenciennes, Lens, Béthune, Amiens, Orléans, Poitiers, Saint Etienne, Besançon, Marseille, Troyes, Nice, Epinal, Reims, Chambéry, Montpellier, Toulouse, Lyon, Dijon, Nîmes, Rennes, Caen, Bordeaux, Libourne, Millau et Nancy) et belge (Fleurus).

II. Critères d'inclusion et d'exclusion

Ont été inclus les patients avec un diagnostic de MP ou un SP atypique pour lequel le neurologue évoquait une origine génétique. La décision de réalisation du test par le neurologue ne répondait pas à un consensus précis, mais en général était réalisé devant la présence d'antécédents familiaux de MP, devant un âge de début jeune ou mal défini, en cas d'origine maghrébine ou en cas d'atypie clinique.

Les critères d'exclusion étaient :

- absence de consentement libre et éclairé en vue de l'analyse génétique et l'analyse de leurs données cliniques avant d'être prélevés
- diagnostic de SP dégénératif récusé *a posteriori*
- absence de récupération de données cliniques *a posteriori*.

III. Recueil des données

Le recueil des données s'est fait de manière rétrospective par analyse de l'ensemble des dossiers cliniques des patients.

Les patients ont signé une feuille de consentement éclairé où ils donnaient leur « accord pour le stockage et l'utilisation pour la recherche scientifique, du prélèvement après la réalisation des analyses à visée diagnostique », sans que l'on doive les recontacter. S'agissant d'une étude non interventionnelle sur dossiers cliniques, cette étude ne rentrait pas dans les conditions d'application de la loi Jardé et n'a donc pas nécessité l'avis du CPP. La constitution de la base de données a été déclarée à la CNIL (n° 726/2020).

1. Données démographiques générales répertoriées

Les données démographiques générales ont été répertoriées chez les patients mutés et non mutés lillois. Le sexe, l'âge de début de la maladie, la ville du suivi neurologique, l'origine géographique supposée des ascendants, la présence d'antécédents familiaux et le nombre moyen d'antécédents familiaux ont été répertoriés.

En raison de la forte prévalence de certaines mutations dans la population maghrébine nous nous sommes attachés à définir le pays d'origine du sujet et de ses ancêtres si cette information n'était pas disponible dans le dossier.

La présence d'antécédents familiaux a été répertoriée ainsi que les degrés de parenté. En génétique, le premier degré familial correspond aux parents, aux enfants et à la fratrie. Le deuxième degré concerne les petits-enfants, les grands-parents, les oncles et les tantes. Le troisième degré relève des arrières grands-parents et arrières petits-enfants mais également les cousins, les grandes tantes et grands oncles.

2. Données concernant la MP

L'âge de début de la MP est l'âge au moment où le patient décrivait son premier symptôme ou signe clinique de la maladie. Elle a été répertoriée chez les patients mutés et non mutés.

L'ensemble des données énoncées ci-dessous ont été seulement répertoriées uniquement chez les patients mutés.

Nous avons retrouvé chez nos patients mutés les premiers signes de la maladie suivants : le tremblement, la rigidité ou raideur ressentie, la lenteur des mouvements ou akinésie, la dystonie, la présence de troubles de l'équilibre évocateurs d'un syndrome cérébelleux, la présence de troubles cognitifs et la présence d'une paraparésie spastique.

Le délai diagnostique désignait l'écart entre les premiers symptômes et le moment du diagnostic de la maladie.

Les troubles axiaux englobaient la présence d'une dysarthrie ou d'une hypophonie sévère, de chutes ou de troubles de déglutition.

La dysautonomie regroupait les troubles vésico sphinctériens et l'hypotension artérielle orthostatique (sans cause iatrogène évidente ou autre cause évidente). L'hyperhidrose et l'hypersialorrhée n'ont pas été pris en compte dans la dysautonomie car n'étaient relevés dans les dossiers que très rarement.

Le terme précoce signifiait la survenue des symptômes dans les 5 premières années de la maladie.

Les troubles psycho comportementaux suivants ont été relevés : les troubles du contrôle des impulsions, la dépression, l'anxiété, l'apathie, les hallucinations.

Le délai d'apparition de la démence n'a pas pu être répertorié en absence de donnée explicite dans les dossiers cliniques.

Le diagnostic neurologique des patients présentant une mutation génétique en MLPA (ou MLPA+) et des patients lillois a été revu à partir de l'analyse de dossiers et a fait classer les sujets en MP et autre SP.

La réalisation d'une scintigraphie cérébrale au DAT scan® dans le diagnostic initial de MP chez les patients porteurs d'une mutation a été relevée dans nos données.

3. Données relatives à la dopathérapie

La dopasensibilité était évaluée en administration chronique ou en test d'administration aiguë. L'année de début de la dopathérapie a été relevée au moment où la L-dopa avait débuté. Le délai d'apparition des complications motrices (dyskinésies et fluctuations motrices) a été colligé en fonction du début de la maladie et en fonction de l'introduction de la dopathérapie. Les patients n'ayant pas développé de complications motrices n'ont pas été pris en compte dans le calcul du délai d'apparition des complications motrices.

La présence d'une stimulation dopaminergique continue a été relevée chez les patients porteurs d'une mutation. Elle comprenait la stimulation cérébrale profonde, la présence d'une pompe sous cutanée d'apomorphine et la duodopa®.

IV. Analyse génétique : Test *Multiplex Ligation-dependent*

Probe Amplification (MLPA)

1. Principes de la technique

La MLPA est une technique semi-quantitative non automatisée basée sur une *polymerase chain reaction multiplex* (ou PCR multiplex) et utilisée pour déterminer le nombre de copies relatives d'une région précise du génome. Elle se base sur

l'amplification de sondes qui détectent une séquence d'ADN spécifique. Le processus se fait en 5 étapes successives : la dénaturation initiale, l'hybridation, la ligature, l'amplification et la séparation des fragments par électrophorèse capillaire. L'analyse des résultats se fait à l'aide du logiciel Coffalyser.Net (téléchargeable gratuitement sur www.mrcholland.com).

Cette technique utilise la comparaison avec des échantillons de témoins sains. La hauteur relative de chaque pic par sonde est comparée à la hauteur relative du pic de la sonde des échantillons de référence (sujets sains) et reflète le nombre de copies relatives de la séquence cible correspondante dans l'échantillon à analyser. Il s'agit d'une délétion lorsque la hauteur relative du pic est significativement diminuée (diminution de 50% de la moyenne pour une délétion hétérozygote) et d'une augmentation du nombre de copies lorsque la hauteur relative est augmentée (augmentation de 150% en moyenne pour une duplication et de 200% pour une triplication). Les mutations ponctuelles sont en général non détectées. Tous les détails de la technique MLPA résumés ci-dessus ont été retrouvés sur le site internet www.mrcholland.com.

2. MLPA dans la MP

Le kit MLPA utilisé dans notre étude pour la recherche de mutations génétiques dans la MP est produit par MRC-Holland. Il est nommé *MRC Holland Probemix SALSA®* P051-D2 et P052-D2 Parkinson.

Il permet de rechercher uniquement les délétions et les duplications concernant les gènes *SNCA*, *PRKN*, *UCHL1*, *PINK1*, *DJ1*, *ATP13A2*, *LRRK2* et *GCH1*. Il permet

également de détecter les 2 mutations ponctuelles suivantes : A30P de *SNCA* et G2019S de *LRRK2*.

Les patients positifs en MLPA (ou MLPA+) de notre étude ont été systématiquement confirmés par une autre méthode de type séquençage Sanger. En effet, cette technique est particulièrement intéressante chez les patients hétérozygotes pour une maladie de transmission AR, dans la recherche d'une 2^{ème} mutation ponctuelle.

De plus, il a été proposé à tous les patients positifs en MLPA de notre étude une deuxième analyse par MLPA pour ne pas méconnaître une erreur d'identification.

Ci-dessous (Figures 3, 4 et 5), plusieurs exemples de MLPA sont exposés : chez un patient non muté, chez un patient porteur d'une mutation hétérozygote composite de *PRKN* puis chez un patient présentant la mutation G2019S de *LRRK2* respectivement.

Figure 3 : Exemple de MLPA chez un patient non muté

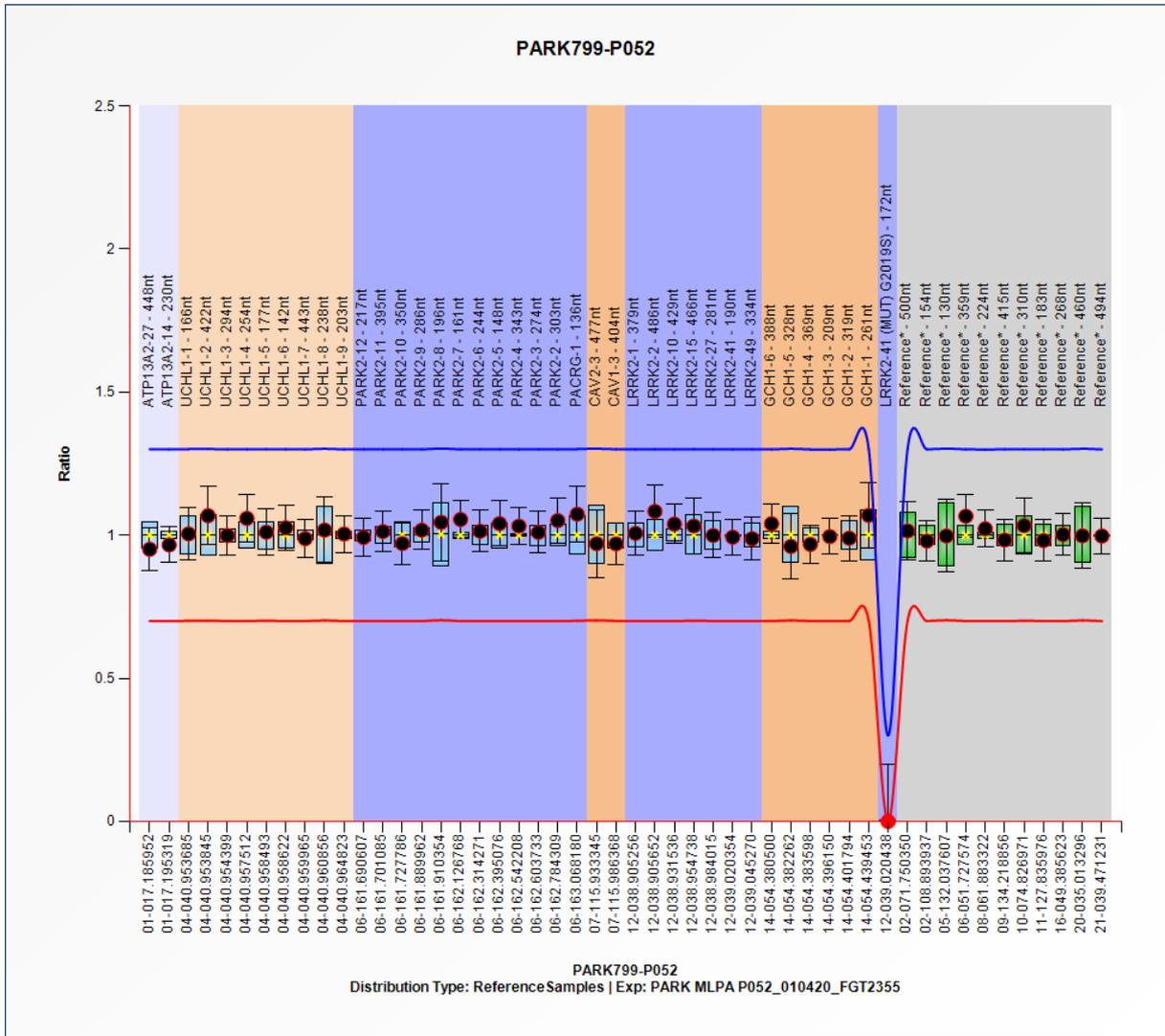


Figure 4 : Détail de MLPA chez un patient porteur d'une mutation hétérozygote composite de *PRKN* : une délétion des exons de 5 à 9 et une triplication de l'exon 4

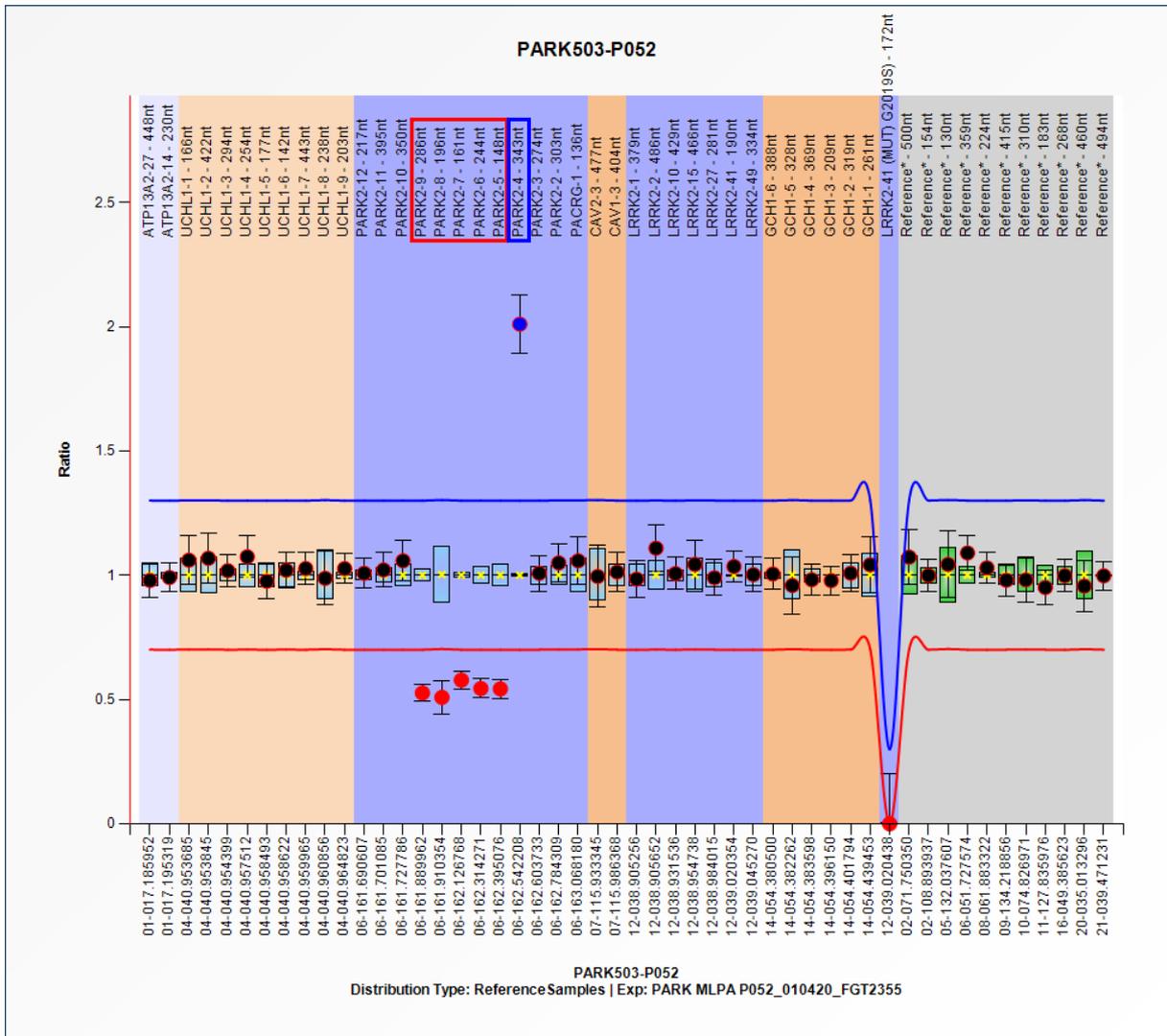
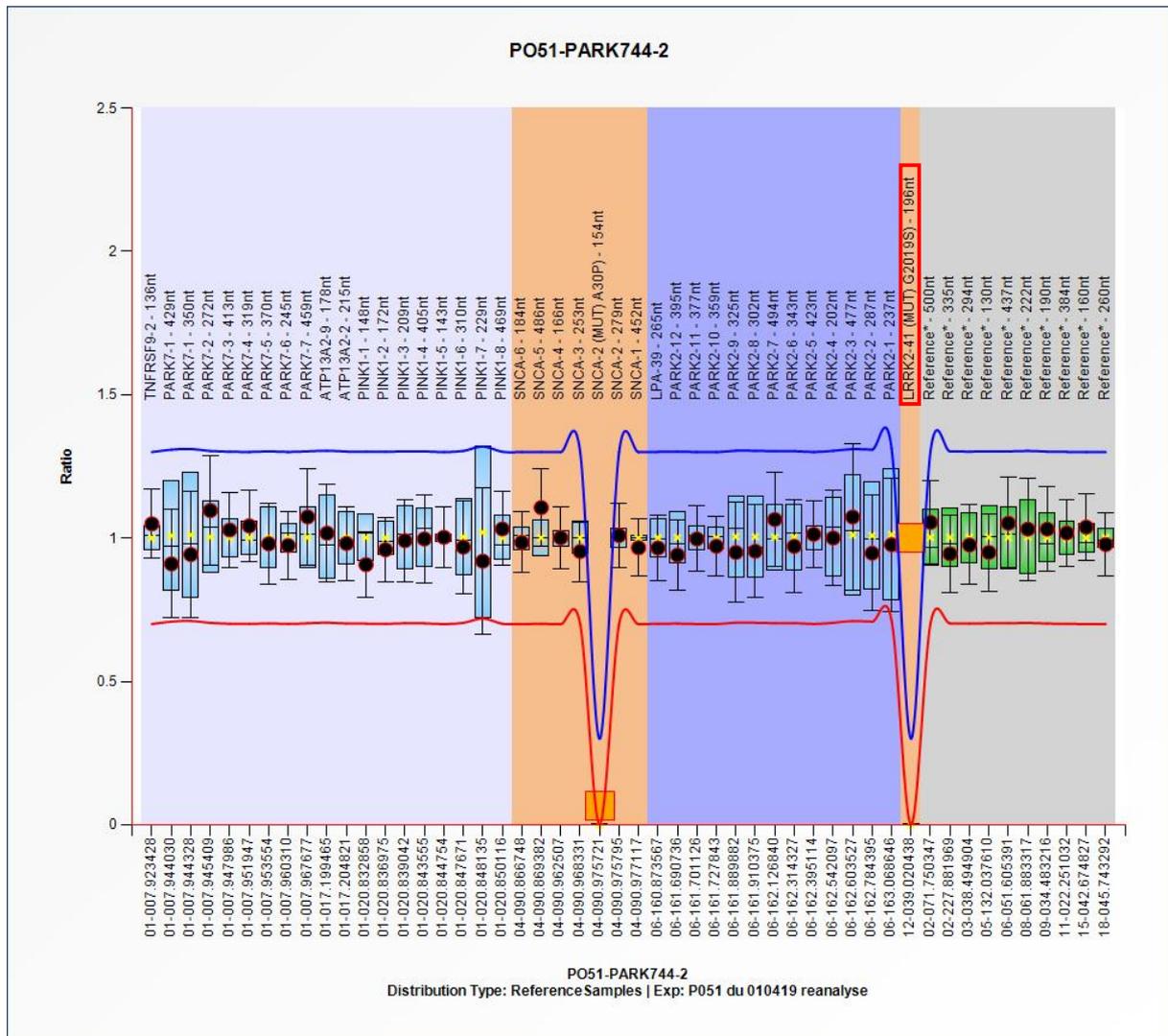


Figure 5 : Détail de MLPA chez un patient porteur d'une mutation G2019S de *LRRK2*



V. Tests statistiques

Le seuil de significativité des analyses statistiques a été fixé à 0,05. De façon résumée, les comparaisons de 2 groupes indépendants de données qualitatives nominales s'effectuaient par un test de Chi2, ou par un test exact de Fisher lorsque les effectifs d'au moins un groupe était trop faible ($n < 5$). Les comparaisons des données quantitatives entre 2 groupes s'effectuait par un test de Fisher non apparié si les variables avaient une distribution normale, ou par un test non paramétrique de Mann-Whitney et Wilcoxon en cas de distribution non normale. Nous avons établi des

tableaux de contingence pour évaluer la performance des critères d'indication des tests génétiques.

La répartition normale a été vérifiée par un test de Shapiro-Wilk.

Les variables quantitatives ont été décrites avec leur moyenne \pm leur déviation standard (SD) et les valeurs min-max, lorsqu'elles étaient de répartition normale, soit « $\mu \pm SD$ [min-max] ». Sinon elles ont été décrites par leur médiane et intervalle interquartile (IQ) et valeurs min-max, soit « med (IQ) [min-max] ».

RESULTATS

I. Résultats de l'analyse en MLPA

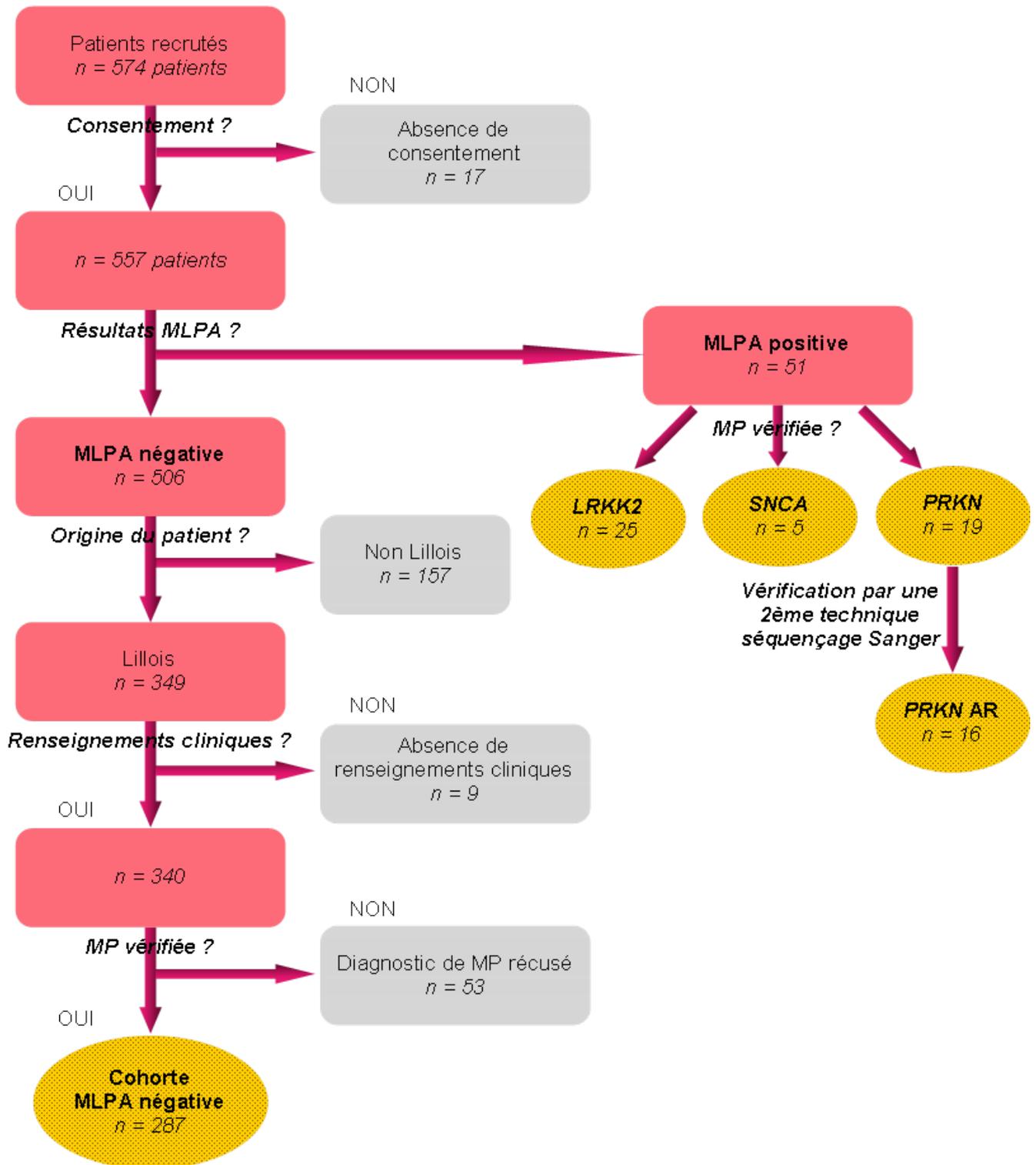
1. Patients porteurs d'une mutation (MLPA+)

574 patients au total ont été recrutés, seuls 557 patients ont été testés faute de consentement chez 17 sujets (Figure 6). 51 patients se sont révélés être porteurs d'une mutation présente dans le kit.

2 patients mutés parmi les 51 ont été exclus de l'étude car à la lecture de leur dossier ils ne présentaient pas de MP ou autre SP. Ces deux patients ont été vérifiés par séquençage Sanger confirmant un patient faux positif et un patient hétérozygote simple pour *PINK1*. Parmi les 49 patients porteurs d'une mutation, 3 patients étaient hétérozygotes simples pour *PRKN* (de transmission AR) et donc n'ont pas été pris en compte dans le calcul de la rentabilité. La rentabilité du test MLPA de la cohorte totale était donc de 8,3% (46/557). La rentabilité de la cohorte lilloise vérifiée *a posteriori* (avec probable SP, avec exclusion des patients lillois sans MP vérifiée ou sans renseignements et les patients non lillois) était de 9,5% (30/317).

En ce qui concerne les patients porteurs d'une mutation en MLPA, les dossiers de 3 patients n'ont pas pu être récupérés (Fleurus et Besançon) et donc aucune donnée clinique n'a pu être récupérée (hormis le sexe et l'origine démographique supposée).

Figure 6 : Flow chart



1.1. Patients porteurs de la mutation G2019S de LRRK2 (ou LRRK2+)

25 patients sur 557 (4,5%) de notre cohorte étaient porteurs de la mutation G2019S de *LRRK2*, soit 25 patients sur les 46 patients identifiés en MLPA (54,3%). Les caractéristiques démographiques générales, les signes moteurs et non moteurs, les complications motrices, la dopasensibilité et la présence d'une stimulation dopaminergique des patients *LRRK2+*, ainsi que la comparaison de leur fréquence par rapport aux patients *PRKN+*, sont détaillées dans les Tableaux 3 et 4.

Dans un souci de clarté, nous nous sommes attachés à décrire le profil type du patient *LRRK2+*.

Le profil type *LRRK2+* de notre cohorte était représenté par :

- une femme (sex ratio H/F 0,6), d'origine maghrébine dans 88% des cas, d'âge de début médian de 45 ans (14,5) et un délai diagnostique médian de 0,8 ans
- présence d'antécédents familiaux (72,7%), majoritairement du premier degré (92,9%)
- présentation clinique d'une MP classique
- de fréquents troubles psycho comportementaux sont retrouvés (90,9%)
- des troubles du sommeil (47%)
- une bonne dopasensibilité.

Néanmoins, nous pouvons relever la présence d'un patient porteur d'un phénotype d'atrophie multisystématisée et la présence notable d'une dysautonomie précoce dans 5/22 (22,7%) des cas.

Tableau 3 : Caractéristiques générales des patients *LRRK2*+ et *PRKN*+

	<i>LRRK2</i>	<i>PRKN</i>	p-value
MLPA positive (%)	25/46 (54,3%)	16/46 (34,8%)	0,24
Sexe ratio (H/F)	9/16 (0,6)	7/9 (0,8)	0,85
Nombre de Lillois	16/25 (64%)	11/16 (68,8%)	1
Nombre de Hauts de France	21/25 (84%)	13/16 (81,3%)	1
Origine géographique Maghreb supposée	22/25 (88%)	1/16 (6,3%)	1,8 x10⁻⁷
Premiers symptômes	-Tremblement 16/20 (80%) -Akinésie 5/20 (25%) -Rigidité 4/20 (20%) -Dystonie 1/20 (5%) -Syndrome cérébelleux 1/20 (5%) -Troubles cognitifs 0/20 (0%) -Paraparésie spastique 0/20 (0%)	-Tremblement 10/13 (76,9%) -Akinésie 3/13 (23,1%) -Rigidité 2/13 (15,4%) -Dystonie 6/13 (46,2%) -Syndrome cérébelleux 0/13 (0%) -Troubles cognitifs 0/13 (0%) -Paraparésie spastique 2/13 (15,4%)	1 1 1 0,0084 1 1 0,15
DAT scan® réalisé pour le diagnostic	6/16 (37,5%)	11/13 (84,6%)	0,021
Age des premiers signes (médiane en années)	45 (14,5) [31-73], (n = 22)	30,5 (8,8) [10-56], (n = 13)	<0,0001
Délai du diagnostic (médiane en années)	0,8 (1) [0-2], (n = 17)	5 (4,5) [0-21], (n = 11)	0,0035
Antécédents familiaux	TOTAL : 16/22 (72,7%) -1 ^{er} degré : 13/14 (92,9%) -2 ^{ème} degré : 4/14 (28,6) -3 ^{ème} degré : 1/14 (7,1%)	TOTAL : 10/15 (66,7%) -1 ^{er} degré : 7/10 (70%) -2 ^{ème} degré : 3/9 (33,3%) -3 ^{ème} degré : 2/9 (22,2%)	0,73 0,27 1 0,54
Médiane du nombre d'antécédents familiaux	1 (2) [0 à 3], (n = 19)	1 (0,8) [0-3], (n = 14)	0,6

Tableau 4 : Signes moteurs et non moteurs des patients *LRRK2+* et *PRKN+*

	<i>LRRK2</i>	<i>PRKN</i>	p-value
Troubles psycho comportementaux	TOTAL : 20/22 (90,9%) : -TCI sous agonistes 9/20 (45%) -Dépression 9/18 (50%) -Anxiété 7/17 (41%) -Apathie 4/14 (28,6%) -Hallucinations 10/22 (45,5%)	TOTAL : 12/15 (80%) : -TCI sous agonistes 8/15 (53,3%) -Dépression 6/10 (60%) -Anxiété 9/10 (90%) -Apathie 0/9 (0%) -Hallucinations 0/15 (0%)	0,38 0,74 0,71 0,018 0,13 0,0022
Dystonie précoce < 5 ans	3/22 (13,6%)	8/14 (57,1%)	0,0097
Tb axiaux précoces < 5 ans	3/21 (14,3%)	0/15 (0%)	0,26
Dysautonomie précoce < 5 ans	5/22 (22,7%)	2/13 (15,4%)	0,69
Troubles du sommeil	TOTAL : 8/17 (47%) : -TCSP 8/17 (47%) -SJSR 2/14 (14,3%)	TOTAL : 6/12 (50%) : -TCSP 5/12 (41,7%) -SJSR 4/11 (36,4%)	1 1 0,35
Dopasensibilité	19/21 (90%)	13/16 (81,3%)	0,68
Délai introduction de la L-dopa (médiane en années)	1 (2,9) [0-5], (n = 15)	1 (5,4) [0-10], (n = 7)	0,79
Apparition des fluctuations motrices	19/22 (86,4%)	8/14 (57,1%)	0,11
Délai d'apparition des fluctuations motrices vs diagnostic (médiane en années)	4,5 (3,3) [1-14], (n = 12)	5,5 (7,8) [2-24], (n = 4)	0,5
Délai d'apparition des fluctuations motrices vs introduction de la L-dopa (médiane en années)	1 (2,5) [0-5], (n = 11)	2 (1,5) [1-4], (n = 3)	0,84
Apparition des dyskinésies	8/13 (61,5%)	9/14 (64,3%)	1
Délai d'apparition des dyskinésies vs diagnostic (médiane en années)	5,5 (3,3) [3-8], (n = 8)	4 (5) [0-8], (n = 5)	0,59
Délai d'apparition des dyskinésies vs introduction de la L-dopa (médiane en années)	3 (3) [1-6] (n = 8)	1 (1) [0-4], (n = 5)	0,08
Présence d'une stimulation dopaminergique	TOTAL : 7/23 (30,4%) : -SCP 4/23 (17,4%) -Pompe apomorphine 5/23 (21,7%) -Duodopa® 1/23 (4,3%)	TOTAL : 5/15 (33,3%) : -SCP 4/15 (26,7%) -Pompe apomorphine 1/15 (6,7%) -Duodopa® 1/15 (6,7%)	1 0,69 0,37 1
Syndrome pyramidal	0/23 (0%)	3/15 (20%)	0,054
Syndrome cérébelleux	1/23 (4%)	0/15 (0%)	1
Syndrome parkinson plus	-AMS 1/23 (4,3%) -DCL 0/23 (0%) -PSP 0/23 (0%) -DCB 0/23 (0%)	-AMS 0/15 (0%) -DCL 0/15 (0%) -PSP 0/15 (0%) -DCB 0/15 (0%)	1 1 1 1

1.2. Patients porteurs d'une mutation du gène *PRKN* (*PRKN+*)

19 patients se sont révélés porteurs d'une mutation du gène *PRKN* codant pour la protéine parkine, soit 3,4% de la cohorte totale.

Parmi les 19 patients mutés pour *PRKN*, 13 patients présentaient 2 allèles mutés en MLPA (3 étaient homozygotes et 10 hétérozygotes composites). 6 patients présentaient une seule mutation et ont été bénéficié d'une 2^{ème} technique par séquençage Sanger. Parmi les 6 patients vérifiés, 3 patients présentaient une seconde mutation de *PRKN*. Les 3 autres patients étaient hétérozygotes simples.

Au vu des connaissances actuelles, les patients ne présentant qu'une seule mutation du gène *PRKN* (ou *PRKN* hétérozygotes) ne sont pas considérés comme des formes génétiques de MP et n'ont donc pas été inclus dans l'analyse des patients *PRKN+*.

Au total 16 patients *PRKN+* (soit homozygotes soit hétérozygotes composites) ont été analysés dans l'étude, soit 2,9% de la cohorte totale.

Le détail des différentes mutations de *PRKN* (délétions, duplications, triplications, mutations ponctuelles) est résumé dans le Tableau 5.

Les caractéristiques démographiques générales, les signes moteurs et non moteurs, les complications motrices, la dopasensibilité et la présence d'une stimulation dopaminergique des patients *PRKN+*, ainsi que la comparaison de leur fréquence par rapport aux patients *LRRK2+*, sont détaillées dans les Tableaux 3 et 4.

Le profil type *PRKN+* de notre cohorte était représenté par :

- une femme plutôt (sex ratio 0,8), d'origine caucasienne, d'âge de début médian de la maladie jeune de 30,5 ans (8,8) d'un délai diagnostique médian de 5 ans (4,5)

- réalisation fréquente d'un DAT scan® initial pour confirmation du diagnostic initial de MP chez 11 patients sur 13 (84,6%)
- forme de MP classique chez la majorité des patients
- dystonie fréquente (46,2%) très présente au début de la maladie (localisée au niveau des membres inférieurs chez 9 patients sur 10) et pouvant être isolée pendant de nombreuses années avant l'apparition du SP. Elle est précoce dans 57,1% des cas
- présence d'un syndrome pyramidal retrouvé chez 3 patients sur 15, soit dans 20% des cas. 2 patients sur 13 présentaient une paraparésie spastique comme premier symptôme de la MP
- troubles psycho comportementaux dominés par l'anxiété présente chez 90% des patients de la cohorte. Nous pouvons souligner l'absence d'hallucination retrouvée dans notre cohorte *PRKN+*
- troubles du sommeil présents dans 50% des cas
- une dopasensibilité et des dyskinésies dopa induites, survenant 1 an (1) après l'introduction de la L-dopa.

Tableau 5 : Détail des mutations du gène *PRKN*

Mutation *PRKN*, statut hétérozygote simple ($n = 3$)

Numéro de patient	Mutation (version simplifiée)
PARK 464	Duplication de l'exon 2 isolée
PARK 497	Délétion des exons 5 à 7 isolée
PARK 540	Duplication de l'exon 2 isolée

Mutation *PRKN*, statut homozygote ($n = 3$)

Numéro de patient	Mutation (version simplifiée)
PARK 103	Quadruplication des exons 5 à 6
PARK 309	Quadruplication de l'exon 2
PARK 714	Délétion homozygote de l'exon 6

Mutation *PRKN*, statut hétérozygote composite (n = 13)

Numéro de patient	Mutation (version simplifiée)
PARK 149	Duplication de l'exon 3 + Mutation ponctuelle c823C>T, p.(Arg275Trp)
PARK 202	Délétion de l'exon 4 + Mutation ponctuelle c823C>T, p.(Arg275Trp)
PARK 369	Délétion des exons 3 à 6 + Duplication de l'exon 7
PARK 387	Délétion de l'exon 6 + Duplication de l'exon 11
PARK 403	Délétion des exons 3 à 4 + Mutation ponctuelle c823C>T, p.(Arg275Trp)
PARK 503	Délétion des exons 5 à 9 + Triplification de l'exon 4
PARK 575	Délétion de l'exon 3 + Délétion des exons 3 à 4
PARK 616	Délétion des exons 3 à 4 + Mutation ponctuelle c.155del, p.(Asn52Metfs*29)
PARK 628	Délétion des exons 3 à 6 + Mutation ponctuelle c.1283dup, p.(Asn428Lysfs*141)
PARK 678	Duplication de l'exon 3 + Mutation ponctuelle c.155del, p.(Asn52Metfs*29)
PARK 742	Délétion des exons 3 à 6 + Mutation ponctuelle c.1298A>C, p.(His433Pro)
PARK 498	Délétion de l'exon 3 + Mutation ponctuelle c.7+5G>T, p.?
PARK 509	Délétion de l'exon 8 + Mutation ponctuelle c.971del, p.(Val324Alafs*111)

1.3. Comparaison des patients mutés pour *PRKN* et *LRRK2*

Nous avons retrouvé comme différences significatives statistiquement entre les patients porteurs des 2 différentes mutations (Tableaux 3 et 4) :

- une surreprésentation de la population maghrébine chez les patients mutés G2019S par rapport aux patients mutés *PRKN*+ ($p = 1,8.10^{-7}$)
- le DAT scan® était plus souvent réalisé pour conforter le diagnostic de la MP pour les patients *PRKN*+ que pour les patients *LRRK2*+ ($p = 0,021$)
- les patients *PRKN*+ présentaient de manière significative plus de dystonie en premier signe de MP (46,2%) par rapport aux patients *LRRK2*+ (5%)
- l'âge des premiers symptômes était plus précoce de façon significative ($p < 0,0001$) chez les patients *PRKN*+ et le début de la MP survenait 14,5 ans avant les patients *LRRK2*+ (Figures 7 et 8)
- le délai diagnostique était allongé chez les patients *PRKN*+ (5 ans) par rapport aux patients *LRRK2*+ (0,8 ans)
- sur le plan psycho comportemental, 90 % des patients *PRKN*+ rapportaient une anxiété contre 41% des patients *LRRK2*+ ($p = 0,018$). A l'inverse, 45,5% des patients *LRRK2*+ rapportaient des hallucinations, contrastant à l'absence d'hallucination rapportée chez tous les patients *PRKN*+ ($p = 0,0022$)
- concernant les complications motrices de la MP, plus de patients *LRRK2*+ (86,4%) avaient atteint le stade de fluctuations motrices par rapport aux patients *PRKN*+ (58,8%).

Figure 7 : Distribution de l'âge de début de la MP des patients *LRRK2+* (n = 22)

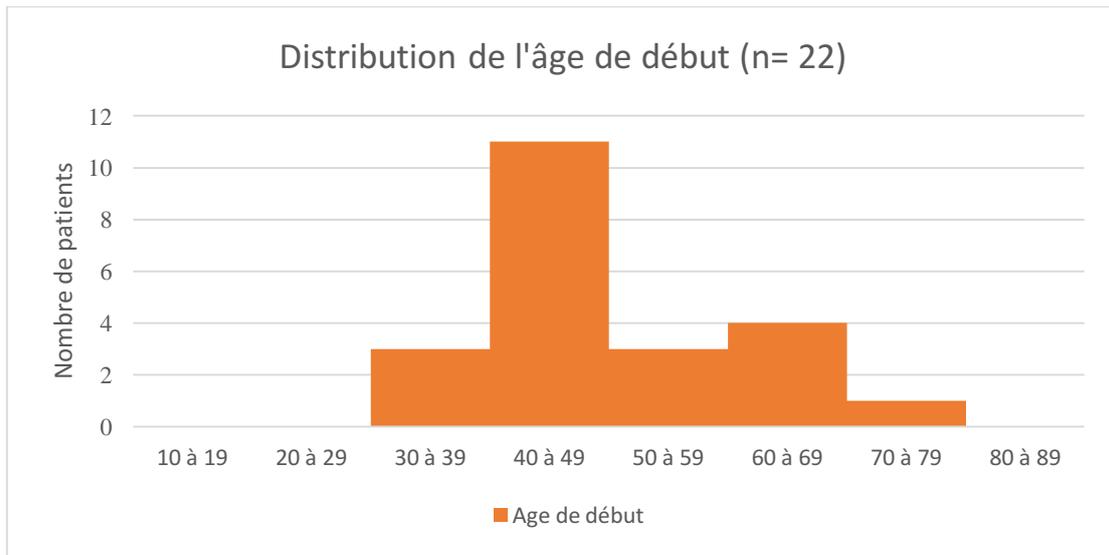
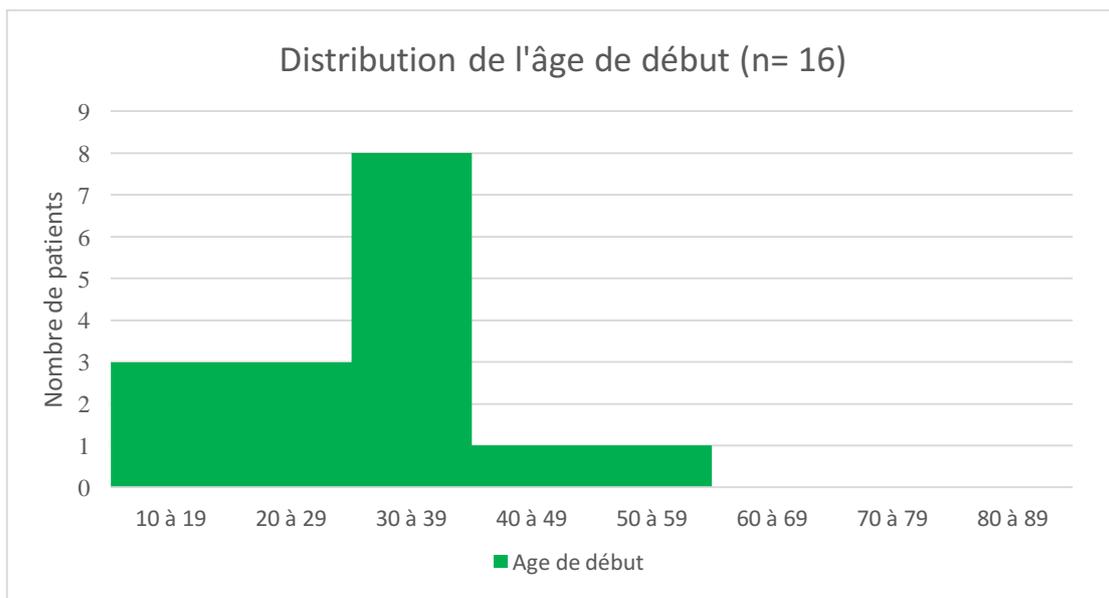


Figure 8 : Distribution de l'âge de début de la MP des patients *PRKN+* (n = 16)



1.4. Patients porteurs d'une mutation du gène *SNCA* (*SNCA+*)

5 patients de la cohorte présentaient une duplication des exons 1 à 6 de *SNCA*, soit 0,9% de la cohorte totale. Aucun patient ne présentait la mutation ponctuelle A30P ou une tripllication.

Aucune analyse statistique n'a pu être réalisée en raison du faible nombre de patients.

Le profil type du patient SNCA+ (Tableaux 6 et 7) était représenté par :

- une femme (100%), d'origine caucasienne, d'âge moyen de début de la MP de 58,4 ans ($\pm 7,1$), soit un âge plus tardif que les patients porteurs d'autres mutations
- la présence d'antécédents familiaux (100%) avec au moins un antécédent familial de premier degré
- la prédominance de SP atypique (60% des cas) avec la présence de 2 patients sur 5 avec un phénotype de type AMS et une patiente sur 5 avec le phénotype de type DCL
- la présence de troubles psychocomportementaux chez toutes les patientes
- une dysautonomie précoce, présente chez 80% de nos patientes
- la présence de troubles cognitifs marqués chez toutes nos patientes et apparaissant de manière assez précoce
- une dopasensibilité chez 60% des sujets, moins importante que les patients porteurs d'autres mutations, dans un contexte de prépondérance de syndrome parkinsonien atypique.

Tableau 6 : Caractéristiques générales des patients SNCA+

MLPA positive (%)	5/46 (10,9%)
Sexe ratio (H/F)	0/5 (0%)
Nombre de Lillois	3/5 (60%)
Nombre Hauts de France	5/5 (100%)
Origine géographique Maghreb supposée	0/5 (0%)
Premiers symptômes	-Tremblement 1/3 (33%) -Akinésie 2/3 (66%) -Rigidité 0/3 (0%) -Dystonie 0/3 (0%) -Syndrome cérébelleux 0/3 (0%) -Troubles cognitifs 1/3 (33%)
DAT scan® réalisé pour le diagnostic	2/4 (50%)
Age des premiers signes (moyenne en années)	58,4±7,1 [50-66], (n = 5)
Délai diagnostique (moyenne en années)	2±0,8 [1-3], (n = 4)
Présence d'antécédents familiaux	5/5(100%) -1 ^{er} degré : 5/5 (100%) -2 ^{ème} degré : 3/5 (60%) -3 ^{ème} degré : 0/5 (0%)
Moyenne du nombre d'antécédents (ATCDs) familiaux	2,2±0,4 [2-3] (n = 5)

Tableau 7 : Signes moteurs et non moteurs des patients SNCA+

Troubles psycho comportementaux	TOTAL : 5/5 (100%) -TCI sous agonistes 2/3 (66,6%) -Dépression 3/4 (75%) -Anxiété 2/2 (100%) -Apathie 3/4 (75%) -Hallucinations 3/5 (60%)
Dystonie précoce < 5ans	0/5 (0%)
Troubles axiaux précoces < 5 ans	1/5 (20%)
Dysautonomie précoce < 5 ans	4/5 (80%)
Troubles du sommeil	TOTAL : 2/2 (100%) -TCSP 2/2 (100%) -SJSR 0/1 (0%)
Dopasensibilité	3/5 (60%)
Délai introduction de la L-dopa (moyenne en années)	1±2 [0-4], (n = 4)
Délai apparition fluctuations motrices (médiane en années)	-Vs diagnostic : 5,5 (1) [3-8], (n = 2) -Vs introduction de la L-dopa : 3,5 (5) [3-4], (n = 2)
Délai d'apparition des dyskinésies (médiane en années)	-Vs diagnostic : 5,5 (1) [5-6], (n = 2) -Vs introduction de la L-dopa : 3,5 (5) [1-6], (n = 2)
Stimulation dopaminergique continue	TOTAL 0/5 (0%) -SCP 0/5 (0%) -Pompe à apomorphine 0/5 (0%) -Duodopa® 0/5 (0%)
Syndrome pyramidal	1/5 (20%)
Syndrome cérébelleux	0/5 (0%)
Diagnostic d'un syndrome parkinson plus	-AMS 2/5 (40%) -DCL 1/5 (20%) -PSP 0/5 (0%) -DCB 0/5 (0%)

1.5. Autres mutations

Deux patients de notre cohorte présentaient une mutation *PINK1*, un patient était faux positif à la confirmation par séquençage Sanger et un autre hétérozygote simple. A la lecture de leur dossier, ils ne présentaient pas de MP et donc ont été exclus de l'étude. Nous n'avons donc pas retrouvé de mutation du gène *PINK1* chez des patients parkinsoniens (0%).

Aucune mutation *UCHL1*, *DJ1*, *ATP13A2* et *GCH1* n'a été retrouvée chez nos patients.

2. Patients lillois non porteurs d'une mutation en MLPA

Nous avons ensuite étudié les patients chez qui l'analyse MLPA n'a pas identifié de mutation. Seuls les patients lillois ont été pris en compte car les données des autres centres français n'étaient pas accessibles. 9 patients lillois ont été exclus car aucune information n'a pu être récupérée. 53 patients lillois ont été exclus car n'avaient pas de MP avérée ou un SP dégénératif à la relecture des dossiers (Tableau 8). A noter que parmi eux, 38,8% rapportaient des antécédents familiaux de MP ou de maladie apparentée. Au total 287 patients lillois négatifs ont été analysés (Figure 6).

La population lilloise négative était représentée par 171 hommes pour 117 femmes, soit un sex ratio de 1,5.

65% des patients relevaient un antécédent familial de MP, par ordre de fréquence décroissante de 1^{er} degré (77%), puis de 2^{ème} degré dans 34,2% des cas puis plus rarement de 3^{ème} degré dans 15,1% des cas.

L'âge de début de la maladie était en moyenne de 49,8 ans.

20 patients sur 287 présentaient un SP atypique, soit 7% des patients négatifs.

Tableau 8 : Diagnostic différentiel de SP dégénératif de notre cohorte (n = 53)

Diagnostic différentiel de MP	Nombre de patients
Autre maladie neurologique (dégénérescence lobaire fronto-temporale, dystonie dopa sensible, ataxie spinocérébelleuse, hydrocéphalie à pression normale, neuroferritinopathie)	22
Tremblement essentiel (TE)	10
SP dû à une lésion cérébrale	2
Tremblement mixte (TE et SP vasculaire)	1
Doute diagnostique (DAT scan® en attente)	1
SP à DAT scan® négatif (SWEDD)	3
Maladie générale (cytopathie mitochondriale, mutation <i>IHF1</i>)	2
SP iatrogène	6
Trouble anxio dépressif	4
Mauvaise indication du test (cancer de la langue et migraine avec aura)	2

3. Comparaison des résultats des patients lillois porteurs et non porteurs d'une mutation

La comparaison des patients mutés par rapport aux patients non mutés au kit MLPA (Tableau 9), met en évidence plusieurs différences significatives :

- Le sex ratio : la population mutée est surreprésentée par les femmes, contrairement à la population non mutée composée majoritairement par des hommes (sex ratio 1,5).
- L'âge de début moyen de la MP était significativement plus tardif ($p = 0,0034$) chez les patients non mutés : début à 49,8 ans contre 43 ans chez les mutés, soit un début plus précoce de 7 ans environ chez les mutés.

- L'origine maghrébine est surreprésentée chez nos patients mutés (50%) contre seulement 4,5 % de patients non mutés.

En revanche, il n'y avait pas de différence significative concernant la présence d'antécédents familiaux chez nos 2 groupes de patients, ni sur la présence d'atypie clinique.

Tableau 9 : Comparaison des caractéristiques générales entre les patients mutés et les patients non mutés

	MLPA négative (n = 287)	MLPA positive (n = 46)	Test statistique
Sexe ratio H/F	171/116 (1,5)	16/30 (0,5)	0,0017
ATCDs familiaux	TOTAL 153/241 (63,5%) puis parmi ceux avec ATCDs familiaux : -1 ^{er} degré : 118/153 (77,1%) -2 ^{ème} degré : 52/153 (34%) -3 ^{ème} degré : 23/153 (15%)	TOTAL 31/42 (73,8%) puis parmi ceux avec ATCDs familiaux : -1 ^{er} degré : 25/29 (86,2%) -2 ^{ème} degré : 10/28 (35,7%) -3 ^{ème} degré : 3/28 (10,7%)	0,2 0,27 0,86 0,55
Nombre d'ATCDs familiaux	1 (1) [0-8], (n = 241)	2 (1,5) [0-3], (n = 39)	0,056
Age de début de la maladie (moyenne en années)	49,8±12,1 [9-84], (n = 284)	43±14,6 [10-73], (n = 42)	0,0011
Origine maghrébine supposée	13/287 (4,5%)	23/46 (50%)	2,97.10⁻²⁰
Diagnostic clinique	-MP classique 267/287 (93%) -AMS 10/287 (3,5%) -DCL 5/287 (1,7%) -PSP 3/287 (1%) -DCB 1/287 (0,3%) -DCL like 1/287 (0,3%) secondaire à maladie de Gaucher	-MP classique 39/43 (90,7%) -AMS 3/43 (7%) -DCL 1/43 (2,3%) -PSP 0/43 (0%) -DCB 0/43 (0%) -DCL like 0/43 (0%)	0,53 0,27 0,79 0,5 0,7 0,7

4. Calcul des performances diagnostiques du test MLPA

Dans un premier temps, nous avons déterminé les seuils d'âge de début de la MP pertinents pouvant être discriminants entre les patients mutés et non mutés (Tableau 10) et comparé la présence, l'absence et le nombre d'antécédents familiaux chez les patients mutés et non mutés (Tableau 11).

Le premier critère qui ressortait significatif entre patients mutés et non mutés était l'âge de début. Il existait une différence significative du pourcentage de patients débutant leur SP ≤ 40 ans (critère A, $p = 0,0038$), et ≤ 45 ans (critère B, $p = 0,0037$) entre patients mutés et non mutés. En effet, plus de la moitié des patients mutés (64,3%) débutaient leur SP avant l'âge de 45 ans contre 40,5% chez les patients non mutés.

Le deuxième critère significatif était la présence d'antécédents familiaux. La présence de 2 antécédents familiaux ou plus de MP (particulièrement avec la notion d'au moins un ATCD au premier degré) était le plus souvent retrouvée chez les patients mutés ($p = 0,012$ et $p = 0,0014$) (Tableau 11).

Le troisième critère significatif était l'origine Nord-Africaine ou M+ ($p = 2,97.10^{-20}$).

Tableau 10 : Analyse statistique de la différence de la proportion des patients selon l'âge de début de la MP chez les patients mutés et non mutés

Age de début de la MP	MLPA négative (en %)	MLPA positive (en %)	p value
Age ≤ 40 ans (A)	63/284 (22,2%)	18/42 (42,9%)	0,0038
Age ≤ 45 ans (B)	115/284 (40,5%)	27/42 (64,3%)	0,0037
Age ≤ 50 ans (C)	156/284 (54,9%)	29/42 (69%)	0,085
Age ≤ 55 ans (D)	193/284 (68%)	32/42 (76,2%)	0,28

Tableau 11 : Analyse statistique de la différence significative de la présence d'antécédents familiaux de MP chez les patients mutés et non mutés

Nombre d'ATCDs familiaux	MLPA négative (en %)	MLPA positive (en %)	p value
0 ATCD (0)	88/241 (36,5%)	10/39 (25,6%)	0,19
1 ATCD ou + (1+)	153/241 (63,5%)	29/39 (74,4%)	0,19
2 ATCDs ou + (2+)	49/241 (20,3%)	15/39 (38,5%)	0,012
3 ATCDs ou + (3+)	23/241 (9,5%)	3/39 (7,7%)	0,71
1 ATCD ou + avec au moins 1 ATCD de 1 ^{er} degré (E)	118/241 (49%)	25/39 (64,1%)	0,079
2 ou + ATCDs avec au moins 1 ATCD de 1 ^{er} degré (F)	40/241 (16,6%)	15/39 (38,5%)	0,0014

Dans un deuxième temps, nous avons combiné les différents critères retrouvés significatifs afin de déterminer les indications les plus pertinentes. Nous avons calculé les sensibilités, spécificités, valeurs prédictives positives (VPP) et valeurs prédictives négatives (VPN). Les résultats sont présentés dans les tableaux 12 et 13.

La sensibilité (Se) correspondait à la probabilité d'avoir les critères cliniques alors qu'il existe une mutation en MLPA, la spécificité (Sp) à la probabilité de ne pas avoir les critères cliniques alors qu'il n'existe pas de mutation en MLPA. La VPP désignait la probabilité d'être muté alors que les critères cliniques étaient remplis et la VPN la probabilité de n'être pas muté alors que les critères cliniques n'étaient pas remplis.

L'objectif étant d'identifier un maximum de patients, nous avons défini les valeurs de sensibilité et de VPN comme étant les plus intéressantes pour notre étude.

Tableau 12 : Analyse statistique des sensibilités, spécificités, VPP et VPN chez les patients mutés et non mutés ayant débuté la MP avant ou à l'âge de 40 ans

Critère clinique	MLPA négative (en %)	MLPA positive (en %)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Critère A ou 0	114/239 (47,7%)	22/38 (57,9%)	57,9	52,3	16,2	88,7
Critère A ou 1+	180/239 (75,3%)	33/38 (86,8%)	86,8	24,7	15,5	92,2
Critère A ou 2+	95/239 (39,7%)	27/38 (71,1%)	71,1	60,3	22,1	92,9
Critère A ou 3+	73/239 (30,5%)	19/38 (50%)	50,0	69,5	20,7	89,7
Critère A ou 1+ ou M+	183/239 (76,6%)	36/38 (94,7%)	94,7	23,4	16,4	96,6
A ou 2+ ou M+	100/239 (41,8%)	35/38 (92,1%)	92,1	58,2	25,9	97,9
A ou 3+ ou M+	78/239 (32,6%)	31/38 (81,6%)	81,6	67,4	28,4	95,8
A ou M+ ou au moins 1 ATCD de 1 ^{er} degré	155/239 (64,9%)	36/38 (94,7%)	94,7	35,1	18,8	97,7

Tableau 13 : Analyse statistique des sensibilités, spécificités, VPP et VPN chez les patients mutés et non mutés ayant débuté la MP avant ou à l'âge de 45 ans

Critère clinique	MLPA négative (en %)	MLPA positive (en %)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Critère B ou 0	130/239 (54,4%)	26/38 (68,4%)	68,4	45,6	16,7	90,1
Critère B ou 1+	205/239 (85,8%)	36/38 (94,7%)	94,7	14,2	14,9	94,4
Critère B ou 2+	135/239 (56,5%)	32/38 (84,2%)	84,2	43,5	19,2	94,5
Critère B ou 3+	114/239 (47,7%)	27/38 (71,1%)	71,1	52,3	19,1	91,9
Critère B ou 1+ ou M+	206/239 (86,2%)	37/38 (97,4%)	97,4	13,8	15,2	97,1
B ou 2+ ou M+	138/239 (57,7%)	36/38 (94,7%)	94,7	42,3	20,7	98,1
B ou 3+ ou M+	117/239 (49%)	32/38 (84,2%)	84,2	51,0	21,5	95,3
B ou M ou au moins 1 ATCD de 1^{er} degré	183/239 (76,6%)	37/38 (97,4%)	97,4	23,4	16,8	98,2

La combinaison de critères avec la meilleure sensibilité et VPN était :

- âge de début \leq 45 ans
- OU au moins un antécédent familial de premier degré
- OU une origine maghrébine.

DISCUSSION

I. Comparaison de nos résultats avec les données de la littérature

Nous nous sommes intéressés à comparer nos résultats avec *The Movement Disorder Society Genetic mutation database (MDSgene)* présentés sur le site internet www.mdsgene.org puis à d'autres études dans la littérature (Tableau 14). *MDSgene* représente une base de données issue d'une revue systématique de la littérature (articles écrits en anglais publiés dans des revues soumises avec comité de lecture) de patients présentant des mouvements anormaux porteurs d'une mutation génétique causale reconnue. Il s'agit d'une grande base de données, contenant plus de 1651 mutations différentes chez 6628 patients, extraites de 1250 publications différentes.

Pour plus de clarté et dans un souci de comparabilité entre nos données, nous devons préciser que les pourcentages indiqués sur le site *MDSgene* et les articles correspondants (43,51), ne prenaient pas en compte les données manquantes et englobaient tous les patients mutés inclus dans leur calcul. Nous avons donc recalculé les pourcentages en incluant seulement les données disponibles et en excluant les données manquantes.

1. Comparaison de la rentabilité de la MLPA de notre cohorte avec les études de la littérature

Nous avons comparé nos résultats par rapport aux données de la littérature concernant la rentabilité du test MLPA chez les patients parkinsoniens. Nous devons préciser qu'aucune autre étude publiée n'a de méthodologie de test génétique similaire (MLPA, séquençage, panel, WES et combinaisons) rendant les comparaisons

déliçates. La rentabilité du test MLPA de notre cohorte (8,3%), était meilleure par rapport aux données de la littérature : 1,4 % dans la grande cohorte anglaise de *Tan et al.* (52), 3,5% dans la cohorte Hongroise de *Illès et al.* (53).

L'étude de *Tan et al.* constitue la plus grande étude examinant la fréquence de mutations génétiques connues de la MP (52). En effet, il s'agit d'une étude multicentrique d'une grande cohorte anglaise prospective de 2005 patients, qui testait la mutation G2019S de *LRRK2* chez tous les patients, et les mutations *PRKN*, *PINK1*, *DJ1*, *VPS35* par séquençage et/ou séquençage d'exome entier dans certaines conditions (présence d'âge de début précoce, présence d'antécédents familiaux). Il faut noter que l'analyse par le kit MLPA commercial n'était pas appliquée chez tous les patients et donc les résultats sont difficilement comparables.

Lesage et al (54) ont recherché les mutations AD des gènes les plus fréquents (*LRRK2*, *SNCA* et *VPS35*) dans une grande cohorte multicentrique rétrospective de 1805 patients parkinsoniens français. 160 patients étaient porteurs d'une mutation AD (8,9%). Parmi eux, 136 étaient porteurs de la mutation G2019S de *LRRK2* (7,6% de la cohorte totale), 19 patients avec une mutation ponctuelle ou réarrangement de *SNCA* soit 1,1% et 3 patients porteurs de la mutation Asp620Asn de *VPS35* (0,16%).

Tableau 14 : Comparaison par rapport aux données de la littérature

Origine de la cohorte	Anglaise <i>Tan et al. (52)</i>	Australienne <i>Bentley et al. (55)</i>	Suédoise <i>Puschmann et al. (56)</i>	Hongroise <i>Illés et al. (53)</i>
Nombre de patients étudiés	2005	1725	2206	142
Critères d'âge	Pas de critère d'âge	Pas de critère d'âge	Pas de critère d'âge	Age de début < 50 ans
Test génétique réalisé	-MLPA ET séquençage Sanger et/ou d'exome chez les sujets d'âge de début < 50 ans avec recherche mutations <i>PINK1</i> et <i>PRKN</i> -MLPA si au moins 2 ATCDs familiaux ($n = 65$), sinon recherche mutation G2019S de <i>LRRK2</i> et/ou séquençage d'exome	1 ^{er} criblage : -MLPA ($n = 860$) -Séquençage ciblé de 8 mutations connues dont G2019S de <i>LRRK2</i> ($n = 1295$) 2 ^{ème} criblage chez les patients négatifs avec ATCDs familiaux multiples : -WES (18 familles)	-Séquençage ciblé de 7 mutations connues dont G2019S de <i>LRRK2</i> et A30P de <i>SNCA</i> ($n = 2206$) -Digital droplet PCR ou TaqMan Copy Number Assay ($n = 2206$), confirmé par MLPA	-MLPA ($n = 142$) -Séquençage Sanger des gènes <i>PRKN</i> , <i>LRRK2</i> et <i>PINK1</i> ($n = 142$) -Panel de gènes en NGS ($n = 40$) -WES ($n = 14$)
Nombre de patients mutés (en %)	29/2003 (1,4%) : -18 <i>LRRK2</i> (0,9%) -1 duplication de <i>SNCA</i> (0,05%) -8 mutations AR de <i>PRKN</i> (2,6%) -2 mutations AR de <i>PINK1</i> (0,7%) -0 mutation <i>DJ1</i> (0%) -0 mutation <i>VPS35</i> (0%)	15/1725 (0,9%) : -11 mutations G2019S de <i>LRRK2</i> (0,8%) -2 duplications <i>SNCA</i> (0,2%) -2 mutations AR de <i>PRKN</i> (0,2%) -2 mutations <i>VPS35</i> (0,2%) -0 mutation <i>PINK1</i> -0 mutation <i>DJ1</i>	13/2206 (0,6%) : -12 mutations G2019 de <i>LRRK2</i> (0,5%) -1 duplication de <i>SNCA</i> (0,5%)	5/142 (3,5%) : -1 duplication de <i>SNCA</i> (0,7%) -4 duplications AR de <i>PRKN</i> (2,8%) -0 mutation G2019S de <i>LRRK2</i> (0%) -0 mutation <i>PINK1</i> (0%) -0 mutation <i>DJ1</i> (0%)
Rentabilité de la MLPA (ou techniques similaires)	29/2003 (1,4%)	Au mieux et avec des méthodes équivalentes = 15/860 (1,7%)	13/2206 (0,6%)	5/142 (3,5%)

2. Comparaison des caractéristiques générales des patients de notre cohorte avec les études de la littérature

L'âge moyen du début de la maladie était plus précoce chez les patients mutés par rapport aux patients non mutés, ce qui est concordant avec les données de la littérature surtout pour les patients porteurs d'une mutation AR (42)(43), les patients *PRKN* représentant tout de même 34.8% de notre cohorte mutée.

Nous avons retrouvé, de façon inattendue, une forte prédominance du sexe féminin chez les patients parkinsoniens mutés (sex ratio 0,5), et ce quel que soit le type de mutation alors que nous nous serions attendu à une égalité de la fréquence entre les sexes par rapport aux données de la littérature et du mode de transmission autosomique (42)(57).

3. Patients *LRRK2+*

La fréquence de mutation *LRRK2* dans notre cohorte était de 4,5 % (25/557), soit plus élevée que la majorité des études de la littérature : 0% dans la population Hongroise (mais l'âge de début de la MP était entre 25 et 50 ans seulement) (53), 0,54% dans la population suédoise (56), 0,9% dans la population anglaise (52), 0,8% dans la population australienne (55), 2,9% dans la population européenne et 41% dans la population maghrébine (32).

Il existait une forte prédominance maghrébine (88%) chez nos patients *LRRK2+*, en concordance avec les données de la littérature (32). Dans l'étude de *Lesage et al.* (32) qui étudiait une cohorte sélectionnée de 181 patients, il était retrouvé 41% de patients maghrébins mutés, contre 61,1% mutés *LRRK2* de notre population maghrébine totale (22 patients sur 36 au total).

Les patients *LRRK2*⁺ de notre cohorte présentaient un âge de début de la MP d'en moyenne 10 ans de moins par rapport aux données retrouvées par la méta analyse de *MDSgene* (respectivement 48,1 ans contre 58,2 ans) (45), de 54,3 ans dans l'étude multicentrique prospective de *Tan et al.* (52).

Cela peut être dû à un biais de sélection du Centre Hospitalier Universitaire de patients hautement sélectionnés, plus jeunes que les patients recrutés dans d'autres études. En effet l'âge moyen de début de la MP des patients de notre cohorte (patients mutés et lillois non mutés) était de 48,9 ans, alors que la cohorte de *Tan et al.* comprenait 1701 patients sur 2003 avec un âge de début supérieur à 50 ans.

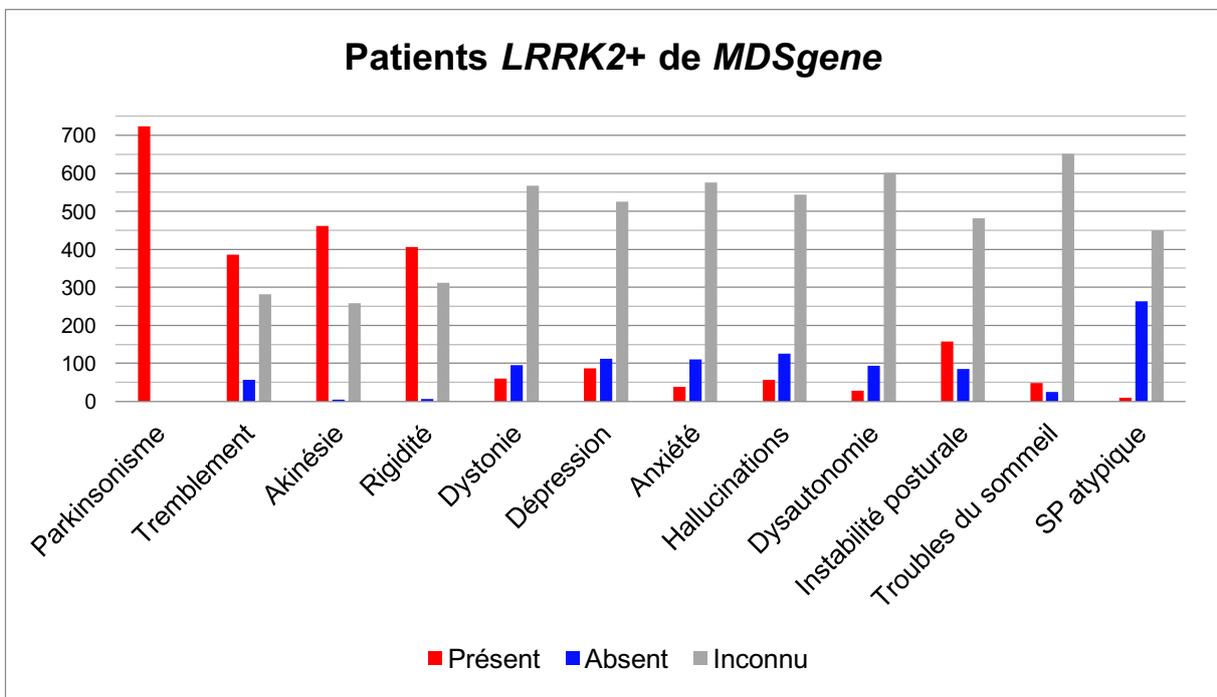
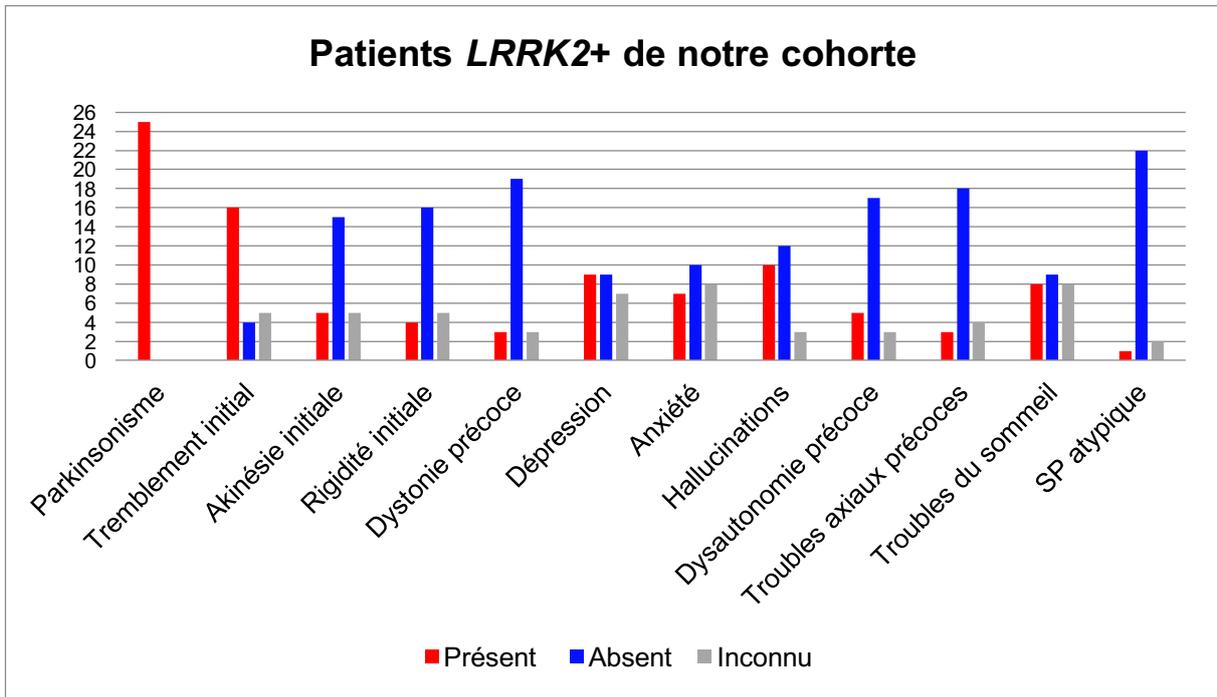
Nous avons retrouvé de manière étonnante que seulement 36% de nos patients *LRRK2*⁺ étaient des hommes, alors qu'il est usuellement retenu un sex ratio de 1 dans la littérature (57). Finalement, ces résultats étaient comparables à ceux de *MDSgene* où les hommes représentaient seulement 41% des patients mutés lorsque sont pris en compte les données manquantes relatives au sexe des patients (51).

Etant donnée la pénétrance incomplète des différentes mutations de *LRRK2* conduisant à la MP, nous pouvons formuler l'hypothèse que chez les femmes, il pourrait exister soit d'autres gènes sur le chromosome X, d'autres facteurs environnementaux et/ou hormonaux favorisant la pénétrance de la MP par rapport aux hommes.

Le phénotype de la MP était classique le plus souvent et similaire à celui de la MPI, en accord avec la littérature (57)(52). Nous devons souligner tout de même la présence d'une dysautonomie précoce chez 22,7% de nos patients *LRRK2*⁺, présente également chez 23% des patients de la cohorte de *MDSgene* (29 patients sur 123

patients renseignés, 601 données manquantes) et peu décrite dans la littérature. Cela doit nous inciter à envisager la réalisation de test génétique à l'avenir devant cette présentation clinique initiale chez un sujet jeune et/ou avec ATCDs familiaux. La figure 9 détaille la comparaison des signes moteurs et non moteurs chez les patients *LRRK2+* de notre cohorte et de *MDSgene*.

Figure 9 : Comparaison des signes moteurs et non moteurs chez les patients *LRRK2+* de notre cohorte et de *MDSgene*



4. Patients PRKN+

2,9% de notre cohorte totale (16 patients sur 557) présentait des mutations du gène *PRKN* codant pour la parkine. La rentabilité était similaire à la cohorte anglaise (2,6%) (52) mais dans l'étude de *Tan et al.*, les mutations de *PRKN* n'étaient recherchées que chez les patients avec un âge de début de MP \leq à 50 ans. Ce résultat est également comparable à l'étude Hongroise (2,8%) (53). En revanche, d'autres études de populations ne retrouvaient pas ou très peu de mutation *PRKN* : l'étude suédoise et l'étude australienne (55,56).

L'âge de début moyen de la MP était précoce à 30,5 ans, similaire aux données de la littérature (42,43,52), avec un âge de début beaucoup plus précoce que dans la MPI. Nous devons attirer l'attention sur la présence d'un âge de début de la MP précoce inférieur à 40 ans chez 14 de nos patients sur les 16 mutés (87,5%), ce qui corrobore les conclusions de *MDSgene* recommandant la recherche de mutations *PRKN* chez les patients ayant débuté la MP avant l'âge de 40 ans (43). Un DAT scan® était réalisé chez 84,6% des patients de notre cohorte dans le diagnostic positif de la MP. Il a été nécessaire d'utiliser plus fréquemment le DAT scan® pour poser le diagnostic de MP en aide diagnostique, probablement en raison de l'âge jeune du début de la MP (début de la maladie notamment à 10 ans chez une patiente) et de la présentation clinique pouvant être frustrante et atypique avec une dystonie pouvant rester isolée (signe révélateur de la MP chez 46,2% de nos patients) pendant de nombreuses années (42). Nous pouvons citer l'exemple assez frappant d'une patiente suivie à Lille ayant développé une dystonie isolée du membre inférieur à l'âge de 11 ans, et qui s'est vue diagnostiquer la MP à l'âge de 32 ans, soit un délai diagnostique de 21 ans.

Le délai diagnostique était allongé par rapport aux autres mutations et aux patients ayant une MPI pour les raisons énoncées ci-dessus.

Ce constat est important et doit amener le neurologue à rechercher un SP potentiellement génétique chez les sujets présentant une dystonie isolée des membres inférieurs, d'autant plus en présence d'antécédents familiaux évocateurs d'un mode de transmission AR.

L'anxiété était présente de façon beaucoup plus importante (90%) chez nos patients, que chez les patients *MDS* (62,2%) (43). Cela peut s'expliquer par le grand nombre de données manquantes dans la plupart des études concernant l'anxiété, notamment *MDSgene* (95% de données manquantes) et rendant cette donnée difficilement comparable.

Nous pouvons souligner que 20% de nos patients présentaient un syndrome pyramidal, contre 33% des patients *MDS* qui présentaient des symptômes atypiques (dont le syndrome pyramidal). 2 patients de notre cohorte sur 13 (15,4%) ont présenté étonnamment une paraparésie spastique comme présentation clinique initiale avant l'apparition du SP survenu plus tardivement. Dans la littérature, il est souvent mentionné une hyperréflexie (41,42) dans les caractéristiques cliniques dans la littérature et également sur le site www.omim.org.

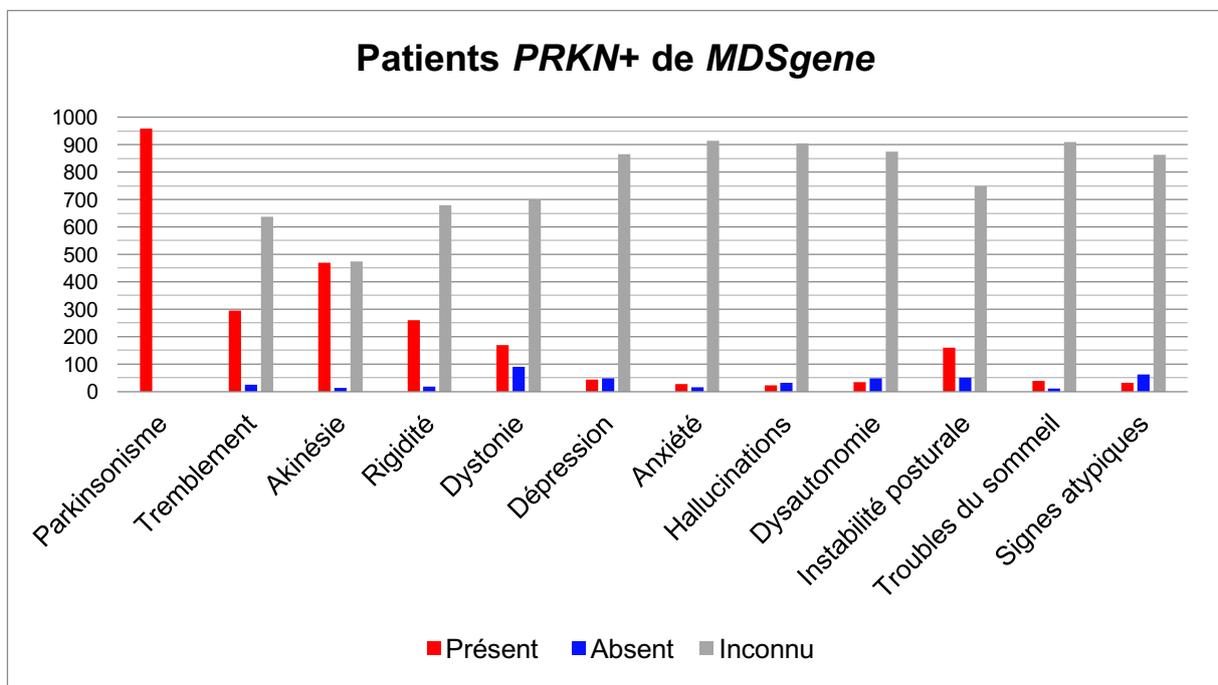
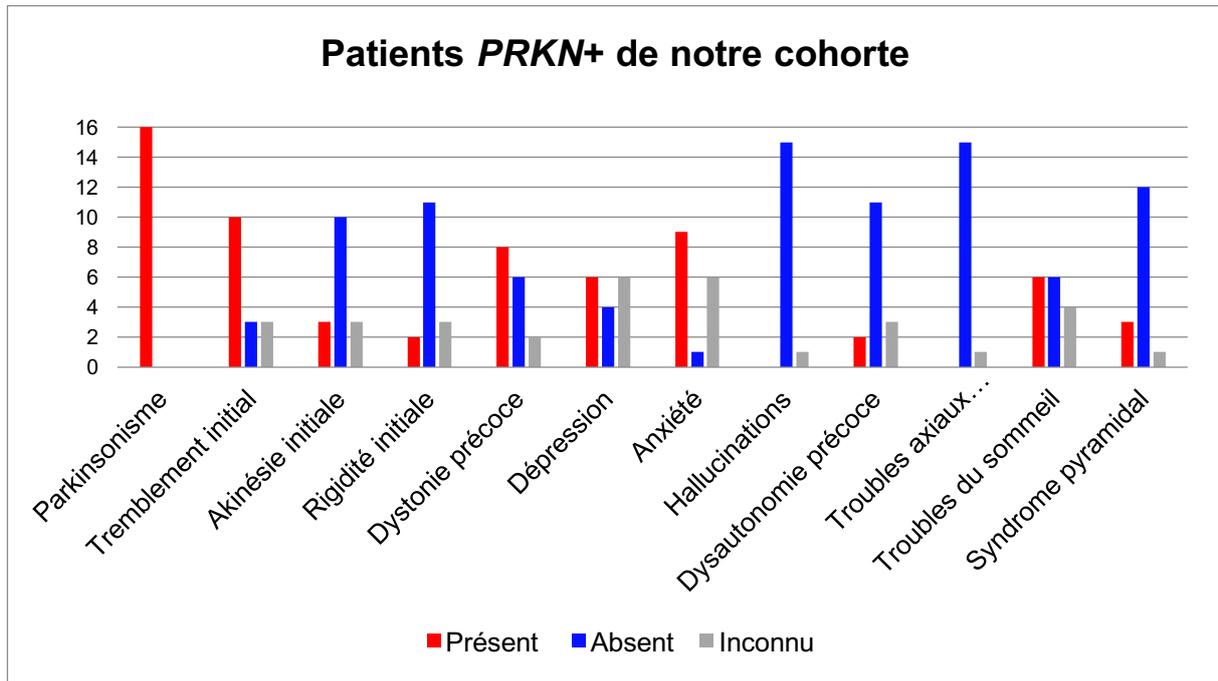
Cependant, les études portant sur la présence d'un syndrome pyramidal sont très rares. En effet, sur 958 patients *PRKN+* rapportés de la littérature dans *MDSgene*, il n'y avait aucune information sur leur présence ou non.

Cela doit inciter à l'avenir à approfondir les données sur les signes associés au SP chez les patients *PRKN* dans les études de corrélations génotype-phénotype afin de confirmer ou d'infirmier nos recherches.

Enfin, un seul patient muté *PRKN* présentait des troubles cognitifs dans notre cohorte (6%), contre 20% dans *MDS*. Cela est corroboré par les données de la littérature avec l'absence de démence chez la plupart des patients (42).

La figure 10 détaille la comparaison des signes moteurs et non moteurs chez les patients *PRKN+* de notre cohorte et de *MDSgene*.

Figure 10 : Comparaison des signes moteurs et non moteurs chez les patients *PRKN+* de notre cohorte et de *MDSgene*



5. Patients SNCA+

0,9% des patients de la cohorte étaient porteurs d'une mutation du gène *SNCA* ce qui est assez similaire à l'étude hongroise à 0,7% (53). Les autres études avaient des proportions moindres: 0,05% des patients des cohortes anglaise et suédoise (52)(56), 0,2% dans l'étude australienne (55).

L'âge de début moyen de la MP était de 58,9 ans, soit un âge de début classique comparé à la MPI, alors que la plupart des études rapportaient un âge de début plus précoce (âge de début de 48 ans en moyenne) dans l'étude des duplications hétérozygotes de *SNCA* chez 44 patients provenant du monde entier (58).

La forte prévalence de troubles cognitifs (100%) chez nos patients apparaissant de manière précoce est en accord avec *MDSgene* (70,2% des patients).

La prépondérance de syndromes parkinsoniens atypiques dans notre cohorte (60%) était comparable aux données de *MDSgene* (82,9%). Enfin, la dysautonomie précoce (80% dans notre cohorte) était également présente chez plus de la moitié des patients *MDSgene*.

Konno et al. (58) rapportaient également la présence non négligeable de patients porteurs d'un phénotype clinique de SP plus (AMS et surtout DCL) et la présence de troubles cognitifs chez leurs patients dupliqués.

Cependant, il faut noter que les patients *MDSgene* mutés pour le gène *SNCA* présentaient de nombreuses mutations (dont les triplications), s'opposant aux patientes *SNCA+* (toutes dupliquées), rendant la comparaison difficile.

Aucune triplication n'a été détectée dans notre cohorte, c'est la raison pour laquelle il a été impossible d'évaluer l'effet de dosage génique décrit dans la littérature avec une sévérité clinique corrélée au nombre de copies (29).

Au total, nos résultats font pencher la balance plutôt pour un phénotype plus sévère avec des troubles cognitifs précoces et de plus fréquents syndromes parkinsoniens atypiques en cas de mutation du gène *SNCA*, même en cas de duplication.

6. Autres mutations

Aucune autre mutation dans un autre gène n'a été retrouvée. L'étude anglaise retrouvait 0,7% de mutations *PINK1* dans sa cohorte de 302 patients avec âge de début précoce. L'étude australienne retrouvait en revanche 2,1% de patients porteurs d'une mutation *VPS35* non testée dans notre cohorte. Enfin, il faut noter que ces mutations ont nécessité l'utilisation d'autres tests génétiques (Séquençage Sanger ou NGS) qui ne fait pas l'objet de cette étude.

II. Rôle de l'hétérozygotie du gène *PRKN* comme facteur de risque de la MP

Dans notre cohorte, nous avons identifié 3 patients parkinsoniens avec une mutation hétérozygote simple du gène *PRKN* (soit 0,5% de la cohorte totale). Nous pouvons noter que parmi ces 3 patients, une patiente avec une MP de début précoce et une dystonie des membres inférieurs présentait une grande délétion hétérozygote isolée des exons 5 à 7 et dont nous suspectons fortement la présence de 2 délétions proches

sur 2 allèles différents mais non confirmée en Sanger. Ne disposant pas des analyses familiales pour confirmer notre hypothèse, nous l'avons exclue de l'étude.

Une mutation hétérozygote de *PRKN* est détectée chez 5 à 10% des patients avec une MP sporadique d'âge de début précoce dans la plupart des données de la littérature. Son imputabilité n'est pas claire dans la MP à l'heure actuelle (15)(51)(52).

De nombreuses études ont suggéré que des mutations hétérozygotes de *PRKN* étaient considérées comme des facteurs de risque génétique de la MP (53). En effet, de nombreux chercheurs considèrent que les réarrangements hétérozygotes des exons de *PRKN* comme des mutations AD avec faible pénétrance (59) ou d'autres études comme un facteur de risque de MP.

Klein et al. (60) rapportaient plusieurs arguments en faveur de leur rôle dans le développement de la MP devant une fréquence plus élevée chez les patients malades par rapport aux patients hétérozygotes sains.

Il est suggéré que la mutation hétérozygote conduirait à des désordres infracliniques dans le métabolisme de la dopamine au niveau du striatum (59).

Dans l'étude de *Shulkaya et al.* (59), 7% des patients avec une MP sporadique présentaient une mutation hétérozygote de *PRKN* (délétion ou duplication hétérozygote pouvant affecter un simple exon ou tout un groupe d'exons) sans mutation ponctuelle associée. Par contre, ces mutations du gène *PRKN* étaient extrêmement rare dans les populations contrôles (0 à 1,09%), suggérant leur rôle important dans la pathogénèse de la MP.

III. Impact thérapeutique de l'identification d'une mutation en MLPA pour le patient : vers l'émergence de la thérapie ciblée anti *LRRK2*

Sur les vingt dernières années, l'identification de mutations génétiques a eu un réel impact sur la compréhension de la physiopathologie de la MP et une meilleure définition des phénotypes cliniques (50). Le rôle émergent des facteurs génétiques a d'importantes implications dans la pratique clinique et le conseil génétique.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement capable de stopper ou de réduire la progression de la MP.

La découverte de mutations génétiques de *LRRK2* a non seulement eu un impact sur la prédiction de l'histoire naturelle de la MP mais surtout sur le plan thérapeutique avec la possibilité de découverte de thérapies ciblées. La clinique similaire des patients *LRRK2+*, par rapport aux patients avec une MP idiopathique, pose aussi la question de l'implication de *LRRK2* dans des voies communes de la MP et donc amène la question de leur possible efficacité sur la MPI (61).

En 2009, *Covy et Giasson et al.* (62) ont étudié 120 inhibiteurs de tyrosine kinase chez des patients *LRRK2+*, 5 d'entre eux étaient des candidats favorables mais des obstacles de taille n'ont pas permis leur application clinique.

En effet, la première génération regroupait de larges inhibiteurs qui n'étaient pas sélectifs de *LRRK2* et donc porteurs d'effets secondaires non négligeables. Certains de ces inhibiteurs ne passaient pas la barrière hémato encéphalique (63).

D'importants progrès sur les dernières années ont permis d'obtenir des inhibiteurs de deuxième génération sélectifs et puissants. Ces traitements sont dans les derniers stades de la phase préclinique et une étude a terminé la phase 1 de l'essai clinique

chez les volontaires sains (31). Les résultats sont prometteurs concernant leur efficacité sur la MP et sur l'atténuation de la neurodégénérescence dopaminergique chez les rats sauvages et mutés *LRKK2* (64). Cette notion est d'autant plus importante pour le futur avec une possible implication majeure de la génétique avec la possibilité de traiter des porteurs asymptomatiques pour retarder ou empêcher le début de la neurodégénérescence (63).

Cependant, la principale limite de cette thérapie ciblée est celle des effets secondaires. *LRRK2* est fortement exprimée dans d'autres tissus, notamment dans les reins et au niveau du poumon. On constate ainsi chez les patients traités par ces inhibiteurs une sensibilité accrue aux maladies inflammatoires de l'intestin et une susceptibilité aux infections (63). Les travaux futurs devront être orientés vers le développement de molécules avec une efficacité démontrée et une sécurité maximale dans les modèles animaux afin de passer aux stades de recherche clinique.

IV. Points forts de notre étude

Notre étude était multicentrique avec un recrutement de patients issus de la France entière et donc permettant une généralisation de nos résultats à la population française.

Il s'agissait d'une cohorte de taille importante au vu de la sélection en amont des patients ($n = 574$) ayant permis d'obtenir une bonne puissance de notre étude.

Il s'agissait également d'une inclusion comprenant essentiellement des patients avec un âge de début précoce (+/- des ATCDs familiaux) ou tardif avec des ATCDs familiaux. Cela nous différencie des études antérieures portant sur des cohortes de

MP sans sélection (52,56,57), ou ne se focalisaient que sur les patients parkinsoniens avec un âge de début précoce (53).

La rentabilité de notre test était bonne (8,3%) et plus élevée que la plupart des autres études, comme décrit précédemment. Les points forts de notre étude étaient, notamment par rapport à d'autres études, la recherche de mutations combinées chez tous les patients via le kit MLPA, quel que soit le mode de transmission prévisible selon l'arbre généalogique et l'âge de début de la maladie. En effet, certaines études ne se contentaient de la recherche de mutations AR par exemple que chez les patients avec un âge de début jeune et le kit MLPA n'était pas proposé chez tous les patients de la cohorte étudiée (20,52,53). Cependant, des mutations *PRKN* ont été identifiées chez des patients avec un âge de début tardif (65).

Nous pouvons également émettre l'hypothèse que la sélection de nos patients en amont de la réalisation de l'analyse génétique était meilleure que dans les autres études. En effet, la majorité des patients de notre cohorte présentaient des antécédents familiaux, l'âge de début de la MP était en moyenne plus jeune que les études de la littérature. Cela suggère qu'une sélection satisfaisante des patients parkinsoniens permet une bonne rentabilité de ce test et un bon rapport bénéfice/coût.

Un autre point fort de notre étude était la vérification des diagnostics de SP chez les patients mutés et non mutés lillois. En effet, 53 patients sur 340 lillois négatifs (soit 15,6%) n'avaient pas de SP dégénératif. De manière comparable, nous pourrions imaginer que parmi les 157 patients non lillois non analysés, certains n'avaient pas de MP.

Nous pouvons donc supposer raisonnablement que la rentabilité du kit MLPA serait en réalité meilleure que celle retrouvée, si ce test était appliqué seulement chez les

patients parkinsoniens, avec une sélection au préalable avant l'analyse génétique (rentabilité meilleure de 9,5% chez notre cohorte lilloise vérifiée).

Notre étude a permis d'établir des relations génotype-phénotype chez les patients *LRRK2+* et *PRKN+*, globalement en accord avec les données de la littérature.

Nous pouvons mettre en avant des points forts de nos données cliniques de notre étude par rapport aux données de *MDSgene* :

- Les caractéristiques démographiques générales des patients mutés et non mutés lillois (à savoir le sexe, l'âge de début de la maladie) de notre étude comportaient peu de données manquantes (0% pour le sexe et 2% pour l'âge de début), en opposition avec *MDSgene* (51).
- Nos patients mutés inclus dans l'étude étaient tous parkinsoniens, sauf 3 patients dont il était impossible de certifier s'ils étaient véritablement parkinsoniens (absence d'informations cliniques), soit 93,5%. A l'inverse, nous pouvons citer l'absence de données concernant l'akinésie, critère obligatoire dans le diagnostic de MP, chez 50% des patients *PRKN+* de *MDSgene* (43).
- Les descriptions cliniques de nos patients ont pu être vérifiées par analyse des dossiers avec peu de données manquantes concernant les signes non moteurs, permettant d'obtenir des résultats fiables concernant le phénotype non moteur, peu étudié dans les nombreuses études avec des données manquantes allant de 45 à 100% selon les cas (66).
- L'apparition de signes non moteurs, pouvant être présents dans l'histoire évolutive chez tout parkinsonien, tels que les signes dysautonomiques, les troubles axiaux ont été comptabilisés seulement en cas d'apparition précoce (inférieure à 5 ans suivant le début de la MP) dans notre cohorte. *A contrario*,

MDSgene, et donc la plupart des études, les classait seulement en présents ou absents. Or ces atteintes peuvent apparaître tardivement avec l'évolution de la maladie. De ce fait, il était impossible d'établir de corrélations entre la présence de ces signes non moteurs et le génotype du patient.

- Enfin, la présence de signes pyramidaux, notamment chez les patients *PRKN+*, était étudiée chez 94% de nos patients, contre seulement 10% des patients de *MDSgene*.

Les points forts du test MLPA étaient notamment son coût raisonnable (470 euros), par rapport aux autres analyses de génétique, sa facilité et la rapidité dans l'obtention des résultats (environ 2 mois). Son application est notamment très intéressante dans l'identification avec une bonne rentabilité des multiplications et délétions d'exons qui peuvent passer inaperçus en NGS ce qui justifie la stratégie lilloise de commencer par la MLPA avant le NGS.

V. Limites

1. Limites de notre étude

1.1. Limites dans le recueil des données

Notre étude étant rétrospective, l'ensemble du recueil des données était récupéré à l'aide de l'étude approfondie des dossiers, *a posteriori*, pouvant générer plusieurs limites.

En effet, certaines données n'étaient pas colligées dans les dossiers et n'ont pas pu être récupérées. Par exemple, les informations concernant l'évaluation cognitive, comme par exemple MMS, MoCA et BREF n'étaient pas toujours renseignées ou étaient évalués à des moments différents dans l'histoire naturelle de la MP entre les

différents patients. Nous n'avons pas pu effectuer d'analyse concernant ce critère pour ces raisons.

Concernant les patients mutés, aucune information n'a pu être récupérée chez 3 patients (provenant de Fleurus et Besançon). Concernant les patients non mutés, seules les données des patients lillois ont été analysées. 157 patients non mutés étaient non lillois et n'ont donc pas été analysés.

En raison des lois françaises et de l'interdiction des fichiers de données sur l'origine ethnique ou religieuse, nous avons essayé de relever l'origine géographique des patients et notamment l'origine maghrébine. De ce fait il y a pu y avoir des erreurs dans le classement sur l'origine maghrébine supposée.

Aucune information sur la religion n'a donc pu être récupérée, ce qui aurait pu être particulièrement intéressant, dans le contexte de forte prévalence de la mutation G2019S chez les juifs ashkénazes estimé à 18,3% selon *Ozelius et al.* en 2016 et 28% en cas d'antécédents familiaux (33).

De même, le diagnostic de la MP n'a pas toujours été respecté et un certain nombre de patients étaient testés alors qu'ils ne présentaient en réalité pas de MP.

Le diagnostic de MP peut évoluer avec le temps, d'où la nécessité d'un suivi prolongé et de la délivrance d'informations nécessaires au centre de biologie avant la réalisation d'analyses plus poussées en panel voire en WES.

1.2. Biais de sélection

L'ensemble des patients inclus dans l'étude étaient dans la majorité suivis dans un CHRU en France (dont la plupart à Lille) et donc dans un centre tertiaire, cela peut

constituer un biais de sélection, notamment des patients plus jeunes (âge de début moyen inférieur à 50 ans).

1.3. Manque de puissance concernant les patients SNCA+

Le nombre de patients mutés pour *SNCA* étant trop faible, ils n'ont pas pu faire l'objet de tests statistiques et être comparés aux autres mutations (*PRKN* et *LRRK2*). Nous n'avons donc pas pu valider de corrélations génotype-phénotype chez ces patients.

De même, l'absence de mutation retrouvée pour *PINK1/DJ1* ne nous a pas permis d'établir des relations génotype-phénotype.

2. Limites de la MLPA

2.1. Limites de la technique : faux négatifs et faux positifs

Il s'agit d'une méthode semi quantitative et relative et elle présente donc des limites. L'ensemble des limites de la technique peuvent être retrouvés sur le site internet www.mrcholland.com.

La technique MLPA présente des limites sur le plan méthodologique ne permettant pas d'identifier certaines mutations (faux négatifs) :

- la plupart des mutations ponctuelles ne seront pas détectées par la MLPA
- elle ne détectera aucune délétion ou duplication se trouvant en dehors de la séquence cible des sondes et ne détectera pas les inversions ou les translocations neutres du nombre de copies.

A l'inverse, certaines situations (changements dans la séquence cible ou à proximité, contaminations...) sont capables de générer des faux positifs, ce qui justifie que les

anomalies détectées par la MLPA soient confirmées par une autre méthode indépendante (qPCR, southern blot, CGH-array, séquençage Sanger etc...).

2.2. Interprétation des résultats possiblement complexe

L'interprétation des résultats n'est pas toujours aisée. Ci-dessous sont présentées plusieurs situations difficiles à interpréter :

- En cas de 4 copies au lieu de 2 attendues (individu non muté) : cette technique ne permet pas de faire la distinction entre une triplication hétérozygote et une duplication homozygote (dans ces 2 cas il existe 4 copies au lieu de 2 attendues).
- En cas de délétion sur plusieurs exons, il n'est pas possible de distinguer si les exons délétés sont sur le même allèle (mutation hétérozygote) ou sur les 2 allèles (hétérozygote composite) (67). En effet, nous pourrions citer l'exemple d'une patiente de notre cohorte qui présentait une grande délétion hétérozygote isolée des exons 5 à 7 de *PRKN* et qui a été exclue de l'étude.
- Toutes les anomalies retrouvées en MLPA ne sont pas forcément pathogènes, et par conséquent toute anomalie détectée devra être interprétée prudemment.

Ces limites techniques peuvent être réduites avec une enquête familiale plus poussée et la confirmation par une seconde technique (67), ce qui est réalisé au CHU de Lille.

2.3. Limites sur la constitution du kit

Enfin, nous pouvons nous interroger sur la constitution et la pertinence des mutations recherchées dans le kit. En effet, il s'agit d'un kit commercial associant certaines mutations, ne pouvant pas être modifié et donc cela constitue un biais. En effet, le kit

ne recherche que la mutation G2019S de *LRRK2*, certes la plus fréquente, et ne prend pas en compte d'autres mutations connues, notamment la mutation R1441C. En effet, cela n'est pas étonnant pour autant, car la plupart des études ne recherchent que la mutation G2019S (68) et il est en effet difficile d'estimer leur rôle. Néanmoins, une étude Belge retrouvait 1,9% de patients parkinsoniens mutés R1441C de *LRRK2* (69).

De façon plus étonnante, la seule mutation ponctuelle de *SNCA* recherchée en MLPA était l'A30P. Il est admis que la mutation A53T est la plus fréquente (3). Il serait intéressant à l'avenir de la rechercher.

Le kit ne recherche pas de mutation *GBA*, certes seulement un facteur de risque de MP reconnu, mais intéressant à rechercher à l'avenir car il constituerait le principal prédicteur de déclin cognitif de la MP (3).

Finalement, nous pouvons nous interroger sur la présence dans le kit de la recherche de mutations de la MP dont leur rôle causal reste à définir (*UCHL1*, *GCH1*, *ATP13A2*).

3. Complexité de la génétique dans la MP

3.1. Que proposer aux patients négatifs après kit MLPA

Chez de nombreux patients atteints de MP avec notamment des antécédents familiaux, aucune anomalie génétique n'est détectée. Dans notre cohorte lilloise négative, nous pouvons noter que 63,5% des patients rapportaient des antécédents familiaux de MP et que parmi eux 77,1% étaient de premier degré.

Devant ces patients évocateurs d'une forme génétique de MP sans mutation retrouvée via le kit MLPA nous pouvons nous interroger sur l'intérêt d'élargir chez eux la

recherche de mutations génétiques par d'autres méthodes génétiques complémentaires.

En effet, concernant notre étude, certains patients négatifs en MLPA sélectionnés (notamment multiples antécédents familiaux, âge de début de la maladie jeune) ont bénéficié d'un séquençage de nouvelle génération ayant permis de mettre en évidence 3 patients issus de la même famille mutés pour *PRKN*, mais également 3 patients issus également de la même famille, portant tous les 3 une variation de signification indéterminée pour *LRRK2*.

3.2. Next-Generation Sequencing (NGS)

Les techniques de NGS sont de plus en plus utilisées dans certains contextes cliniques (70), en particulier dans les cas de présentations cliniques inhabituelles et en cas d'antécédent familiaux. Ils ont permis de nombreuses associations nouvelles entre différents gènes et la MP. Des études sur l'efficacité du NGS dans le diagnostic des troubles du mouvement ont rapporté un rendement diagnostique allant jusqu'à 10,1% pour la forme familiale et 15,7% pour la MP à début précoce (70).

La compréhension accrue des mécanismes physiopathologiques pourrait permettre d'augmenter les chances d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques à chaque forme génétique sous-jacente.

Elles permettront à l'avenir d'identifier des variants rares dans des gènes pour le moment inconnus dans la MP et permettre ainsi de mieux appréhender les mécanismes physiopathologiques, élargir le spectre phénotypique mais conduisant à un grand nombre de variants de rôle indéterminé (gènes *CHCHD2*, *EIF4G1* etc..), posant un défi majeur dans le conseil génétique (50).

3.3. Variabilité phénotypique

Les corrélations génotype-phénotype permettront aux patients mutés de mieux connaître l'évolution de leur maladie, et aux médecins de suspecter une mutation précise (70) en fonction du phénotype clinique du patient. Cependant, il ne faut pas oublier qu'un même phénotype peut être causé par différentes mutations (comme par exemple les patients mutés *PRKN* ou *PINK1*) et que la même mutation peut conduire à différents phénotypes (50).

Nous pouvons citer l'exemple frappant d'une de nos familles *LRKK2+* qui était composée d'un fils porteur du phénotype AMS et dont la mère était atteinte d'une forme classique de MP. Un autre exemple consiste en une de nos familles *SNCA+* qui était composée d'une tante qui présentait un phénotype de type AMS et de sa nièce avec une MP. Il existe donc des variations phénotypiques inter et intra familiales à prendre compte.

VI. Sélection des critères d'indication du test

Dans la pratique courante en ce qui concerne le dépistage, il s'agit avant tout pour un test d'avoir une bonne sensibilité afin de détecter un maximum de malades et donc d'éviter un test négatif chez des malades authentiques (peu de faux négatifs). De même, la VPN est particulièrement intéressante pour écarter raisonnablement la possibilité d'une mutation en l'absence de critère de sélection clinique.

Le test MLPA constitue donc un excellent moyen de dépistage chez ces patients préalablement sélectionnés puisqu'il répond aux qualités nécessaires à un test de dépistage dans la vie courante : simplicité, fiabilité, reproductibilité, acceptabilité (peu invasif) et relativement peu coûteux par rapport au nombre d'analyses réalisées.

Cependant, nous devons tout de même nuancer nos résultats. Une patiente de notre cohorte mutée présentait 2 mutations du gène *PRKN* alors qu'elle avait débuté sa MP à l'âge de 56 ans, qu'elle n'avait pas d'antécédent familial de MP et qu'elle était d'origine caucasienne. Cette patiente ne présentait donc pas les critères cliniques que nous avons établis et qui sont donc imparfaits.

Les critères que nous établissons avec cette étude devraient permettre de mieux cibler les patients qui doivent être testés et de réduire sensiblement les prescriptions inadaptées de ce test de génétique.

Par ailleurs, en raison de la variabilité phénotypique retrouvant des patients avec des phénotypes mimant des SP plus (DCL et AMS chez les patients *SNCA* et *LRRK2*), il nous paraît opportun d'étendre par ailleurs les indications des tests génétiques aux rares formes familiales de syndromes parkinsoniens plus.

CONCLUSION

Nous avons démontré que la stratégie de première ligne du CHU de Lille était rentable. Nos corrélations phénotype-génotype sont celles retrouvées dans la littérature mais avec certaines particularités. Nous avons pu définir des phénotypes particuliers dans notre étude : la dysautonomie précoce chez les patients *LRRK2+*, la présence d'un phénotype clinique plus sévère avec une prépondérance de troubles cognitifs chez les patients présentant une duplication du gène *SNCA* et la présence d'un syndrome pyramidal comme signe de début chez certains patients *PRKN+*.

Nous proposons les critères diagnostiques suivants pour la réalisation d'un test MLPA chez les patients parkinsoniens :

- en cas d'âge de début la MP inférieur ou égal à 45 ans
- OU en cas d'antécédents familiaux (dont au moins un de 1er degré)
- OU en cas d'origine maghrébine

Nous proposons d'élargir la recherche d'une mutation via le kit MLPA chez les patients présentant un SP atypique (ou une MP avec présence de drapeaux rouges) avec des antécédents familiaux au vue des phénotypes atypiques présentés par certains patients mutés.

Cependant, dans certaines situations complexes (notamment en cas de multiples antécédents familiaux, d'âge de début précoce de la MP, de phénotype clinique particulier) auxquelles le clinicien doit être attentif en cas d'absence de mutation retrouvée en MLPA, il faudra discuter d'une analyse plus poussée et complémentaire par NGS. En effet, une réunion de concertation pluridisciplinaire « Parkinson et syndrome parkinsonien génétique » a été créée à Lille dans le but de discussions

médico-biologiques de dossiers avant la réalisation d'analyses génétiques plus poussées et coûteuses.

REFERENCES

1. Obeso JA, Stamelou M, Goetz CG, Poewe W, Lang AE, Weintraub D, et al. Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* sept 2017;32(9):1264-310.
2. de Lau LML, Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* juin 2006;5(6):525-35.
3. Lunati A, Lesage S, Brice A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris).* nov 2018;174(9):628-43.
4. Cook Shukla L, Schulze J, Farlow J, Pankratz ND, Wojcieszek J, Foroud T. Parkinson Disease Overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 7 juill 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1223/>
5. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* oct 2015;30(12):1591-601.
6. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain J Neurol.* oct 1991;114 (Pt 5):2283-301.
7. Braak H, Bohl JR, Müller CM, Rüb U, de Vos RAI, Del Tredici K. Stanley Fahn Lecture 2005: The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* déc 2006;21(12):2042-51.
8. Defebvre L. La maladie de Parkinson et les syndromes parkinsoniens apparentés. *Médecine Nucl.* 1 juin 2007;31(6):304-13.
9. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* mars 1992;55(3):181-4.
10. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* janv 2006;5(1):75-86.
11. Fogel BL, Clark MC, Geschwind DH. The neurogenetics of atypical parkinsonian disorders. *Semin Neurol.* avr 2014;34(2):217-24.

12. Lubarsky M, Juncos JL. Progressive supranuclear palsy: a current review. *The Neurologist*. mars 2008;14(2):79-88.
13. McFarland NR, Hess CW. Recognizing Atypical Parkinsonisms: « Red Flags » and Therapeutic Approaches. *Semin Neurol*. 2017;37(2):215-27.
14. Scholz SW, Houlden H, Schulte C, Sharma M, Li A, Berg D, et al. SNCA variants are associated with increased risk for multiple system atrophy. *Ann Neurol*. mai 2009;65(5):610-4.
15. Lee K, Nguyen K-D, Sun C, Liu M, Zafar F, Saetern J, et al. LRRK2 p.Ile1371Val Mutation in a Case with Neuropathologically Confirmed Multi-System Atrophy. *J Park Dis*. 2018;8(1):93-100.
16. Ikeuchi T, Kakita A, Shiga A, Kasuga K, Kaneko H, Tan C-F, et al. Patients homozygous and heterozygous for SNCA duplication in a family with parkinsonism and dementia. *Arch Neurol*. avr 2008;65(4):514-9.
17. Le Ber I, Camuzat A, Hannequin D, Pasquier F, Guedj E, Rovelet-Lecrux A, et al. Phenotype variability in progranulin mutation carriers: a clinical, neuropsychological, imaging and genetic study. *Brain J Neurol*. mars 2008;131(Pt 3):732-46.
18. Dickson DW, Braak H, Duda JE, Duyckaerts C, Gasser T, Halliday GM, et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol*. déc 2009;8(12):1150-7.
19. Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol*. nov 2016;15(12):1257-72.
20. Payne K, Walls B, Wojcieszek J. Approach to Assessment of Parkinson Disease with Emphasis on Genetic Testing. *Med Clin North Am*. nov 2019;103(6):1055-75.
21. Gowers W. A manual of diseases of the nervous system. In London; 1886.
22. Golbe LI, Di Iorio G, Bonavita V, Miller DC, Duvoisin RC. A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol*. mars 1990;27(3):276-82.
23. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, Sue CM, Tabrizi SJ, Bertram L, et al. Nomenclature of genetic movement disorders: Recommendations of the international Parkinson and movement disorder society task force. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. avr 2016;31(4):436-57.
24. Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Fidani L. The genetic background of Parkinson's disease: current progress and future prospects. *Acta Neurol Scand*.

2016;134(5):314-26.

25. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 22 oct 2009;361(17):1651-61.
26. Sidransky E, Lopez G. The link between the GBA gene and parkinsonism. *Lancet Neurol*. nov 2012;11(11):986-98.
27. Koros C, Simitsi A, Stefanis L. Genetics of Parkinson's Disease: Genotype-Phenotype Correlations. *Int Rev Neurobiol*. 2017;132:197-231.
28. Antony PMA, Diederich NJ, Krüger R, Balling R. The hallmarks of Parkinson's disease. *FEBS J*. déc 2013;280(23):5981-93.
29. Deng H, Wang P, Jankovic J. The genetics of Parkinson disease. *Ageing Res Rev*. mars 2018;42:72-85.
30. 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*. 18 nov 2004;44(4):601-7.
31. Alessi DR, Sammler E. LRRK2 kinase in Parkinson's disease. *Science*. 6 avr 2018;360(6384):36-7.
32. Lesage S, Ibanez P, Lohmann E, Pollak P, Tison F, Tazir M, et al. G2019S LRRK2 mutation in French and North African families with Parkinson's disease. *Ann Neurol*. nov 2005;58(5):784-7.
33. Ozelius LJ, Senthil G, Saunders-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*. 26 janv 2006;354(4):424-5.
34. Kestenbaum M, Alcalay RN. Clinical Features of LRRK2 Carriers with Parkinson's Disease. *Adv Neurobiol*. 2017;14:31-48.
35. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*. 27 juin 1997;276(5321):2045-7.
36. Rosborough K, Patel N, Kalia LV. α -Synuclein and Parkinsonism: Updates and Future Perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17(4):31.
37. Kasten M, Marras C, Klein C. Nonmotor Signs in Genetic Forms of Parkinson's Disease. *Int Rev Neurobiol*. 2017;133:129-78.
38. Ibáñez P, Lesage S, Janin S, Lohmann E, Durif F, Destée A, et al. Alpha-

synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: frequency, phenotype, and mechanisms. *Arch Neurol.* janv 2009;66(1):102-8.

39. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature.* 9 avr 1998;392(6676):605-8.

40. Shimura H, Hattori N, Kubo S i, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, et al. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet.* juill 2000;25(3):302-5.

41. Lücking CB, Dürr A, Bonifati V, Vaughan J, De Michele G, Gasser T, et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med.* 25 mai 2000;342(21):1560-7.

42. Brüggemann N, Klein C. Parkin Type of Early-Onset Parkinson Disease. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; Created: April 17, 2001; Uptated: April 23, 2020.

43. Kasten M, Hartmann C, Hampf J, Schaake S, Westenberger A, Vollstedt E-J, et al. Genotype-Phenotype Relations for the Parkinson's Disease Genes Parkin, PINK1, DJ1: MDSGene Systematic Review. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 2018;33(5):730-41.

44. Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MMK, Harvey K, Gispert S, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science.* 21 mai 2004;304(5674):1158-60.

45. Seirafi M, Kozlov G, Gehring K. Parkin structure and function. *FEBS J.* 2015;282(11):2076-88.

46. van Duijn CM, Dekker MCJ, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwing-Duistermaat JJ, Snijders PJLM, et al. PARK7, a Novel Locus for Autosomal Recessive Early-Onset Parkinsonism, on Chromosome 1p36. *Am J Hum Genet.* 1 sept 2001;69(3):629-34.

47. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science.* 10 janv 2003;299(5604):256-9.

48. Foley AR, Donkervoort S, Bönnemann CG. Next-generation sequencing still needs our generation's clinicians. *Neurol Genet* [Internet]. 13 août 2015 [cité 20 août 2020];1(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4807906/>

49. Harbo HF, Finsterer J, Baets J, Van Broeckhoven C, Di Donato S, Fontaine B, et al. EFNS guidelines on the molecular diagnosis of neurogenetic disorders: general issues, Huntington's disease, Parkinson's disease and dystonias. *Eur J Neurol.* juill 2009;16(7):777-85.
50. Di Fonzo A, Monfrini E, Erro R. Genetics of Movement Disorders and the Practicing Clinician; Who and What to Test for? *Curr Neurol Neurosci Rep.* 23 2018;18(7):37.
51. Trinh J, Zeldenrust FMJ, Huang J, Kasten M, Schaake S, Petkovic S, et al. Genotype-phenotype relations for the Parkinson's disease genes SNCA, LRRK2, VPS35: MDSGene systematic review. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 2018;33(12):1857-70.
52. Tan MMX, Malek N, Lawton MA, Hubbard L, Pittman AM, Joseph T, et al. Genetic analysis of Mendelian mutations in a large UK population-based Parkinson's disease study. *Brain J Neurol.* 1 sept 2019;142(9):2828-44.
53. Illés A, Csabán D, Grosz Z, Balicza P, Gézsi A, Molnár V, et al. The Role of Genetic Testing in the Clinical Practice and Research of Early-Onset Parkinsonian Disorders in a Hungarian Cohort: Increasing Challenge in Genetic Counselling, Improving Chances in Stratification for Clinical Trials. *Front Genet.* 2019;10:1061.
54. Lesage S, Houot M, Mangone G, Tesson C, Bertrand H, Forlani S, et al. Genetic and Phenotypic Basis of Autosomal Dominant Parkinson's Disease in a Large Multi-Center Cohort. *Front Neurol.* 2020;11:682.
55. Bentley SR, Bortnick S, Guella I, Fowdar JY, Silburn PA, Wood SA, et al. Pipeline to gene discovery - Analysing familial Parkinsonism in the Queensland Parkinson's Project. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018;49:34-41.
56. Puschmann A, Jiménez-Ferrer I, Lundblad-Andersson E, Mårtensson E, Hansson O, Odin P, et al. Low prevalence of known pathogenic mutations in dominant PD genes: A Swedish multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019;66:158-65.
57. Saunders-Pullman R, Raymond D, Elango S. LRRK2 Parkinson Disease. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; Created: November 2, 2006; Uptaded: October 24, 2019.
58. Konno T, Ross OA, Puschmann A, Dickson DW, Wszolek ZK. Autosomal dominant Parkinson's disease caused by SNCA duplications. *Parkinsonism Relat*

Disord. janv 2016;22 Suppl 1:S1-6.

59. Shulskaya MV, Shadrina MI, Fedotova EY, Abramychева NY, Limborska SA, Illarioshkin SN, et al. Second mutation in PARK2 is absent in patients with sporadic Parkinson's disease and heterozygous exonic deletions/duplications in parkin gene. *Int J Neurosci.* sept 2017;127(9):781-4.

60. Klein C, Lohmann-Hedrich K, Rogaeva E, Schlossmacher MG, Lang AE. Deciphering the role of heterozygous mutations in genes associated with parkinsonism. *Lancet Neurol.* juill 2007;6(7):652-62.

61. Taymans J-M, Greggio E. LRRK2 Kinase Inhibition as a Therapeutic Strategy for Parkinson's Disease, Where Do We Stand? *Curr Neuropharmacol.* 2016;14(3):214-25.

62. Covy J, Giasson B. Identification of Compounds that Inhibit the Kinase Activity of Leucine-rich Repeat Kinase 2. *Biochem Biophys Res Commun.* 16 janv 2009;378:473-7.

63. Atashrazm F, Dzamko N. LRRK2 inhibitors and their potential in the treatment of Parkinson's disease: current perspectives. *Clin Pharmacol Adv Appl.* 2016;8:177-89.

64. J João P. L. Daher, Hisham A. Abdelmotilib, Xianzhen Hu, Laura A. Volpicelli-Daley, Mark S. Moehle, Kyle B. Fraser, et al. Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Pharmacological Inhibition Abates α -Synuclein Gene-induced Neurodegeneration. *J Biol Chem.* 15 juin 2015;290(32):19433-44.

65. Klein C, Hedrich K, Wellenbrock C, Kann M, Harris J, Marder K, et al. Frequency of parkin mutations in late-onset Parkinson's disease. *Ann Neurol.* sept 2003;54(3):415-6; author reply 416-417.

66. Klein C, Hattori N, Marras C. MDSGene: Closing Data Gaps in Genotype-Phenotype Correlations of Monogenic Parkinson's Disease. *J Park Dis.* 8(Suppl 1):S25-30.

67. Scarciolla O, Brancati F, Valente EM, Ferraris A, Angelis M, Valbonesi S, et al. Multiplex ligation-dependent probe amplification assay for simultaneous detection of Parkinson's disease gene rearrangements. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* 15 nov 2007;22:2274-8.

68. Kessler C, Atasu B, Hanagasi H, Simón-Sánchez J, Hauser A-K, Pak M, et al. Role of LRRK2 and SNCA in autosomal dominant Parkinson's disease in Turkey.

Parkinsonism Relat Disord. 2018;48:34-9.

69. Nuytemans K, Meeus B, Crosiers D, Brouwers N, Goossens D, Engelborghs S, et al. Relative contribution of simple mutations vs. copy number variations in five Parkinson disease genes in the Belgian population. *Hum Mutat.* 2009;30(7):1054-61.

70. Gorcenco S, Ilinca A, Almasoudi W, Kafantari E, Lindgren AG, Puschmann A. New generation genetic testing entering the clinic. *Parkinsonism Relat Disord.* 1 avr 2020;73:72-84.

ANNEXE

Critères diagnostiques cliniques de MP selon Postuma et al, MDS, 2015 (5)

Le critère essentiel obligatoire : Présence d'un syndrome parkinsonien qui est défini par une bradykinésie associée soit à un tremblement de repos ou soit à une rigidité.

Diagnostic cliniquement établi de MP :

1. présence obligatoire d'un syndrome parkinsonien
2. absence de tous les critères d'exclusion absolue
3. présence d'au moins 2 critères de support
4. absence de drapeaux rouges.

Diagnostic clinique de MP probable :

1. présence obligatoire d'un syndrome parkinsonien
2. absence de tous les critères d'exclusion absolue
3. présence de drapeaux rouges contrebalancés par des critères de soutien :
 - Si 1 drapeau rouge est présent, il doit y avoir également au moins 1 critère de soutien
 - Si 2 drapeaux rouges sont présents, il doit y avoir également au moins 2 critères de soutien
 - Pas plus de 2 drapeaux rouges ne sont tolérés.

Critères de soutien :

1. Réponse claire et bénéfique spectaculaire au traitement dopaminergique. Durant l'initiation du traitement, le patient retourne à un niveau normal ou proche de la normale du fonctionnement. En l'absence de documentation claire de la réponse initiale, la réponse peut être classée comme :
 - a) Amélioration marquée avec de fortes doses ou une aggravation marquée avec la diminution de dose. Ceci doit être documenté objectivement (>30% UPDRS III avec le changement de traitement), ou subjectivement (histoire documentée clairement des changements marqués par un patient ou un soignant fiable).
 - b) Présence de fluctuations ON/OFF sans équivoque et marquées, qui doivent avoir à un moment donné une atténuation prévisible de fin de dose.
2. Présence de dyskinésies induites à L-dopa
3. Tremblement de repos d'un membre, documenté lors de l'examen clinique (antérieur ou actuel).
4. La présence d'une perte olfactive : anosmie ou d'une dénervation sympathique cardiaque à la scintigraphie au métabiodobenzylguanidine (MIBG).

Critères d'exclusion absolue : la présence de l'un de ces critères exclut le diagnostic de MP :

1. Présence d'anomalies cérébelleuses non équivoques, telles qu'une démarche cérébelleuse, une ataxie des membres ou des anomalies oculomotrices du cervelet
2. Paralysie du regard supranucléaire vertical vers le bas ou ralentissement sélectif des saccades verticales vers le bas
3. Diagnostic de dégénérescence lobaire fronto temporale ou de l'aphasie primaire progressive, selon les critères diagnostiques apparaissant au cours des 5 premières années de la maladie
4. Caractéristiques parkinsoniennes limitées aux membres inférieurs pendant plus de 3 ans
5. Traitement par un antagoniste des récepteurs dopaminergiques ou un agent diminuant la dopamine à une dose et à un délai compatible avec un SP d'origine médicamenteuse
6. Absence de réponse observable à forte dose de L-dopa (> 600 mg/jour) malgré une sévérité modérée de la maladie
7. Perte sensorielle corticale sans équivoque (graphesthésie, stéréognosie avec des modalités sensorielles primaires intactes), une apraxie idéomotrice claire des membres ou une aphasie progressive
8. Neuro imagerie fonctionnelle normale du système dopaminergique pré synaptique
9. Documentation d'une affection alternative connue donnant un SP plus probable que la MP, sur la base d'une évaluation diagnostique complète.

Drapeaux rouges :

1. Progression rapide des troubles de la marche nécessitant l'utilisation régulière d'un fauteuil roulant dans les 5 ans suivant le début de la maladie
2. Absence complète de progression des symptômes ou signes moteurs sur 5 ans ou plus, sauf si la stabilité est liée au traitement
3. Dysfonctionnement bulbaire précoce au cours des 5 premières années de la maladie : dysphonie sévère ou dysarthrie (discours inintelligible la plupart du temps) ou dysphagie sévère (nécessitant des aliments mixés, une sonde nasogastrique ou une alimentation par gastrostomie)
4. Dysfonctionnement respiratoire inspiratoire : stridor inspiratoire diurne ou nocturne ou soupirs inspiratoires fréquents.
5. Dysautonomie sévère au cours des 5 premières années. Cela peut inclure :
 - a) hypotension orthostatique dans les 3 minutes suivant le lever : perte d'au moins 30 mmHg de systolique ou 15 mmHg de diastolique, en l'absence de déshydratation, de médicaments ou d'autres maladies pouvant expliquer de manière plausible un dysfonctionnement autonome, ou
 - b) rétention urinaire sévère ou incontinence urinaire au cours des 5 premières années de la maladie (à l'exclusion de l'incontinence à l'effort de longue date ou de faible quantité chez la femme), qui n'est pas simplement fonctionnelle. Chez l'homme, la rétention urinaire ne doit

pas être attribuable à une maladie de la prostate et doit être associée à une dysfonction érectile.

6. Chutes récurrentes (>1/an) en raison d'un trouble de l'équilibre dans les 3 ans suivant le début de la MP.
7. Antécollis disproportionné (dystonique) ou contractures de la main ou des pieds dans les 10 premières années.
8. Absence de l'une des caractéristiques non motrices courantes de la maladie malgré une durée de la maladie de 5 ans. Ceux-ci incluent des troubles du sommeil (insomnie du maintien de l'éveil, somnolence diurne excessive, troubles du comportement en sommeil paradoxal), dysfonctionnement autonome (constipation, urgence urinaire diurne, symptômes d'hypotension orthostatique), hyposmie, troubles psychiatriques (dépression, anxiété, hallucinations).
9. Signes inexplicables du tractus pyramidal, définis comme une faiblesse pyramidale ou une hyperréflexie pathologique évidente (à l'exception d'une légère asymétrie des réflexes et d'une réponse plantaire en extension isolée)
10. Parkinsonisme symétrique bilatéral. Le patient ou le soignant signale une apparition bilatérale des symptômes sans prédominance secondaire, et aucune prédominance secondaire n'est observée à l'examen objectif.

AUTEUR : Nom : SWIDERSKI

Prénom : Manon

Date de soutenance : 12/10/2020

Titre de la thèse Etude d'une cohorte française de maladie de Parkinson : rentabilité d'un test génétique et corrélations génotype-phénotype

Thèse - Médecine - Lille - Année 2020

Cadre de classement : Thèse de médecine

DES : Neurologie

Mots-clés : maladie de Parkinson, génétique, corrélations génotype-phénotype, test diagnostique

Résumé :

Contexte : Depuis la découverte du premier gène causal de la maladie de Parkinson en 1997, de nombreux gènes ont été mis en évidence permettant le développement de nombreux tests génétiques ainsi qu'une augmentation de leur disponibilité. L'objectif principal de notre étude était d'établir la rentabilité d'un test génétique chez les patients parkinsoniens, les objectifs secondaires étaient d'établir des corrélations génotype-phénotype et de proposer de critères cliniques dans l'orientation des tests génétiques.

Méthode : Il s'agissait de l'étude d'une cohorte française multicentrique de patients parkinsoniens ayant bénéficié d'une analyse par MLPA. Le recueil des données se faisait *a posteriori* sur dossiers, avec un relevé des données démographiques générales, les données concernant les signes moteurs et non moteurs de la MP. Le kit MLPA permet de rechercher notamment les délétions et les duplications concernant les gènes *SNCA*, *PRKN*, *PINK1*, *DJ1* et *LRRK2*. Il permet également de détecter la mutation ponctuelle G2019S de *LRRK2*.

Résultats : Au total 557 patients ont bénéficié de cette analyse, 49 patients présentant un syndrome parkinsonien étaient porteurs d'une mutation. 46 étaient porteurs d'une mutation causale de MP dont 25 porteurs de la mutation G2019S de *LRRK2* (4,5%), 5 patients porteurs d'une duplication de *SNCA* (0,9%) et 16 patients d'une mutation de *PRKN* (2,9%). La rentabilité du kit MLPA était de 8,3% (46/557). 22,7% des patients mutés pour *LRRK2* présentaient une dysautonomie précoce, 20% des patients *PRKN* présentaient un syndrome pyramidal. Tous les patients *SNCA* présentaient des troubles cognitifs, 2 patientes sur les 5 mutées (40%) présentaient un phénotype d'atrophie multisystématisée et une patiente sur 5 (20%) présentait un tableau de démence à corps de Lewy. Les patients mutés débutaient leur maladie de Parkinson de façon significativement plus précoce et avaient une surreprésentation féminine par rapport aux patients non mutés.

Conclusion : Le kit MLPA présente de nombreux avantages : peu cher, rapide, sensible. Nous recommandons sa réalisation en cas d'âge de début de la maladie de Parkinson inférieur à 45 ans, en cas d'antécédents familiaux de 1er degré de maladie de Parkinson, en cas d'origine maghrébine et chez les patients présentant un syndrome parkinsonien atypique avec antécédents familiaux de syndrome parkinsonien.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Luc DEFEBVRE

Assesseurs : Monsieur le Professeur David DEVOS, Monsieur le Docteur Thibaud LEBOUVIER, Monsieur le Docteur Vincent HUIN

Directrice de thèse : Madame le Docteur Eugénie MUTEZ