

► Les synucléinopathies regroupent trois maladies différentes, la maladie de Parkinson, la démence à corps de Lewy, et l'atrophie multisystématisée, qui impliquent toutes l'agrégation pathologique d'une protéine appelée alpha-synucléine (α -syn). Dans le but de poser un diagnostic précis de ces maladies pour mieux orienter leur prise en charge thérapeutique ou leur inclusion dans des essais thérapeutiques, des méthodes basées sur l'amplification *in vitro* de l' α -syn pathologique ont été développées. Dans cette synthèse, nous discutons du développement historique de ces techniques, de leurs avantages et de l'espoir qu'elles offrent aux patients en vue d'un dépistage précoce par voie sanguine. ◀

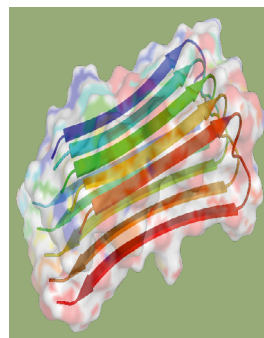
Le vieillissement progressif de la population se traduit, en France comme à l'échelle mondiale, par une hausse significative du nombre de personnes souffrant de maladies neurodégénératives [1]. Elles sont caractérisées par une perte progressive de certaines populations de neurones, et il n'existe pas de traitement curatif pour ces maladies liées à de multiples facteurs de risque tels que des facteurs génétiques ou environnementaux. Selon les données publiées par Santé publique France, en 2023, la maladie de Parkinson concernait environ 175 000 personnes en France, soit près de 3 % de la population âgée de plus de 65 ans et jusqu'à 5 % parmi les individus de plus de 85 ans [2]. Entre 5 et 10 % de ces cas peuvent être attribués à une forme monogénétique de la maladie. Depuis 2012, en France, la maladie de Parkinson peut être reconnue comme maladie professionnelle chez les agriculteurs, sous certaines conditions, en raison de leur exposition fréquente à certains produits phytosanitaires. La maladie de Parkinson est caractérisée par une accumulation d'alpha-synucléine (α -syn) mal repliée, sous forme de feuilletés bêta [m/s 3]. Cette protéine, sous sa forme physiologique, est notamment impliquée dans la com-

Série thématique

Agrégation protéique : aux sources des maladies neurodégénératives

Apports des techniques d'amplification pour le diagnostic des synucléinopathies

Emma Lamard^{1,2,3} , Daisy Bougard^{4,5} 



¹Établissement français du sang Occitanie, Montpellier, France.

²Pathogenèse et contrôle des infections chroniques et émergentes (PCCEI), Université de Montpellier, INSERM, Montpellier, France.

³ANSES, Université de Lyon, Lyon, France.

⁴Institut des neurosciences de Montpellier, Université de Montpellier, Inserm, EFS, Montpellier, France.

⁵Établissement français du sang, Saint Denis, France.

daisy.bougard@efs.sante.fr

munication neuronale. L'agrégation de l' α -syn est à l'origine de deux autres maladies neurodégénératives, regroupées sous le nom de synucléinopathies : la démence à corps de Lewy et l'atrophie multisystématisée. Dans la démence à corps de Lewy et la maladie de Parkinson, l' α -syn s'accumule sous forme de corps de Lewy et de neurites de Lewy au niveau des neurones, contrairement à l'atrophie multisystématisée, qui se caractérise par des inclusions cytoplasmiques d' α -syn dans des oligodendrocytes [4]. Le cerveau n'est pas le seul organe atteint dans le cadre des synucléinopathies : les intestins sont touchés, parfois des années avant l'apparition des symptômes moteurs. Chez les patients atteints de la maladie de Parkinson, cette accumulation se traduit par des symptômes moteurs tels qu'une akinésie¹, une hypertonie musculaire et des tremblements mais également des symptômes secondaires non moteurs, comme des fourmillements, des crampes, de l'anxiété et de la constipation. Dans le cas de la démence à corps de Lewy, les patients développent une démence, souvent associée à

¹ L'akinésie, est une affection causée par des lésions cérébrales, se caractérisant par des mouvements rares, lents et maladroits (ndlr).

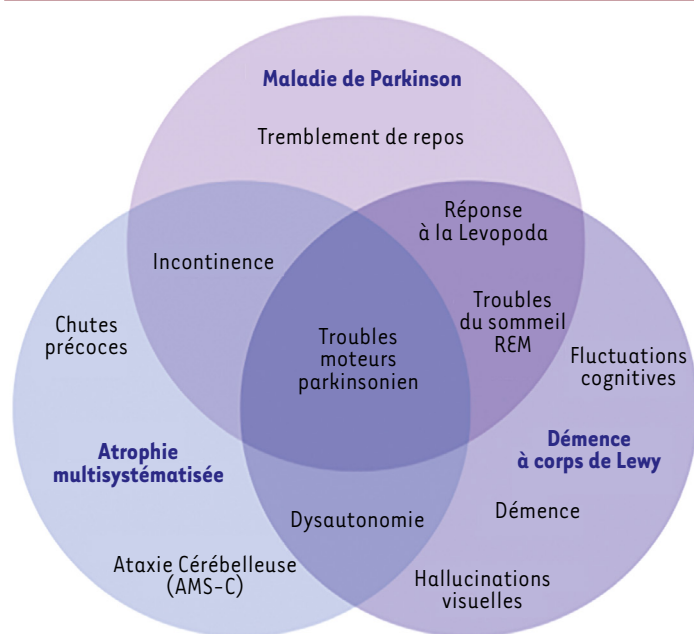


Figure 1. Représentation simplifiée des symptômes caractéristiques des synucléinopathies.

des hallucinations, en parallèle ou peu de temps après l'apparition des caractéristiques motrices spontanées associées au syndrome parkinsonien [5]. L'atrophie multisystématisée est plus rare et se déclare chez des personnes plus jeunes (entre 50 et 60 ans). Elle est divisée en deux variantes, l'atrophie multisystématisée-P, associée à un syndrome parkinsonien prédominant et plus fréquente en Europe, et l'atrophie multisystématisée-C, présentant un syndrome cérébelleux prédominant [6]. De nombreux symptômes, comme le trouble du sommeil paradoxal (mouvement oculaire rapide) ou la dysautonomie, se recoupent entre les différentes synucléinopathies, rendant le diagnostic de celles-ci plus difficile (Figure 1).

Les enjeux du diagnostic des synucléinopathies

Aujourd'hui, le diagnostic de la maladie de Parkinson est un diagnostic clinique, mais il est estimé qu'entre 15 et 24 % des patients sont mal évalués [7]. Ces erreurs de diagnostic sont dues à une grande similitude entre les différentes maladies, notamment lorsque la maladie est peu avancée ou qu'elle est associée à une autre maladie. L'utilisation de techniques d'imagerie comme l'IRM (imagerie par résonance magnétique) peut aider à confirmer le diagnostic, mais seule l'autopsie permet un diagnostic définitif (sauf dans les cas génétiques) [8]. L'IRM est par exemple utilisée pour observer une perte significative du volume du putamen², du pont et du pédoncule cérébelleux moyen chez

² Le putamen est l'un des trois principaux noyaux des noyaux gris centraux du cerveau et forme en même temps deux structures secondaires par liaison avec deux noyaux différents. Au niveau fonctionnel, il se distingue par sa participation principalement au contrôle moteur du corps. Plus précisément, il semble être particulièrement impliqué dans l'exécution de mouvements volontaires spécifiques (ndlr).

les patients atteints d'atrophie multisystématisée, ce qui permet de confirmer le diagnostic clinique [9]. Le PET scan³ (tomoscintigraphie) est depuis quelques années utilisé pour visualiser les modifications métaboliques et fonctionnelles *in vivo* chez les patients atteints d'atrophie multisystématisée [10]. D'autres traceurs en développement ont montré une sensibilité pour les stades prodromiques⁴ de la maladie de Parkinson et pourraient considérablement améliorer le diagnostic précoce, voire celui des stades précliniques des synucléinopathies. Cependant, à l'heure actuelle, des erreurs de diagnostic entraînent des erreurs de prise en charge des patients, avec notamment des traitements médicamenteux pouvant avoir de lourdes conséquences. Malgré les similitudes existantes entre les différentes synucléinopathies, les patients ne répondent pas de la même manière à certains traitements, comme le lévodopa, un précurseur de la dopamine, qui peut entraîner une aggravation des hallucinations chez les patients atteints de démence à corps de Lewy [11]. Une identification rapide et fiable du type de synucléinopathie est donc primordiale pour une prise en charge adaptée des malades. Dans ce contexte, le développement d'outils de diagnostic, capables de détecter des biomarqueurs précocement, et de distinguer les différents types de synucléinopathies est une priorité absolue. L'un de ces biomarqueurs possibles est la présence d' α -syn agrégée dans les tissus et les fluides des patients.

Origine des techniques d'amplification *in vitro*

En 1982, Stanley Prusiner⁵ attribue le terme « prion » à une nouvelle classe d'agents infectieux composés uniquement de protéines [12]. Il émet pour la première fois l'hypothèse qu'une protéine seule est capable de s'auto-propager, et que sa forme pathologique est capable d'incorporer la protéine physiologique présente dans les cellules, en servant de modèle pour induire son mauvais repliement à l'identique de l'agrégat initial ; c'est l'hypothèse « prion ». Les maladies à prions sont

³ La tomographie par émission de positons (Tep scan ou PET scan) est un examen d'imagerie médicale qui permet de mesurer en trois dimensions une activité métabolique ou moléculaire d'un organe grâce à l'injection intraveineuse d'un « traceur » faiblement radioactif qui se fixe sur certaines cellules et en mesure l'activité. C'est un outil diagnostique qui permet de déceler certaines maladies qui se traduisent par une altération de la physiologie normale comme les cancers, mais aussi les démences par exemple (ndlr).

⁴ Les symptômes prodromiques représentent ces signaux d'alarme que notre corps nous envoie avant l'apparition d'une maladie (ndlr).

⁵ Stanley Prusiner est un médecin neurologue américain, prix Nobel de physiologie ou médecine en 1997 pour ses découvertes sur les prions. Il a identifié les protéines PrP comme l'agent infectieux responsable des encéphalopathies spongiformes transmissibles comme la tremblante du mouton et les maladies de Creutzfeldt-Jakob (ndlr).

des maladies neurodégénératives transmissibles affectant les humains (maladies de Creutzfeldt-Jakob), mais également différents animaux comme les moutons (tremblante) et les bovins (encéphalopathie spongiforme bovine) [m/s 13]. Chaque forme de maladie à prion a révélé une souche différente de cet agent infectieux non conventionnel qui se distingue par ses propriétés biologiques [14]. Ces souches se distinguent notamment par la durée de leur période d'incubation chez un hôte donné, par la nature des manifestations cliniques qu'elles induisent, par leur tropisme pour certaines zones cérébrales ainsi que par le profil biochimique de la protéine pathologique, en particulier après traitement par des protéases. Au cours des années 1990, l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine, communément appelée « maladie de la vache folle », a conduit à l'émergence d'une nouvelle forme acquise de la maladie de Creutzfeldt-Jakob dite « variante », transmise par la consommation de produits d'origine bovine contaminés.

La transmission du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob par voie transfusionnelle a révélé l'urgence de disposer d'un test sanguin de détection du prion, capable d'identifier la maladie durant sa période présymptomatique [15]. L'absence de réponse immunitaire contre la protéine prion pathologique rend inadéquates les méthodes classiques de détection dans le sang, telles que la sérologie. De plus, les anticorps anti-prion commerciaux sont incapables de différencier la protéine prion normale de la forme pathologique car elles sont composées de la même séquence en acides-aminés, seul leur repliement dans l'espace est différent. La détection de la protéine prion pathologique est également limitée par sa faible quantité dans les fluides biologiques [16], conduisant à un diagnostic de la maladie seulement à un stade avancé ou dans la majorité des cas, lors de l'autopsie.

En 2001, une nouvelle méthode très sensible de détection de la protéine prion pathologique a été décrite par l'équipe de Claudio Soto : il s'agit de la PMCA (*protein misfolding cyclic amplification*) [17]. C'est une méthode permettant d'amplifier *in vitro* une très faible quantité de protéine pathologique anormalement repliée. La PMCA fonctionne grâce à une alternance de plusieurs phases : une première phase d'élongation pendant laquelle le recrutement de la protéine normale (substrat) par des formes pathologiques présentes dans l'échantillon (*seed*) va entraîner la conversion des formes normales en pathologiques et l'allongement des chaînes oligomériques ou l'agrégation (phase d'incubation), puis une seconde phase, dite de fragmentation, pendant laquelle les chaînes oligomériques formées sont cassées en plus petites structures par la sonication, ce qui les rend plus accessibles pour la prochaine phase d'élongation. Ces deux phases sont répétées durant plusieurs cycles. Les échantillons sont ensuite analysés par des techniques conventionnelles d'immunodosage (western blot, ELISA) après traitement par la protéinase K afin de détecter la présence de la protéine pathologique amplifiée qui, contrairement à la forme physiologique, est résistante à cette protéase. Cette méthode a permis d'atteindre le niveau de sensibilité requis pour détecter les prions dans le sang d'animaux malades ou en période d'incubation [18]. Elle est également à la base du seul test sanguin permettant le diagnostic des patients atteints du variant de la mala-

die de Creutzfeldt-Jakob avant l'apparition des symptômes [19], et permet de discriminer parfaitement les formes variantes des formes sporadiques de la maladie de Creutzfeldt-Jakob qui ne sont pas amplifiées dans ces conditions [20, 21].

En 2011, une méthode d'amplification alternative a été décrite : la RT-QuIC (*real time quaking-induced conversion*) [22] (Figure 2). Dans cette méthode, la phase de fragmentation est réalisée par une forte agitation à la place de la sonication et le substrat de protéine physiologique est constitué de protéine recombinante purifiée. La détection se fait en temps réel (*real time*) par mesure de la fluorescence de la thioflavine T, une molécule qui se lie aux feuillets bêta formés lors de l'agrégation des protéines amyloïdes. La technique RT-QuIC a permis de réaliser le diagnostic de la forme sporadique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob du vivant des patients notamment sur des prélèvements de muqueuses olfactives [23], mais également dans le liquide céphalorachidien [24] pour lequel l'analyse RT-QuIC se fait depuis quelques années en routine dans les centres de référence des maladies de Creutzfeldt-Jakob [25].

Le paramètre central détecté et quantifié par ces techniques est l'activité de conversion et d'agrégation (*seeding*), c'est-à-dire la capacité d'un échantillon contenant des protéines pathologiques à induire et propager leur repliement anormal à des protéines physiologiques (substrat). Contrairement à la PMCA, la RT-QuIC permet d'obtenir un résultat direct de l'activité de conversion et d'agrégation sans analyse supplémentaire. Ces techniques d'amplifications sont aujourd'hui régulièrement regroupées sous le terme de SAA (*seeding amplification assay*) (Figure 2).

Ces avancées majeures ont montré le potentiel des techniques d'amplifications pour l'étude et le diagnostic des maladies à prions. Les similarités entre les maladies à prion et les autres protéinopathies ont conduit la communauté scientifique à envisager d'adapter les méthodes d'amplification du prion aux autres protéines agrégées.

Les techniques d'amplification de l' α -syn pathologique

Comme la protéine prion, l' α -syn pathologique a la capacité d'induire un mauvais repliement et un processus d'agrégation des protéines d' α -syn physiologiques voisines. Ces similitudes de comportement s'étendent également à la notion de « souches » [m/s 26], comme cela a été rapporté dès 2015 par Stanley Prusiner dans ses travaux d'inoculation d'extraits de cerveaux de

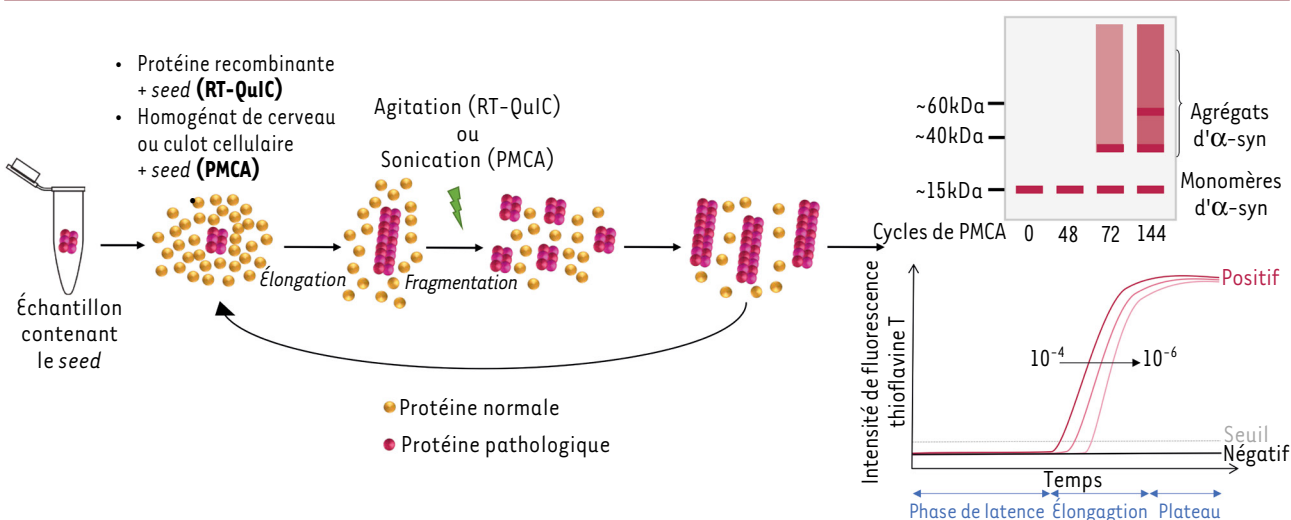


Figure 2. Représentation schématique des méthodes d'amplification du mauvais repliement des protéines. À partir d'un échantillon de patient, la RT-QulC et la PMCA permettent d'amplifier une faible quantité de la protéine pathologique d'intérêt conduisant à sa détection ultrasensible et spécifique par western blot ou mesure en temps réel de la fluorescence.

patients atteints d'atrophie multisystématisée ou de maladie de Parkinson à des souris [27]. Pour ces raisons, la transposition des techniques d'amplification *in vitro* des prions à l' α -syn pathologique est apparue comme une évidence.

En 2019, Nicot *et al.*, ont montré que la PMCA pouvait être utilisée pour reproduire *in vitro* l'agrégation de l' α -syn pathologique, et que les produits d'amplification obtenus étaient capables d'accélérer la maladie après inoculation chez des souris modèle de la maladie de Parkinson (modèle M83) [28]. En utilisant un substrat cérébral préparé à partir de souris de laboratoire exprimant uniquement l' α -syn murine, la détection d' α -syn pathologique par PMCA est corrélée avec les zones cérébrales atteintes des souris. En 2023, Bétemps *et al.*, ont poursuivi ces travaux en montrant notamment la résistance au traitement par la protéinase K des agrégats d' α -syn produits *in vitro* par PMCA [29]. En 2025, Bruyère-Ostells *et al.*, ont détecté la présence d' α -syn agrégée dans le sang de souris M83, présentant ou non des signes cliniques caractéristiques du modèle murin de la maladie de Parkinson, en utilisant une méthode PMCA couplée à une immunocapture [30]. La détection a été réalisée dans un premier temps sur des souris malades montrant une présence d' α -syn pathologique dans tous les échantillons de sang testés, ainsi que dans toutes les fractions sanguines : sang total, globules rouges, couche leuco-plaquettaire et plasma. Ensuite, la présence d' α -syn pathologique a été évaluée dans le sang total et le plasma de souris M83 non inoculées âgées, avec ou sans signes cliniques de la maladie. Le test sanguin basé sur la PMCA a permis une détection de l'activité de conversion et d'agrégation de l' α -syn dans le sang de toutes les souris symptomatiques et de 47 % des souris en phase subclinique.

Certains travaux ont également montré l'utilisation de la PMCA sur des échantillons cérébraux de patients atteints de synucléinopathies, en utilisant un substrat composé d' α -syn recombinante humaine [31].

Les chercheurs ont comparé les agrégats d' α -syn avant et après amplification notamment par microscopie électronique. Ils ont montré que les fibres obtenues *in vitro* par PMCA à partir de tissu cérébral de patients souffrant de la maladie de Parkinson ou d'atrophie multisystématisée sont plates et torsadées, tandis que celles obtenues à partir de patients souffrant de démence à corps de Lewy sont cylindriques et non torsadées. Ces résultats indiquent qu'une signature peut être donnée aux souches d' α -syn après amplification *in vitro*. En 2019, la PMCA utilisant de l' α -syn recombinante comme substrat a permis de détecter la forme pathologique dans des échantillons de biopsies gastro-intestinales de patients atteints de maladie de Parkinson (n=18) avec une sensibilité de 56 % et une spécificité de 91 % [32].

Concernant l'utilisation de la RT-QulC, les premiers tests d'amplification *in vitro* de l' α -syn agrégée ont été publiés en 2016 par l'équipe d'Alison Green [33]. Dans cette étude, la technique RT-QulC a été adaptée en utilisant de l' α -syn recombinante humaine commerciale comme substrat. Une sensibilité de 95 % a été atteinte pour les échantillons de liquide cébrospinal de patients atteints de la maladie de Parkinson (n=20) et de 92 % pour les patients atteints de démence à corps de Lewy (n=12), avec une spécificité de 100 % (n=20). Le groupe de Claudio Soto a également publié un protocole avec une production d' α -syn recombinante au laboratoire [34]. Cette étude réalisée en aveugle sur des échantillons de liquide cébrospinal d'un plus grand nombre de patients montre une sensi-

bilité de 88,5 % dans le cas de la maladie de Parkinson (n=76) et de 100 % dans le cas de la démence à corps de Lewy (n=10), avec une spécificité de 96,9 % (n=65). Des patients souffrant d'atrophie multisystématisée ont également été inclus dans l'étude et la technique montre une sensibilité de 80 % (n=10). En 2018, l'équipe de Byron Caughey a introduit l'usage d'une protéine recombinante légèrement modifiée : l' α -syn K23Q (mutation de la lysine 23 en glutamine), qui permet une détection plus rapide tout en conservant une sensibilité et une spécificité similaires à celles des protéines recombinantes utilisées précédemment. Cette protéine recombinante est également moins sujette à une agrégation spontanée en l'absence de protéine pathologique [35].

Parmi les résultats importants, il a été montré que la méthode RT-QulC était assez sensible pour détecter une activité de conversion et d'agrégation de l' α -syn dans le liquide cébrospinal prélevé en phase prodromique de démence à corps de Lewy [36], suggérant qu'une détection présymptomatique pourrait être possible dans les prochaines années. En 2020, le groupe de Soto a montré pour la première fois que les caractéristiques d'agrégation de l' α -syn responsable de la maladie de Parkinson sont significativement différentes de celles impliquées dans l'atrophie multisystématisée, suggérant à nouveau l'existence de souches distinctes d' α -syn pathologiques [37]. En effet, le plateau moyen de fluorescence obtenu en RT-QulC à partir du liquide cébrospinal de patients souffrant d'atrophie multisystématisée (n=75) est significativement plus bas que celui de patients atteints de la maladie de Parkinson (n=94). Ces mêmes propriétés d'agrégation différentielle des souches d' α -syn présentes dans le liquide cébrospinal sont également retrouvées à partir d'échantillons cérébraux. Cette signature différentielle des plateaux de fluorescence de la maladie de Parkinson et de l'atrophie multisystématisée pourrait être exploitée pour le développement de tests diagnostiques permettant de distinguer ces deux maladies.

Plus récemment, un test RT-QulC réalisé en aveugle sur le liquide cébrospinal de 170 patients, et spécifique de l' α -syn repliée en corps de Lewy, a montré une sensibilité de 97,8 % permettant d'exclure un diagnostic d'atrophie multisystématisée. Ce test, à la fois spécifique et quantitatif, montre un lien entre le taux de positivité de l'échantillon et le stade clinique de la maladie [38].

Dans ces protocoles, le liquide cébrospinal est majoritairement utilisé en raison des concentrations élevées en protéines d'origine neuronale qu'il contient (Tableau 1). Cependant, le prélèvement de liquide cébrospinal est une procédure douloureuse pour les patients, motivant la recherche d'autres tissus périphériques ou d'autres fluides permettant la détection d' α -syn pathologique. Parmi les autres types de prélèvements étudiés, deux études ont montré qu'il était possible d'utiliser des biopsies cutanées [39] ou du duodénum de patients atteints de la maladie de Parkinson [40]. Avec une spécificité de 100 % et une sensibilité de 95,7 % (22/23), le test utilisé par cette équipe a également permis de montrer qu'il y avait une propagation d' α -syn pathologique dans la partie haute des intestins. La muqueuse olfactive a également été utilisée dans une étude, présentant une sensibilité de 69 % et une spécificité de 100 % chez des patients atteints de la maladie de Parkinson [41].

L'ensemble de ces travaux met en évidence le potentiel des méthodes d'amplification pour le diagnostic différentiel des synucléinopathies, notamment par des approches non invasives et applicables en phase présymptomatique, ouvrant ainsi la voie à une amélioration de la prise en charge des patients.

L'espoir du dépistage sanguin

L'un des fluides les plus accessibles, par sa facilité de prélèvement, son volume et sa bonne conservation, est le sang (ou ses différentes fractions), ce qui en fait le type d'échantillon idéal pour le diagnostic et le suivi des patients. Deux équipes ont publié des résultats très prometteurs, laissant entrevoir la possibilité d'un diagnostic précoce des synucléinopathies à partir d'échantillons sanguins.

En 2022, Kluge *et al.*, [42] ont utilisé des vésicules extracellulaires neuronales extraites de sang de patients atteints de la maladie de Parkinson afin d'y détecter l' α -syn pathologique par QulC (version allégée du RT-QulC sans la mesure en temps réel). Les vésicules extracellulaires neuronales ont la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique, emportant avec elles des acides nucléiques et des protéines comme l' α -syn. Après ajustement d'un protocole de QulC incluant l'ajout manuel de thioflavine T entre chaque cycle, cette étude a comparé l'amplification d'échantillons de plasma et de vésicules extracellulaires neuronales. Après 20 h d'amplification des échantillons de vésicules extracellulaires neuronales, le signal à la thioflavine T des patients atteints de la maladie de Parkinson (n=30) a augmenté significativement par rapport aux individus témoins (n=50). Cette étude montre la faisabilité d'une amplification par la QulC de l' α -syn pathologique extraite des vésicules extracellulaires neuronales de patients atteints de la maladie de Parkinson. En 2024, la même équipe a poursuivi ce travail sur les vésicules extracellulaires neuronales en partant d'une cohorte issue de la population générale de 1 201 individus suivis sur une longue période, dont des échantillons de sang ont été prélevés chaque année pendant quatre à dix ans [43]. Sur cette cohorte d'individus, 12 ont développé une maladie de Parkinson. Les tests en QulC après extraction des vésicules extracellulaires neuronales ont montré une positivité des échantillons provenant de patients atteints de la maladie de Parkinson jusqu'à 10 ans avant le diagnostic clinique. En 2023, l'équipe de Nobutaka Hattori et Nobuyuki Nukina a publié une étude proposant une nouvelle méthode appliquée au sérum combinant l'immunoprécipitation avec l'amplification de l' α -syn pathologique par RT-QulC [44]. Plusieurs cohortes ont été utilisées :

Méthode	Pays	Référence	Protocole	Patients	Sensibilité	Spécificité	Commentaires
Parchi	Italie	Rossi, 2020 [1]	Alpha-synucléine recombinante K23Q – 40 h d'amplification	71 MP, 34 DCL, 31 AMS, 43 MA, 30 PSP/CBS, 18 iRBD, 28 PAF, 62 contrôles	94,4 % MP, 97,1 % DCL, 6,5 % AMS, 16,3 % AD, 0 % PSP/CBS, 100 % iRBD, 92,9 % PAF	98,4 %	Détecte peu l'AMS
Soto	Etats-Unis	Shahnawaz, 2020 [2]	Alpha-synucléine recombinante avec C-terminal His-tag – 350-400 h d'amplification	94 MP, 75 AMS, 56 contrôles	93,6 % MP, 86,7 % AMS	100 %	Identification d'une signature d'agrégation permettant la différenciation de MP et AMS
Verdurant	France	Verdurant, 2025 [3]	Alpha-synucléine recombinante commerciale – 120 h d'amplification	41 DCL, 6 MP, 42 MA, 37 contrôles	68,3 % DCL, 100 % MP, 14,3 % MA	100 %	Première étude française Utilisation de réactifs commerciaux uniquement
Caughey	Etats-Unis	Parveen, 2025 [4]	Alpha-synucléine recombinante K23Q – 20 h d'amplification	10 MP, 9 contrôles	100 % MP (LCR), 100 % MP (peau)	100 %	Résultats en moins de 24 h sur LCR et moins de 5 h pour d'autres tissus (peau, muqueuse intestinale)

Tableau 1. Sélection d'études récentes utilisant des protocoles de RT-QuIC optimisés pour le diagnostic des synucléinopathies. MP : maladie de Parkinson ; DCL : démence à corps de Lewy ; AMS : amyotrophie spinale ; MA : maladie d'Alzheimer ; PSP/CBS : paralysie supranucléaire progressive/syndrome cortico-basal ; iRBD : trouble compartemental du sommeil paradoxal isolé ; PAF : insuffisance autonome pure ; LCR : liquide céphalo-rachidien. L'iRBD, la PSP/CBS et le PAF sont considérés comme des marqueurs précoces de maladies liées à l'accumulation d' α -syn.

deux cohortes internes cumulant 511 patients dont 310 atteints de synucléinopathies, et une troisième cohorte, testée en aveugle, était composée de 20 patients atteints de la maladie de Parkinson, 15 patients atteints d'atrophie multisystématisée, 20 patients contrôles et 6 patients atteints de tauopathies. Pour la première cohorte, le test s'est révélé très sensible pour les échantillons de sérum provenant de patients atteints de la maladie de Parkinson et de démence à corps de Lewy (respectivement 95 % et 90 %) mais moins pour les échantillons provenant de patients atteints d'atrophie multisystématisée (64 %) et a montré une spécificité de 91,5 %. Avec la seconde cohorte, la spécificité était de 100 % avec une sensibilité respectivement de 100 % et de 67 % respectivement pour les échantillons provenant de patients atteints de la maladie de Parkinson et d'atrophie multisystématisée. Enfin, pour la dernière cohorte, réalisée en aveugle, la spécificité de la détection sur le sérum des patients était de 95 % avec pour les échantillons de patients souffrant de la maladie de Parkinson une sensibilité de 75 % contre 53 % pour les patients souffrant d'atrophie multisystématisée.

Grâce aux travaux de ces deux équipes de recherche, le dépistage de l' α -syn pathologique dans le sang est devenu possible, y compris au stade préclinique de la maladie de Parkinson. Ces résultats doivent être confirmés par d'autres équipes avant d'envisager une utilisation en routine dans les laboratoires hospitaliers. La possibilité de différencier les synucléinopathies est également décrite pour des échantillons de liquide cébrospinal ; son application aux échantillons sanguins pourrait être obtenue dans les prochaines années.

Conclusion et perspectives

En complément de l'évaluation clinique et des méthodes d'imagerie, les approches reposant sur l'amplification *in vitro* de l' α -syn pathologique s'imposent comme des outils essentiels pour l'amélioration du diagnostic chez

des patients atteints de synucléinopathie. En 2024, l'Agence américaine du médicament (FDA, *Food and drug administration*) a publié une « lettre de soutien » encourageant les industriels à s'approprier l'utilisation des *seeding amplification assays* dans la recherche et les tests cliniques estimant que ces techniques comportent des facteurs de succès clés tels que la détection de très faibles quantités de la protéine pathologique dans le liquide cébrospinal avec une grande sensibilité et spécificité, pouvant être utile lors de la sélection des patients pour des essais thérapeutiques, mais également pour une détection précoce de la maladie des années avant l'apparition des premiers symptômes. Aujourd'hui, les performances analytiques du RT-QulC sur les prélèvements de liquide cébrospinal sont excellentes, avec des sensibilités de dépistage de la maladie de Parkinson et de la démence à corps de Lewy supérieures à 95 %. Selon les paramètres utilisés, le test RT-QulC est également capable de différencier les différentes synucléinopathies. La standardisation de ces essais représente une étape préalable à leur utilisation en routine et des essais interlaboratoires sont actuellement en cours [45]. De plus, la possibilité d'adapter ces méthodes aux échantillons sanguins, combinée à un dépistage précoce, devrait permettre une amélioration de la prise en charge des patients.

Ces méthodes d'amplification *in vitro* peuvent également être adaptées à d'autres protéines comme les protéines tau et β -amyloïde, toutes deux impliquées dans la maladie d'Alzheimer. Chez 50 % des patients atteints de maladie d'Alzheimer et chez la majorité des patients atteints de démence à corps de Lewy, il existe une co-présence de plaques amyloïdes et d'agrégats d' α -syn dans le tissu cérébral. Plusieurs études montrent une possible interaction entre l' α -syn et la β -amyloïde, mais le rôle précis de cette co-agrégation dans le développement des maladies associées à ces deux protéines n'est pas encore compris [46]. L'utilisation de techniques d'amplification *in vitro* permettant le diagnostic différentiel au sein d'un même groupe de protéinopathies, mais également entre les différentes maladies neurodégénératives (synucléinopathies, tauopathies, maladies à prions) ou les troubles neurologiques infectieux, est cruciale pour adapter au mieux la stratégie thérapeutique. ♦

SUMMARY

Contributions of seeding amplification assays to the diagnosis of synucleinopathies

Synucleinopathies comprise three distinct disorders: Parkinson's disease, Lewy body dementia and multiple system atrophy, all of which involve the pathological aggregation of a protein called alpha-synuclein (α -syn). In order to establish an accurate diagnosis of these disorders, and thus improve patient care or inclusion in therapeutic trials, methods based on the *in vitro* amplification of pathological α -syn have been developed. In this review, we will discuss the history and development of these techniques, their strengths, and the promising prospects they offer for early patient screening using a simple blood sample. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les autrices déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

RÉFÉRENCES

1. Heemels MT. Neurodegenerative diseases. *Nature* 2016; 539 : 179.
2. Cerri S, Mus L, Blandini F. Parkinson's disease in women and men: what's the difference? *J Parkinsons Dis* 2019; 9 : 501-15.
3. Bezard E, Dehay B. Maladie de Parkinson. *Med Sci (Paris)* 2022; 38 : 45-51.
4. Brás IC, Domínguez-Mejide A, Gerhardt E, et al. Synucleinopathies: where we are and where we need to go. *J Neurochem* 2020; 153 : 433-54.
5. Gomperts SN. Lewy Body Dementias: Dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia. *Continuum (Minneapolis, Minn)* 2016; 22 : 435-63.
6. Goh YY, Saunders E, Pavey S, et al. Multiple system atrophy. *Prac Neurol* 2023; 23 : 208-21.
7. Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2021; 20 : 385-97.
8. Atik A, Stewart T, Zhang J. Alpha-Synuclein as a biomarker for Parkinson's disease. *Brain Pathol* 2016; 26 : 410-8.
9. Liu M, Wang Z, Shang H. Multiple system atrophy: an update and emerging directions of biomarkers and clinical trials. *J Neurol* 2024; 271 : 2324-44.
10. Dong L, Zhou R, Zhou J, et al. Positron emission tomography molecular imaging for pathological visualization in multiple system atrophy. *Neurobio of Dis* 2025; 206 : 106828.
11. Goldman JG, Goetz CG, Brandabur M, et al. Effects of dopaminergic medications on psychosis and motor function in dementia with Lewy bodies. *Mov Disord* 2008; 23 : 2248-50.
12. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216 : 136-44.
13. Crozet C, Lehmann S. Les prions. *Med Sci (Paris)* 2007; 23 : 1148-58.
14. Moudjou M, Ermonval M. Le phénomène Prion, différents aspects d'un nouveau concept en biologie. *Virologie* 2010; 14 : 255-68.
15. Coste J, Prowse C, Eglon R, et al. A report on transmissible spongiform encephalopathies and transfusion safety. *Vox Sang* 2009; 96 : 284-91.
16. Coste J. An overview of the diagnostic tools. *Transfus Clin Biol* 2013; 20 : 412-5.
17. Saborio GP, Permanne B, Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001; 411 : 810-3.
18. Thomas CM, Salamat MKF, Almela F, et al. Longitudinal detection of prion infection in preclinical sheep blood samples compared using 3 assays. *Blood* 2024; 144 : 1962-73.
19. Bougard D, Brandel JP, Belondrade M, et al. Detection of prions in the plasma of presymptomatic and symptomatic patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Sci Transl Med* 2016; 8 : 370ra182.
20. Bougard D, Belondrade M, Mayran C, et al. Diagnosis of methionine/valine variant Creutzfeldt-Jakob disease by protein misfolding cyclic amplification. *Emerg Infect Dis* 2018; 24 : 1364-6.
21. Brandel JP, Vllaic MB, Culeux A, et al. Variant Creutzfeldt-Jakob disease diagnosed 7.5 years after occupational exposure. *N Engl J Med* 2020; 383 : 83-5.
22. Atarashi R, Satoh K, Sano K, et al. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med* 2011; 17 : 175-8.
23. Orru CD, Bongianni M, Tonoli G, et al. A test for Creutzfeldt-Jakob disease using nasal brushings. *N Engl J Med* 2014; 371 : 519-29.
24. McKenzie N, Piconi G, Culeux A, et al. Concordance of cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion across the European Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Network. *Eur J Neurol* 2022; 29 : 2431-8.
25. Hermann P, Appleby B, Brandel JP, et al. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Neurol* 2021; 20 : 235-46.
26. Sargent D, Baron T. Assemblages d' α -synucléine. *Med Sci (Paris)* 2016; 32 : 233-6.
27. Prusiner SB, Woerman AL, Mordes DA, et al. Evidence for alpha-synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112 : E5308-17.
28. Nicot S, Verchère J, Belondrade M, et al. Seeded propagation of alpha-synuclein aggregation in mouse brain using protein misfolding cyclic amplification. *FASEB J* 2019; 33 : 12073-86.
29. Betemps D, Arsac JN, Nicot S, et al. Protease-sensitive and -resistant forms of human and murine alpha-synucleins in distinct brain regions of transgenic mice (M83) expressing the human mutated A53T protein. *Biomolecules* 2023; 13.

30. Bruyère-Ostells L, Verchère J, Betemps D, et al. Subclinical detection of misfolded alpha-synuclein in the blood of M83 mice. *Acta Neuropathol* 2025; 150 : 2.
31. Van der Perren A, Gelders G, Fenyi A, et al. The structural differences between patient-derived α -synuclein strains dictate characteristics of Parkinson's disease, multiple system atrophy and dementia with Lewy bodies. *Acta Neuropathol* 2020; 139 : 977-1000.
32. Fenyi A, Leclair-Visonneau L, Clairembault T, et al. Detection of alpha-synuclein aggregates in gastrointestinal biopsies by protein misfolding cyclic amplification. *Neurobiol Dis* 2019; 129 : 38-43.
33. Fairfoul G, McGuire LI, Pal S, et al. Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; 3 : 812-8.
34. Shahnawaz M, Tokuda T, Waragai M, et al. Development of a biochemical diagnosis of Parkinson disease by detection of alpha-synuclein misfolded aggregates in cerebrospinal fluid. *JAMA Neurol* 2017; 74 : 163-72.
35. Groveman BR, Orrù CD, Hughson AG, et al. Rapid and ultra-sensitive quantitation of disease-associated α -synuclein seeds in brain and cerebrospinal fluid by α Syn RT-QuIC. *Acta Neuropathol Commun* 2018; 6 : 7.
36. Rossi M, Baiardi S, Teunissen CE, et al. Diagnostic value of the CSF alpha-synuclein real-time quaking-induced conversion assay at the prodromal MCI stage of dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2021; 97 : e930-e40.
37. Shahnawaz M, Mukherjee A, Pritzkow S, et al. Discriminating alpha-synuclein strains in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Nature* 2020; 578 : 273-7.
38. Bernhardt AM, Longen S, Trossbach SV, et al. A quantitative Lewy-fold-specific alpha-synuclein seed amplification assay as a progression marker for Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 2025; 149 : 20.
39. Wang Z, Becker K, Donadio V, et al. Skin α -synuclein aggregation seeding activity as a novel biomarker for Parkinson disease. *JAMA Neurol* 2021; 78 : 30-40.
40. Vascellari S, Orrù CD, Groveman BR, et al. alpha-Synuclein seeding activity in duodenum biopsies from Parkinson's disease patients. *PLoS Pathog* 2023; 19 : e1011456.
41. Bargar C, De Luca CMG, Devigili G, et al. Discrimination of MSA-P and MSA-C by RT-QuIC analysis of olfactory mucosa: the first assessment of assay reproducibility between two specialized laboratories. *Mol Neurodegener* 2021; 16 : 82.
42. Kluge A, Bunk J, Schaeffer E, et al. Detection of neuron-derived pathological alpha-synuclein in blood. *Brain* 2022; 145 : 3058-71.
43. Kluge A, Schaeffer E, Bunk J, et al. Detecting Misfolded α -synuclein in blood years before the diagnosis of Parkinson's disease. *Movement Disorders* 2024; 39 : 1289-99.
44. Okuzumi A, Hatano T, Matsumoto G, et al. Propagative α -synuclein seeds as serum biomarkers for synucleinopathies. *Nat Med* 2023; 29 : 1448-55.
45. Rossi M, Farris CM, Baiardi S, et al. Comparison of two alpha-synuclein seed amplification assays for discrimination of Parkinson disease and atypical Parkinsonism. *Mov Disord* 2025.
46. Soto C. alpha-Synuclein seed amplification technology for Parkinson's disease and related synucleinopathies. *Trends Biotechnol* 2024; 42 : 829-41.

TIRÉS À PART

D. Bougard

Et si le débat sur l'expérimentation animale était bien plus nuancé qu'il n'y paraît ?



Ce livre invite à dépasser les idées reçues pour considérer la question avec lucidité. En racontant l'**histoire de l'expérimentation animale** jusqu'aux découvertes médicales les plus récentes, en dévoilant le **cadre légal**, les contrôles, les comités d'éthique et le **principe des 3R** (Remplacer, Réduire, Raffiner), l'auteur montre ce qui se fait réellement dans les laboratoires — et ce qui change. Il présente ainsi les alternatives qui se développent : organoïdes, jumeaux numériques, organes sur puce... S'appuyant sur des données solides, des exemples concrets et des témoignages de terrain, cet ouvrage propose une analyse factuelle, accessible et rigoureuse sur ce sujet sensible : une invitation à comprendre, à questionner et à se forger une opinion éclairée — que l'on soit citoyen, étudiant, professionnel de santé, chercheur ou engagé dans la cause animale.

Disponible aussi en format e-book
En vente sur laboutique.edpsciences.fr

ISBN : 978-2-7598-3925-4
178 pages
Prix : 22 €

