



UNIVERSITÉ DE STRASBOURG



centre de référence
maladies rares



Un mauvais PLAN

Mathieu Anheim

Service de Neurologie

Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques Rares

Centre Expert Interrégional pour la maladie de Parkinson

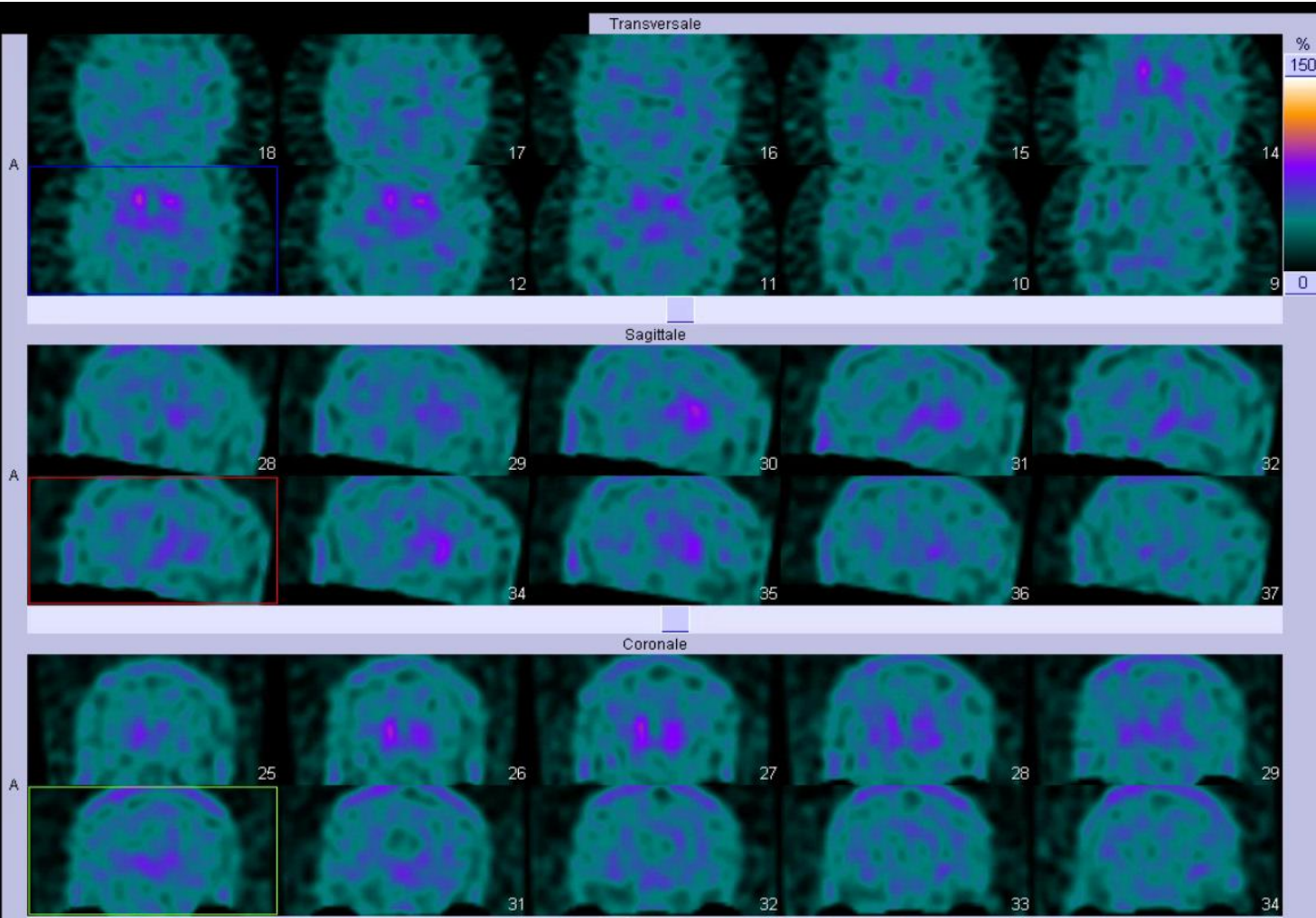
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

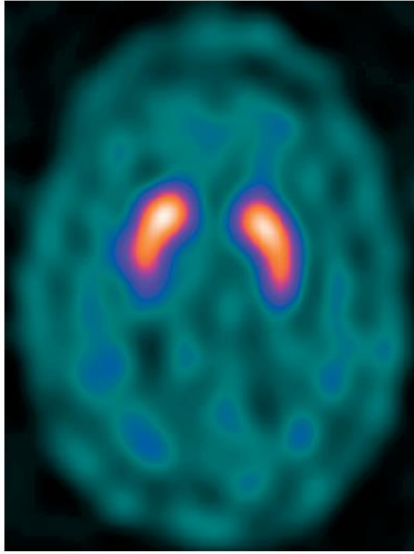
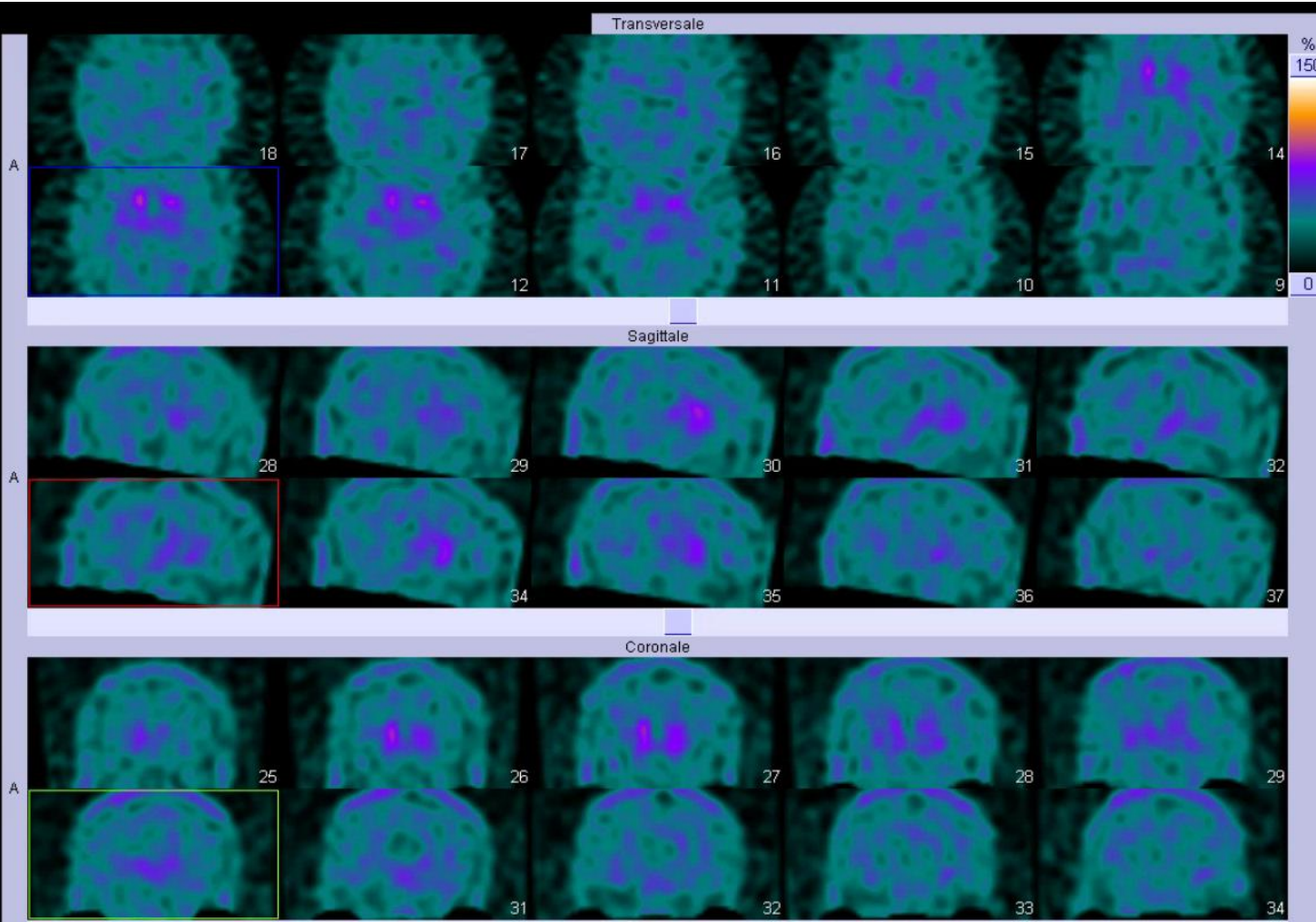
- étudiant en médecine de **22 ans**
- suivi pédopsychiatrique pour **anxiété** dans l'enfance
- 3^{ème} année de médecine:
 - « burn out »
 - hospitalisation en psychiatrie
 - traité par **cyamémazine**, seresta, sertraline
 - après la première prise: trouble de la marche

Syndrome parkinsonien juvénile

Syndrome parkinsonien juvénile

- DaTscan



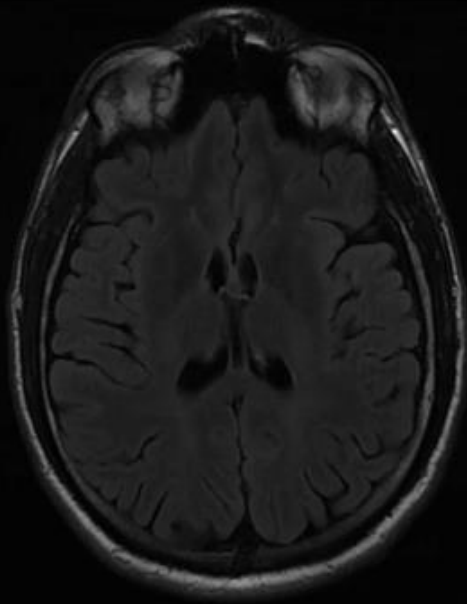


sujet sain

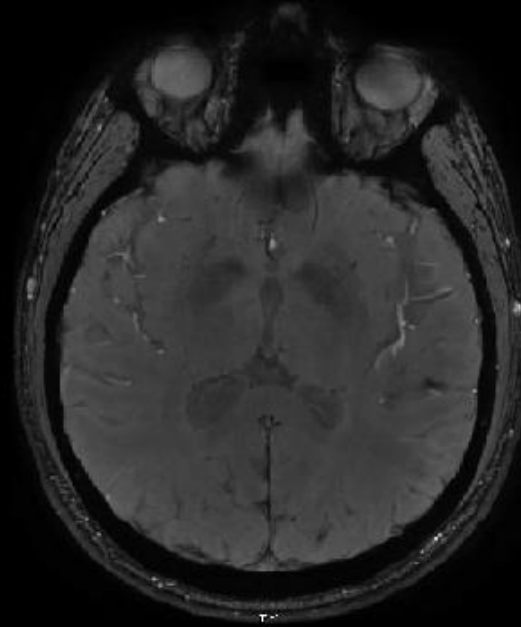
patient

Syndrome parkinsonien juvénile

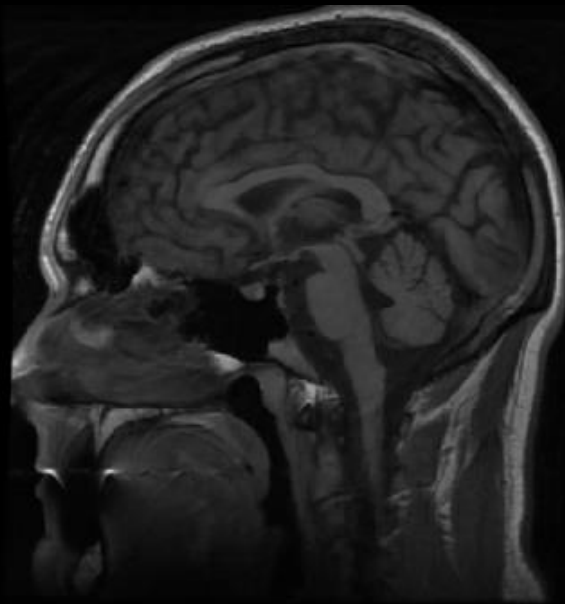
- DaTscan
- IRM cérébrale
 - Wilson ?
 - NBIA ?
 - Calcifications ?



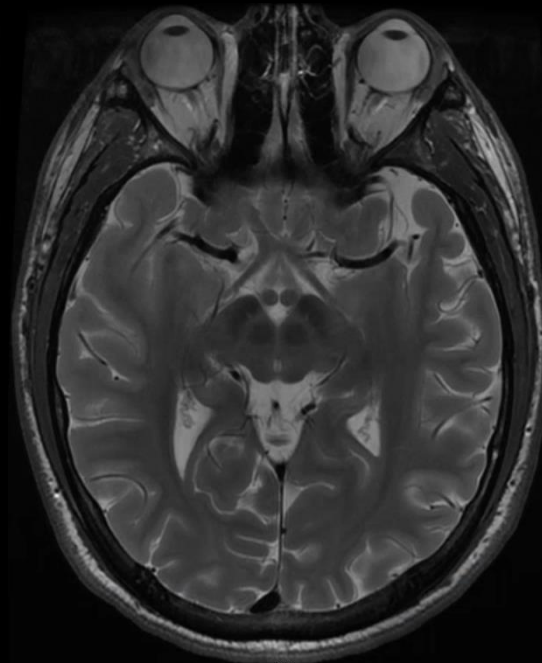
[T1]



[T2]



[A1]



[P1]

Syndrome parkinsonien juvénile

- DaTscan
- IRM cérébrale: normale
- bilan **cuprique**: normal
- test à la dopa:
 - **excellente dopa sensibilité** dès première prise (26→8)
- bilan neuropsychologique : normal mais forte anxiété
 - nombreux appels téléphoniques

Causes génétiques de syndrome parkinsonien juvénile

Gene	Mutations	Inheritance (penetrance)	Gene product
Autosomal recessive PD			
<i>PRKN</i> (PARK2)	>100 different mutations	AR	Parkin, E3 protein ligase
<i>PINK1</i> (PARK6)	>40 different mutations	AR	PTEN-induced kinase 1
<i>DJ-1</i> (PARK7)	>10 different mutations	AR	Daisuke-Junko-1
<i>ATP13A2</i> (PARK9)	Duplications G877R, L1059, F182L, G504R	AR	Lysosomal P-type ATPase
<i>PLA2G6</i> (PARK14)	R741Q, R747W, Q452X, R635Q, R632W, D331Y	AR	Calcium-independent. phospholipase A2
<i>FBXO7</i> (PARK 15)	R378G, R498X, T22M	AR	F-box only protein 7
<i>DNAJC6</i>		AR	Neuronal-specific clathrin-uncoating co-chaperone auxilin

Syndrome parkinsonien juvénile

- DaTscan
- IRM cérébrale
- bilan **cuprique**: normal
- test à la dopa:
 - **excellente dopa sensibilité** dès première prise (26→8)
- bilan neuropsychologique : normal mais forte anxiété
 - nombreux appels téléphoniques
- inclusion dans la puce PMD
(panel de gènes Parkinson and Movement Disorders)

Méthode : préparation des bibliothèques, capture et amplification

1. Fragmentation de l'ADN (180-220 pb)



Contrôle qualitatif et quantitatif

2. Réparation des extrémités



Purification

3. Adénylation



Purification

4. Ligation à des adaptateurs indexés



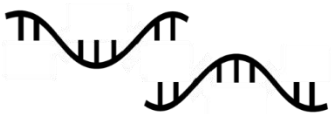
Sélection de taille (250-450 pb)

5. PCR pré-capture

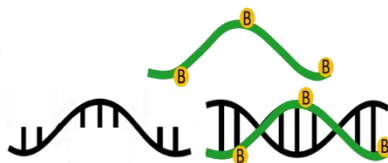


Purification, contrôle qualitatif et quantitatif

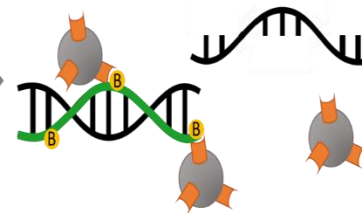
6. Dénaturation



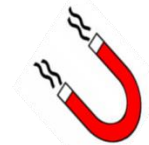
7. Hybridation des sondes ADN biotinylées aux régions-cibles



8. Capture ciblée



Elution



9. PCR post-capture

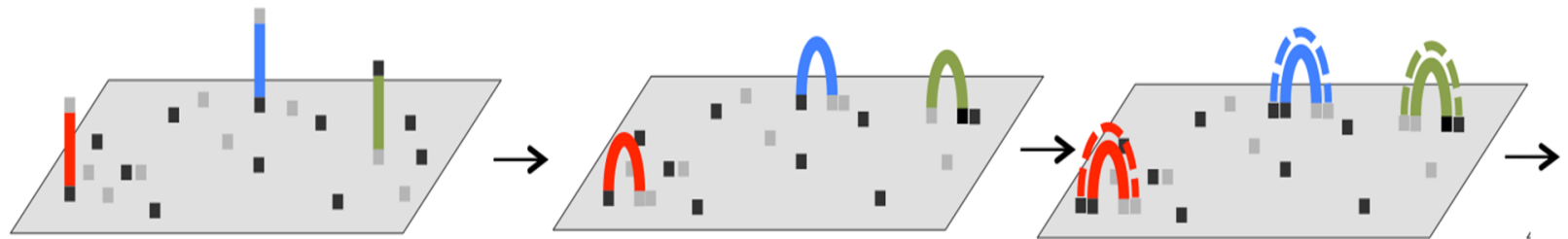


Purification, contrôle qualitatif et quantitatif

10. Séquençage



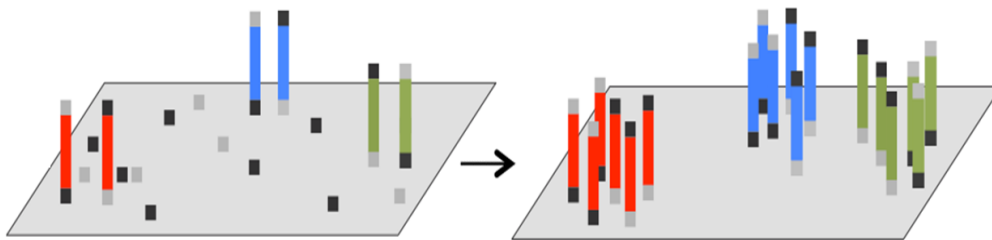
Méthode : Génération de clusters et séquençage



**Fixation sur la
*flowcell***

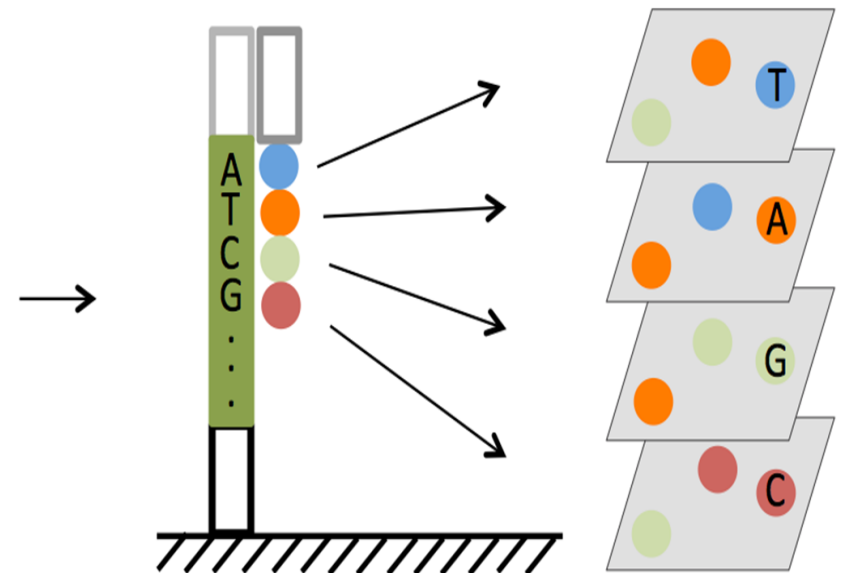
Liaison aux amorces

Amplification



Dissociation

**Formation de
*clusters***



Séquençage

Analyse du signal

(Lu & al.
2016)

Analyse des données

- base de données (Exome Variant Server, ExAc, dbSNP)
- outils de prédiction de pathogénicité (SIFT, PolyPhen)
 - conservation d'un acide aminé au cours de l'évolution
 - dommage fonctionnel causé par une variation
- évaluation de la qualité (profondeur, couverture)
- analyse de la littérature (PubMed, OMIM)
- réunion de concertation clinico-génétique

BIOINFORMATICS PARIS DESCARTES

Welcome to Polyweb

Project Genes Patients Coverage Variations Editor ToDo

refresh | Impact: High medium all unique | Frequency: rare occasional all | Ratio: > 40% > 20% all | Launch IGV | Load BAM in Alamut

Edition PMD60 | Last Update : 04/02/16 (1 days ago)

ATP13A2

status	igv	alamut	align	gene	var_name	sanger	ngs	ratio	caller	genomique	transcript	exon	nomenclature	consequence	codons	codons_AA	freq	deja_vu	similar_projects	in_this_run	polyphen	sift	Validation
S I F				ATP13A2	rs121918227	-	ho(4/996)	99%	uni	1:17322503	ENST00000326735	15	c.1510G>C	coding	GGG/CGG	G504R	0	0:0	0:0	1/24	0.714	0.01	

Evolution

- **dyskinésies après 15 jours de traitement**
 - 50 mg levodopa 3 x/j
- fluctuations progressivement invalidantes
 - motrices
 - non motrices: sensation de mort imminente
- introduction d'agoniste dopaminergique

Evolution

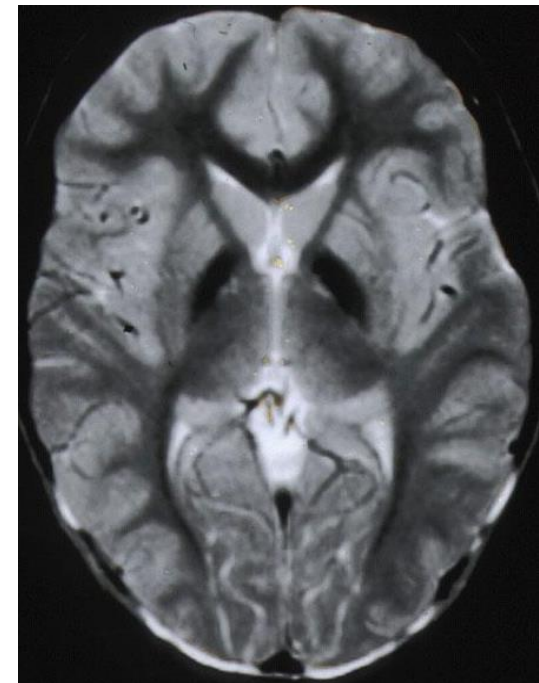
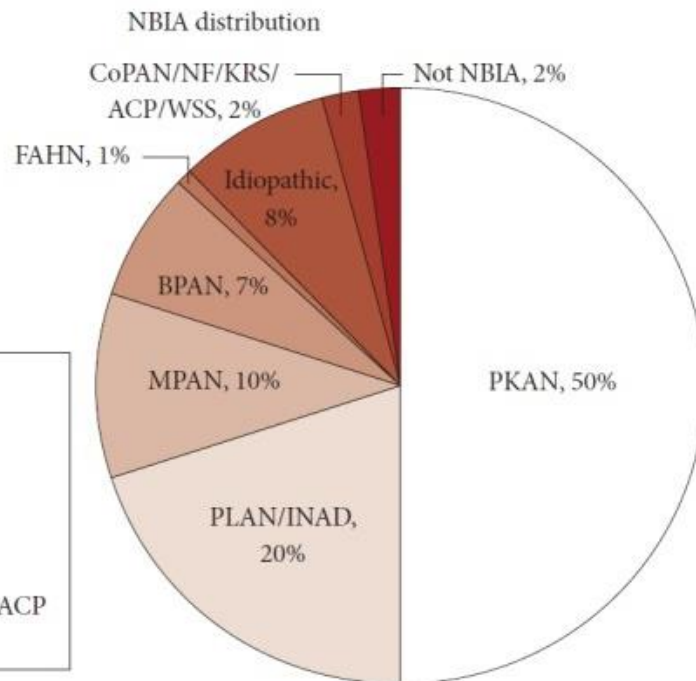
- trouble du contrôle des impulsions, désinhibition et exaltation
- psychose parkinsonienne, hallucinations, délire sévères
 - transfert en **psychiatrie**
 - arrêt des agonistes dopaminergiques
 - instauration de **clozapine**
- essai pompe apomorphine
 - pour **stimulation dopaminergique continue**
 - sous forte dose de clozapine
 - effets moteurs et non moteurs corrects
 - mais hyperéosinophilie persistante à plus de 2000: arrêt

Inclusion dans la puce PMD (panel de gènes Parkinson and Movement Disorders)

- hétérozygote composite dans **PLA2G6**
 - une mutation non sens + une mutation faux sens
- phospholipase associated neurodegeneration: **PLAN**/Park14
- neurodegeneration with brain iron accumulation : **NBIA-2B**
- une mutation frameshift hétérozygote dans gène *parkine*
- une mutation hétérozygote dans gène *FBX07*

Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)

- groupe de maladies neurodégénératives héréditaires combinant
 - syndrome extrapyramidal et/ou dystonie
 - troubles cognitifs de degré variable
 - accumulation de fer au niveau des ganglions de la base



Phospholipase A2 associated neurodegeneration (PLAN ou syndrome de Karak)

- deuxième NBIA par ordre de fréquence 20%
- PLA2G6: lipase impliquée dans régulation des lipides membranaires
- 3 formes cliniques
 - INAD (infantile neuroaxonal dystrophy)
 - ANAD
 - **dystonie-parkinsonisme**
 - maladie de Parkinson juvénile à forte composante psychiatrique

Conclusion

- patient jeune, étudiant en médecine
- PLAN (*PLA2G6*): forme atypique d'une maladie très rare
 - dimension psychiatrique de la maladie de Parkinson
 - NBIA est une cause de Parkinson juvénile
- intérêt nouvelles stratégies séquençage à haut débit
- prise en charge médico-chirurgicale Parkinson