

UNIVERSITE DE NANTES

---

FACULTE DE MEDECINE

---

Année 2013

**N° 100**

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

DES de NEUROLOGIE

par

Emmanuelle FOLGOAS

Née le 25 janvier 1984 à Landerneau (29)

---

Présentée et soutenue publiquement le 8 octobre 2013

---

BIOPSIES DE GLANDES SALIVAIRES ACCESSOIRES :  
UNE NOUVELLE SOURCE DE BIOMARQUEURS POUR LA MALADIE DE  
PARKINSON ?

---

**Président : Professeur Pascal DERKINDEREN**

**Directeur de thèse : Docteur Franck LETOURNEL**

# REMERCIEMENTS

---

*A Celui de qui j'ai tout reçu,*

Aux patients qui ont accepté avec beaucoup d'intérêt de participer à ce projet,

Au Pr Pascal Derkinderen pour son aide précieuse lors de ce travail, mais aussi tout au long de mon internat,

Au Dr Franck Letournel pour les techniques d'immuno-histochimie et son expertise dans l'analyse des coupes. Merci également à toute son équipe de laboratoire.

Au Pr Philippe Damier pour ses qualités d'enseignement lors des visites,

Au Pr Olivier Malard pour avoir promptement accepté de participer à ce jury de thèse,

A mes parents et mes frères pour leur patience et leur tendre soutien,

A Etienne,

# SOMMAIRE

---

INTRODUCTION .....	4
1. Intérêt des biomarqueurs dans la maladie de Parkinson.....	4
2. Atteinte du SNA périphérique dans la maladie de Parkinson: Intérêt du système salivaire.....	6
2.1 Atteinte pré et postganglionnaire	
2.2 Anatomie générale et innervation des glandes salivaires	
2.3 Dysfonction salivaire dans la maladie de Parkinson	
2.4 Atteinte neuropathologique des glandes salivaires dans la maladie de Parkinson	
3. Techniques de prélèvement des glandes salivaires.....	12
3.1 Etude des glandes sous-maxillaires	
3.2 Etudes des glandes salivaires accessoires	
OBJECTIF .....	13
MATERIELS ET METHODES .....	13
1. Sujets.....	13
1.1 Critères de sélection	
1.2 Recueil des données cliniques	
2. Procédure de biopsie de glande salivaire accessoires.....	14
3. Analyse immuno-histochimique.....	15
4. Critères de jugement.....	16
5. Statistiques.....	16
RESULTATS .....	17
1. Population.....	17
2. Biopsie de glandes salivaires accessoires.....	17
2.1 Procédure	
2.2 Etude immuno-histochimique	
DISCUSSION .....	22
1. Sensibilité et spécificité .....	22
2. Biopsie de glandes sous-maxillaires .....	23
3. Peau et tube digestif: autres sources de biomarqueurs dans la maladie de Parkinson.....	23
4. Conclusion et perspectives .....	25
BIBLIOGRAPHIE.....	26

# INTRODUCTION

---

## 1. Intérêt des biomarqueurs dans la maladie de Parkinson

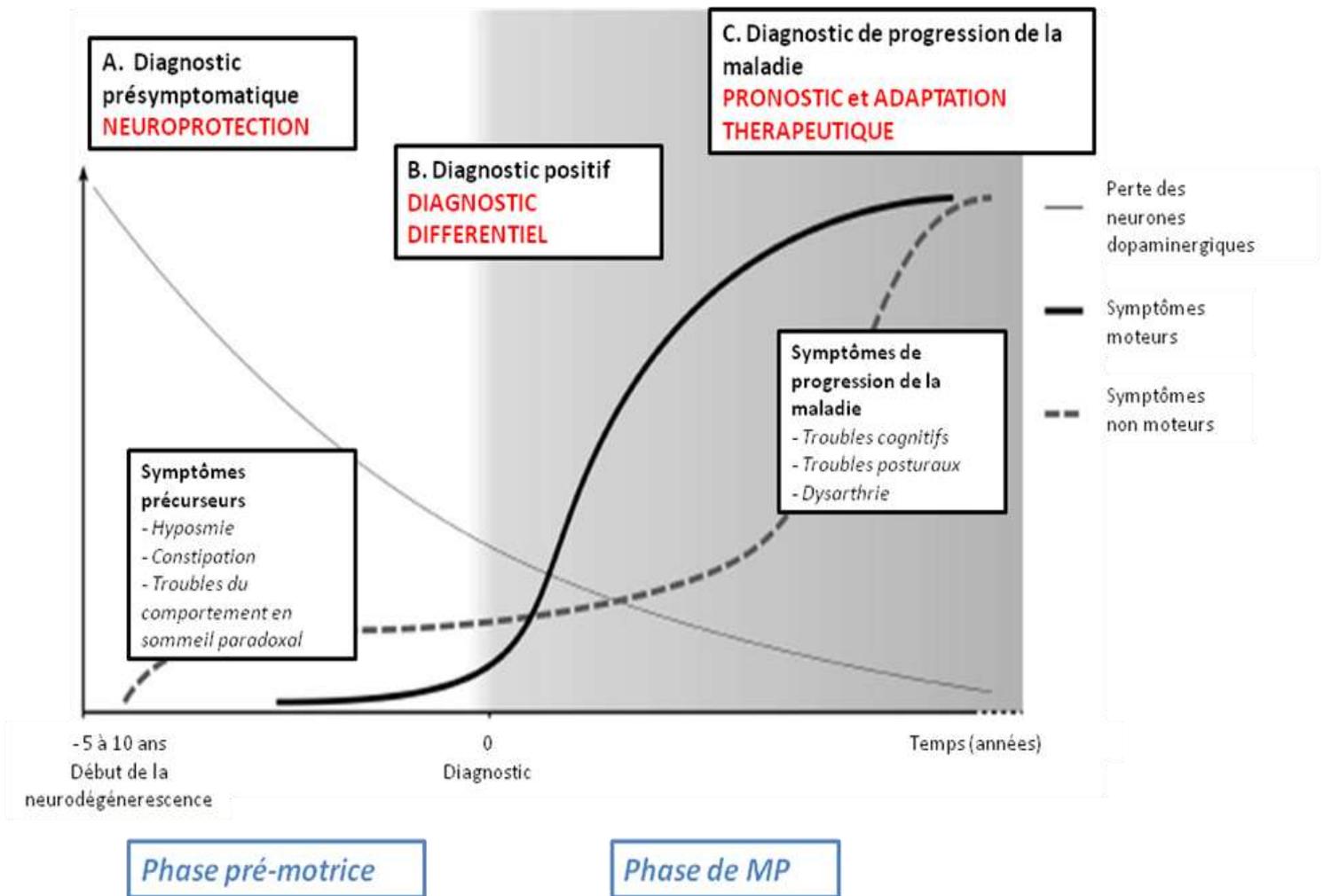
La maladie de Parkinson (MP) est la deuxième pathologie dégénérative en fréquence après la maladie d'Alzheimer. Sa prévalence en Europe est estimée à 1,8 % de la population âgée de plus de 65 ans. Les signes moteurs cardinaux de la maladie, la rigidité et l'akinésie (lenteur, diminution d'amplitude et retard à l'initiation du mouvement), sont la conséquence de la perte relativement sélective des neurones dopaminergiques de la *substantia nigra pars compacta*. D'un point de vue neuropathologique, la perte neuronale est associée à la présence d'inclusions cytoplasmiques dans les neurones restants nommés corps et prolongements de Lewy, dont le composant principal est l' $\alpha$ -synucléine. Ces inclusions peuvent persister après la perte neuronale. Cette protéine neuronale abondante est impliquée dans le transport axonal et le stockage vésiculaire. L' $\alpha$ -synucléine agrégée dans les corps de Lewy se distingue par la phosphorylation de son résidu sérine 129 (Fujiwara *et al.*, 2002). Depuis plus de 15 ans, l'immunohistochimie de l' $\alpha$ -synucléine et de l' $\alpha$ -synucléine phosphorylée est devenue la technique de référence pour la détection de la pathologie de Lewy (Beach *et al.*, 2008 et 2009).

Quand la gène motrice apparaît, on estime que 60 % des neurones dopaminergiques ont dégénéré et certains noyaux non dopaminergiques du tronc cérébral sont déjà touchés par une perte neuronale sévère. L'existence de signes précurseurs de la MP rend compte du caractère insidieux du processus dégénératif qui débute plusieurs années avant l'atteinte motrice. Les plus fréquemment rencontrés sont les troubles du comportement en sommeil paradoxal, le déficit olfactif ou la constipation. En outre, le syndrome parkinsonien n'est pas spécifique de la MP, et peut inaugurer un certain nombre de maladies neurologiques. Les diagnostics différentiels classiques de la MP sont deux autres syndromes parkinsoniens, la paralysie supranucléaire progressive et l'atrophie multisystématisée (AMS). Ces deux pathologies peuvent mimer une MP en début d'évolution, mais il est important d'en faire le diagnostic, car leur prise en charge thérapeutique et surtout leur pronostic sont différents de ceux de la MP.

Le diagnostic de MP repose actuellement sur les signes cliniques de la maladie et seul un examen neuropathologique post-mortem permet d'affirmer ou d'infirmer le diagnostic. L'absence de spécificité des signes cliniques souligne la contribution potentiellement majeure de biomarqueurs pour la MP. Dans l'idéal, ils permettraient le diagnostic positif chez des

patients présentant un ou plusieurs signes précurseurs, ou aideraient au diagnostic différentiel face à un syndrome parkinsonien atypique. Un biomarqueur est défini comme « une caractéristique mesurée objectivement et évaluée comme indicateur de processus physiologique ou pathologique, ou de l'action des médicaments », selon le National Institute of Health. Il s'agit d'un paramètre clinique ou biologique, dont la mesure est précise et reproductible, qui permet de définir un état normal ou pathologique. Ces dernières années, des techniques innovantes ont été développées afin de mettre au point de nouveaux biomarqueurs. Dans le domaine de l'imagerie, l'échographie transcrânienne (*Berg and Becker, 2001*), l'IRM de haut champs en séquence de diffusion ou spectroscopie (*Stoessel, 2012*) ou l'imagerie de traceurs isotopiques cherchent à mettre en évidence des anomalies morphologiques, biochimiques, fonctionnelles ou perfusionnelles des noyaux gris centraux spécifiques de la MP. L'étude de biofluides comme le plasma (*Yanamandra et al., 2011; Song et al., 2011*), le LCR (*Parnetti et al., 2013*) ou la salive (*Devic et al., 2011*) par des techniques de génomiques ou protéomiques, bénéficient également d'une attention particulière. Malgré des moyens importants, les résultats sont décevants et aucun biomarqueur radiologique ou biochimique n'est aujourd'hui validé dans la MP.

La recherche de biomarqueurs « neuropathologiques » de la MP a longtemps été limitée par le postulat, selon lequel la pathologie de Lewy est restreinte à la substance noire. Les progrès récents en neuropathologie dans la détection des corps et prolongements de Lewy, obtenus en grande partie grâce à l'utilisation d'anticorps dirigés contre l' $\alpha$ -synucléine et l' $\alpha$ -synucléine phosphorylée (*Beach et al., 2008 et 2009*), ont permis de montrer que la diffusion du processus pathologique va bien au delà de la substance noire. Certaines structures du système nerveux central, comme le noyau dorsal moteur du vague dans la moelle allongée (*Braak et al., 2002*) ou le bulbe olfactif (*Del Tredici et al., 2002*), sont touchées plus précocement et sévèrement que la substance noire (*Braak et al., 2003*). Cette distribution spatio-temporelle a conduit à l'hypothèse formulée par Braak et collaborateurs, proposant une diffusion rétrograde et centripète du processus pathologique vers le SNC et définissant 6 stades de progression des lésions (*Braak et al., 2003*). De façon remarquable, la pathologie de Lewy est présente dans les systèmes nerveux autonomes périphériques, à la fois sur le contingent sympathique et parasympathique (*Beach et al., 2009*). Ceci permet d'envisager la mise au point de biomarqueurs à partir des systèmes nerveux périphériques, certains des organes cibles étant accessibles à la biopsie. C'est en particulier le cas de la peau, du tube digestif et des glandes salivaires (*Ikemura et al., 2008; Wakabayashi et al., 1988; Braak et al., 2006, 2007; Beach et al., 2010*).



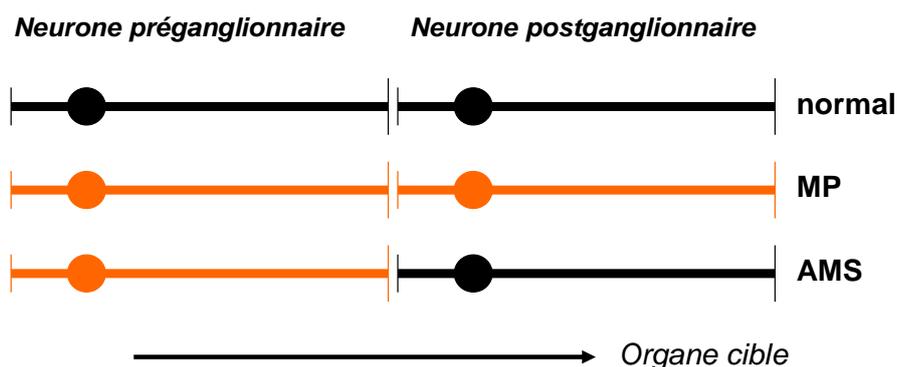
*Figure 1. Schéma de l'évolution clinique et de la perte dopaminergique dans la MP en fonction du temps (Adapté de Lebouvier et al., 2010)*

## **2. Atteinte du SNA périphérique dans la MP: intérêt de l'étude du système salivaire**

### **2.1 Atteinte pré et post-ganglionnaire dans la MP**

Le SNA est destiné au contrôle des activités automatiques et est composé de trois grands systèmes: sympathique, parasympathique et Système Nerveux Entérique (SNE). Ils sont organisés sur le même mode: un neurone préganglionnaire dont le noyau est situé dans le SNC, fait synapse avec un neurone postganglionnaire qui innerve la cible (glande ou muscle

lisse). Le SNE est particulier car organisé en deux plexus denses innervant le tractus digestif, constitués de neurones postganglionnaires principalement parasympathiques et pouvant fonctionner de manière quasi autonome. Dans la MP, la pathologie de Lewy affecte l'ensemble du SNA: tronc cérébral, moelle épinière, ganglions sympathiques, neurones postganglionnaires (*Beach et al., 2010*). L'AMS, tout comme la MP est caractérisée par la présence d'agrégats intracellulaires d' $\alpha$ -synucléine et est donc une synucléinopathie. Toutefois, contrairement à la MP, seuls les neurones préganglionnaires sont touchés par le processus pathologique (*Orimo et al., 2008*) (figure 2).



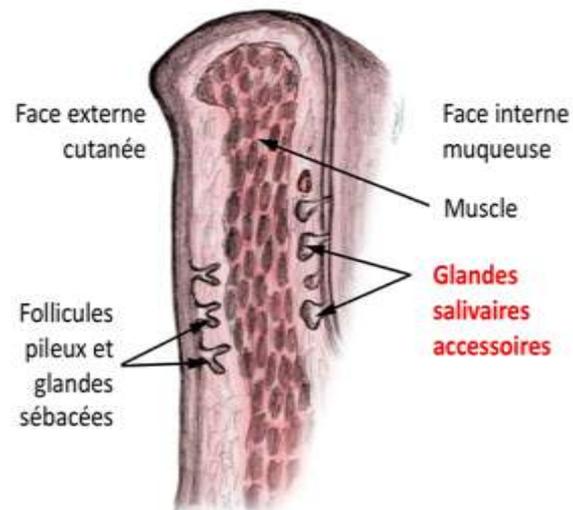
**Figure 2. Atteinte des neurones pré et postganglionnaires dans la MP et l'AMS** (Neurone noir: sain ; neurone orange: touché par le processus pathologique)

Nous l'avons vu, plusieurs organes cibles du SNA sont accessibles à la biopsie, comme la peau, le tube digestif ou les glandes salivaires. Une étude autopsique a montré en 2008 la présence de la pathologie de Lewy au sein des neurones non myélinisés du derme de 14/20 patients parkinsoniens (*Ikemura et al., 2008*). Néanmoins, une seconde étude ultérieure réalisée in vivo, n'a retrouvé que 2 biopsies de peau positives sur 20 patients prélevés (*Miki et al., 2009*). Le tube digestif est un autre site potentiel d'accès au SNA. Des publications anciennes, confirmées par une étude exhaustive récente (*Qualman et al., 1984; Wakabayashi et al., 1988; Beach et al., 2009*) ont montré une large diffusion de la pathologie de Lewy dans la quasi-totalité du tractus digestif. Ces données ont été confirmées in vivo par l'étude du plexus sous-muqueux colique de 29 patients parkinsoniens, dont 21 avaient des neurites de Lewy (*Lebouvier et al., 2010*). Dans le système salivaire, on sait grâce à des séries autopsiques que le processus neuropathologique atteint de façon très marquée les neurones postganglionnaires innervant les glandes salivaires et notamment les glandes sous-maxillaires (*Del Tredici et al., 2010; Beach et al., 2009, 2013*). Les glandes sous-maxillaires ou les

glandes salivaires accessoires pouvant être facilement accessibles à la biopsie, ces sites offrent des perspectives intéressantes de biomarqueurs.

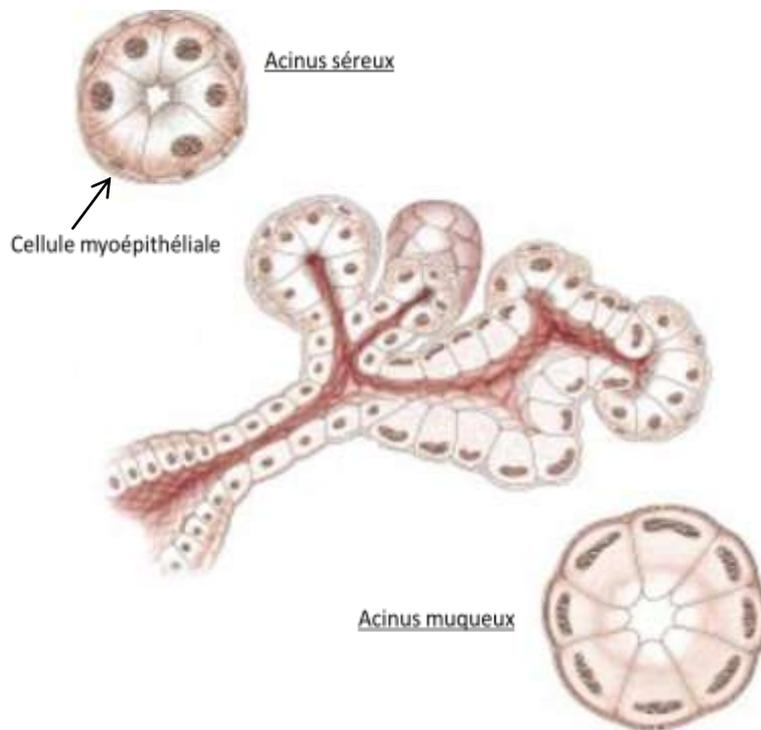
## 2.2 Anatomie générale et innervation des glandes salivaires

Le système salivaire est sous la dépendance de 3 glandes principales exocrines, dites majeures, responsables de 95% de la production salivaire: les glandes sous-maxillaire, sublinguale et parotide. Il existe également de très nombreuses glandes salivaires accessoires de 1 à 2 mm, situées préférentiellement à la face interne de la lèvre inférieure, de la joue, autour du conduit parotidien et dans la muqueuse du voile du palais (Figure 3). Leur densité et localisation sont variables selon les individus, et leur rôle dans la sécrétion salivaire négligeable par rapport aux glandes dites majeures. Ces glandes salivaires accessoires sont qualifiées de glandes mixtes car elles présentent des acini séreux et muqueux. L'acinus séreux est le lieu de la production salivaire et est constitué de cellules basophiles de formes sphériques, alors que l'acinus muqueux est organisé en cellules acidophiles d'aspect tubulaire, contenant du mucus (Figure 4). L'acinus se draine dans un canal collecteur appelé canal intercalaire. Les cellules myoépithéliales se trouvent autour des



acini et des canaux, et sont dotées de processus radiaires et de propriétés contractiles.

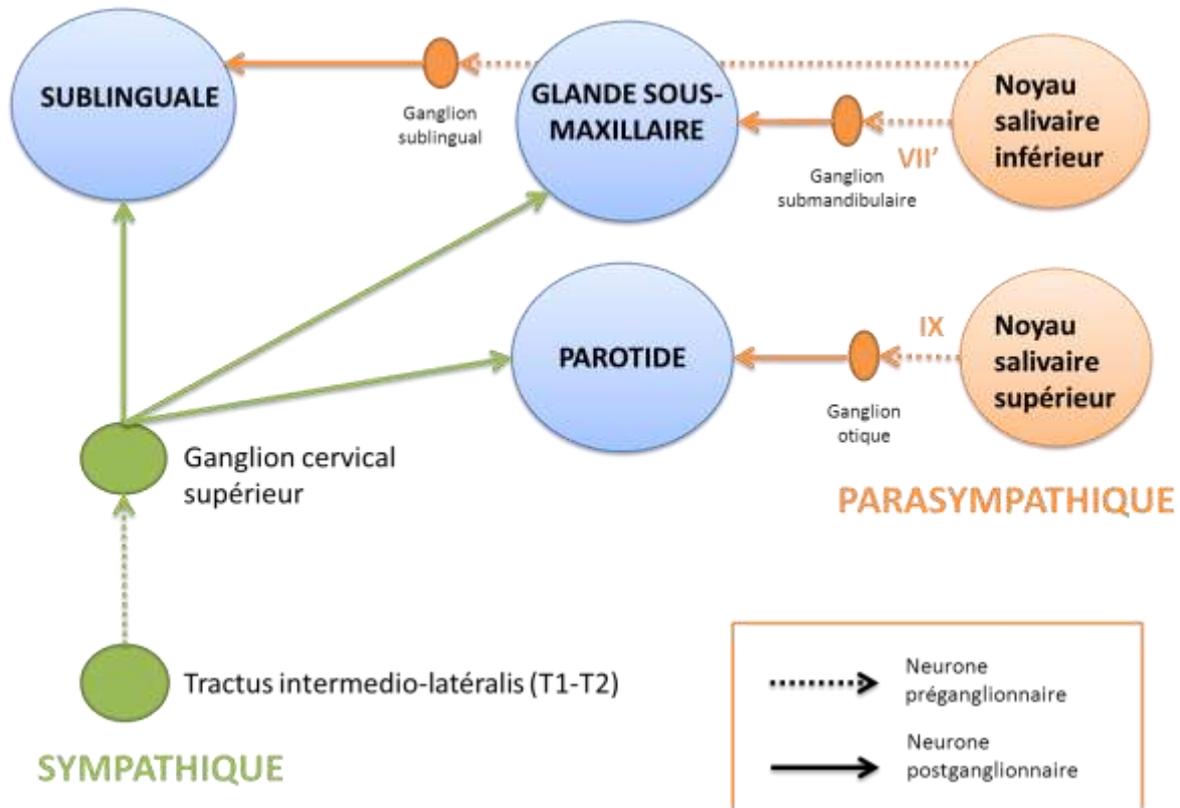
**Figure 3.** *Glandes salivaires accessoires localisées à la face interne de la lèvre inférieure (à gauche : photo de la face interne lèvre inférieure avec présence de glandes salivaires faisant saillie à la surface de la muqueuse, à droite : schéma d'une coupe transversale de lèvre inférieure)*



**Figure 4. Schéma d'une glande salivaire mixte, composée d'acini séreux et muqueux, et se drainant par un canal intercalaire bordé de cellules myoépithéliales (adapté de EMC Vidailhet et al., 2000)**

La sécrétion salivaire est favorisée par les stimuli gustatifs, sensitifs, mécaniques et psychiques. Elle est sous la dépendance des systèmes ortho et parasymphatique, interagissant entre eux de façon complexe. Les noyaux salivaires supérieur et inférieur du tronc cérébral sont le siège de la commande parasymphatique, et fusionnent au pôle caudal avec le noyau dorsal moteur du vague. La sécrétion des glandes sous-maxillaires et sublinguales est contrôlée par le noyau salivaire supérieur, celle des glandes parotides et salivaires accessoires par le noyau salivaire inférieur. **Le système parasymphatique**, innerve les glandes sous-maxillaires et sublinguales via le nerf intermédiaire de Wrisberg, la corde du tympan, le nerf lingual puis les ganglions sous-maxillaire et sublingual. A ce niveau a lieu le relais des neurones pré- et postganglionnaires, ces derniers innervant les glandes. Les glandes parotides et salivaires accessoires sont quand à elles innervées par le nerf glossopharyngien, le nerf petit pétreux puis le nerf auriculo-temporal, branche du nerf V3, en aval du ganglion otique où se fait le relais synaptique. **Le système sympathique** est issu des tractus intermedio-lateralis de la moelle au niveau thoracique (T1/T2), puis gagne les ganglions cervicaux supérieurs, où a lieu le relais pré- et postganglionnaire, et chemine ensuite le long des artères (carotides externes, artères maxillaires, faciales et linguales) (Vidailhet et al., 2000 EMC) (Figure 5).

Les nerfs parasymphatiques et sympathiques, cheminent ensemble vers leurs cibles et innervent sous une forme myélinisée et non myélinisée la plupart des cellules acinaires, leurs cellules myoépithéliales associées et les vaisseaux sanguins (*Proctor et Carpenter, 2007*).



**Figure 5. Schéma de l'innervation autonome sympathique et parasymphatique des glandes salivaires dites majeures, avec relais des neurones pré et postganglionnaires (adapté de EMC Vidailhet et al., 2000)**

L'innervation parasymphatique est principalement médiée par l'acétylcholine, qui se fixe sur les récepteurs cholinergiques des membranes basolatérales des cellules acineuses et favorise à la fois le débit basal, la sécrétion de salive « fluide » riche en eau et la vasodilatation des vaisseaux. Dans le système sympathique, le neurotransmetteur principal est la noradrénaline qui, via les récepteurs alpha 1, stimule la contraction des cellules myoépithéliales, la vasoconstriction et la sécrétion salivaire ; et via les récepteurs beta 1 suscite la vasodilatation et la sécrétion protéique. Le système sympathique est en partie responsable de la sécrétion de salive « visqueuse » riche en protéine. D'autres neurotransmetteurs comme la substance P, le VIP (*Vasoactive Intestinal Peptide*), le NO (*monoxyde d'azote*), ou le CGRP (*Calcitonin Gene Related Peptide*) jouent des rôles plus

secondaires dans la salivation et ont été décrits dans les neurones sympathiques, parasympathiques ou dans les deux à la fois (*Vidailhet et al., 2000 ; Proctor et Carpenter, 2007*).

### ***2.3 Dysfonction salivaire dans la MP***

L'hypersialorrhée est un symptôme fréquemment rencontré dans la population parkinsonienne, présent chez plus de 70% des patients (*Pfeiffer et al., 2011*). Elle est la conséquence de la dysphagie parkinsonienne, qui diminue la fréquence et l'efficacité des mouvements de déglutition, et de l'antéflexion axiale. Ces deux phénomènes favorisent la stase salivaire (*Pinnigton et al., 2000*). Contrairement à ce que l'on pourrait penser, il n'y a pas d'hypersécrétion salivaire dans la MP (*Proulx et al., 2005; Tumilasci et al., 2006*). On observe plutôt une hyposécrétion, décrite dès les premiers stades de la maladie (*Cersosimo et al., 2009*) et partiellement améliorée par la stimulation dopaminergique (*Tumilasci et al., 2006*). La salivation est le résultat d'un équilibre complexe entre systèmes sympathique et parasympathique. L'hyposécrétion salivaire pourrait être la conséquence de l'atteinte précoce du SNA dans la MP.

### ***2.4 Atteinte neuropathologique des glandes salivaires dans la MP***

Plusieurs études autopsiques ont permis d'établir que les glandes salivaires sous-maxillaires sont atteintes par la pathologie de Lewy chez la quasi-totalité des patients parkinsoniens (*Del Tredici et al., 2010; Beach et al., 2009 et 2013*). Braak et collaborateurs ont en effet montré la présence de corps et prolongements de Lewy dans les glandes sous-maxillaires de 9/9 patients parkinsoniens en utilisant un anticorps dirigé contre l' $\alpha$ -synucléine totale. En utilisant un anticorps spécifique de la forme phosphorylée de l' $\alpha$ -synucléine, Beach et collaborateurs ont mis en évidence des corps et prolongements de Lewy chez la totalité des patients (28/28) si l'ensemble de la glande sous-maxillaire était étudié, et chez 17 patients sur 19 en prélevant du tissu sur glande congelé à l'aide d'une aiguille de 18 gauge. Une étude pilote publiée en 2010, a montré la présence d'inclusions d' $\alpha$ -synucléine dans les glandes salivaires accessoires chez deux patients parkinsoniens sur 3, en utilisant des biopsies de glandes salivaires accessoires réalisées en routine du vivant du patient. Cette étude apparaît toutefois d'interprétation délicate, les expériences d'immunofluorescence présentées montrant un marquage abondant des parois vasculaires et possiblement non-spécifique (*Cersosimo et al., 2010*).

L'ensemble de ces données montre que les glandes salivaires pourraient être une source intéressante de biomarqueurs dans la MP. En effet, leur facilité d'accès et l'abondante innervation autonome en font une cible de choix.

### **3. Techniques de prélèvements des glandes salivaires**

#### ***3.1 Etude des glandes sous-maxillaires***

La glande sous-maxillaire est située sous l'angle de la mandibule, en dedans et en dessous de la mâchoire, est divisée en deux lobes séparés par le muscle mylo-hyoïdien et se draine par le canal de Wharton. Elles mesurent 5 cm dans sa plus grande longueur. Elle est proche du nerf lingual et du nerf hypoglosse qui cheminent à son contact. Il est possible de biopsier cette glande in vivo soit par incision chirurgicale classique, soit par biopsie percutanée à l'aiguille. La technique de biopsie classique apparaît peu adaptée pour être utilisée en pratique courante comme source de biomarqueur car trop invasive, la deuxième technique offre l'avantage de pouvoir être réalisée en ambulatoire sous anesthésie locale, avec un faible risque de complications, qui n'est cependant pas nul (risques infectieux, hémorragique, risque de lésion du rameau marginal du nerf facial, du nerf lingual ou plus en profondeur du nerf hypoglosse *Colella et al., 2010*).

#### ***3.2 Etudes des glandes salivaires accessoires***

Les BGSA, à la différence des biopsies de glandes sous-maxillaires, sont réalisées quotidiennement dans les services de médecine dans les bilans étiologiques de maladies inflammatoires comme le syndrome de Gougerot-Sjögren (*Vitali et al., 2002*). Il s'agit d'un geste simple, ne nécessitant pas la présence d'un chirurgien, sous anesthésie locale et réalisable en ambulatoire. Leur limite consiste principalement dans la faible quantité de tissu disponible. Les BGSA ont peu d'effets secondaires: tuméfaction locale, hématome extériorisé, troubles sensitifs régressifs (*Caporali et al., 2008*). La BGSA est donc un candidat très intéressant pour la mise au point d'un nouveau biomarqueur dans la MP.

## OBJECTIF

---

L'objectif de cette étude préliminaire est de mettre en évidence la présence d'agrégats d' $\alpha$ -synucléine phosphorylée dans les glandes salivaires accessoires des patients parkinsoniens, et d'évaluer l'utilité des BGSA comme biomarqueur dans la MP.

## MATERIELS ET METHODES

---

### 1. Sujets

#### *1.1 Critères de sélection*

Cette étude s'est déroulée dans le service de Neurologie du CHU de Nantes entre janvier 2012 et février 2013, et a inclus 28 patients.

Les critères d'inclusion dans le groupe parkinsonien étaient :

- **Maladie de Parkinson** définie selon les critères de la *United Kingdom Parkinson Disease Society Brain Bank (Hughes et al., 2002)*, et comportant l'un des 4 signes suivants: tremblement de repos, akinésie, rigidité parkinsonienne et instabilité posturale, associés à une bonne sensibilité à la lévo-DOPA (*Fahn et al., 1987*). Une évaluation de l'*Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) partie III (motrice)* a été réalisée pour chaque patient.
- Patient âgé de 18 à 75 ans.
- Maladie évoluant depuis au moins 5 ans
- Capacité à donner un consentement éclairé et écrit.

Les critères d'exclusion étaient :

- troubles de la coagulation ou de l'hémostase
- allergie aux anesthésiques locaux
- troubles cognitifs sévères
- patient sous tutelle ou curatelle
- affection salivaire connue

Les patients du groupe témoin bénéficiaient d'une BGSA dans le cadre de bilan de maladie neurologique non parkinsonienne, incluant les bilans de maladies inflammatoires du SNC. Une BGSA supplémentaire était réalisée avec leur consentement en vue de l'étude. Les patients étaient examinés et ne présentaient pas de signes parkinsoniens, et aucun d'entre eux n'était suspect à l'interrogatoire de syndrome de Gougerot-Sjögren.

### ***1.2 Recueil des données cliniques***

Les données démographiques recueillies dans les deux groupes concernaient l'âge, le sexe et le type de maladie. Dans le groupe parkinsonien, l'année de début de la maladie, la durée d'évolution, la sévérité clinique évaluée grâce au score UPDRS III (*Fahn et al., 1987*) étaient rapportées. Les patients ont bénéficié d'une information claire concernant l'objectif de l'étude, la technique et les risques liés au geste de la BGSA (infectieux, hémorragique, cicatriciel, lésion neurologique). Le consentement signé était recueilli de manière éclairée.

L'étude était menée en respect de la déclaration d'Helsinki et en accord avec le comité d'éthique local (*Comité de protection des personnes Ouest VI, Brest, France*) et déclarée au registre ClinicalTrials.gov (identifiant NCT01748409).

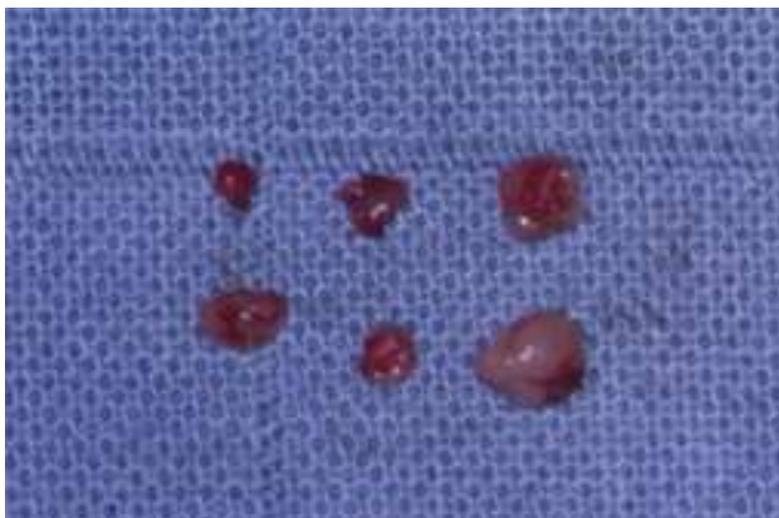
## **2. Procédure de Biopsie de glandes salivaires accessoires (BGSA)**

La première étape consistait à s'assurer de l'absence de contre-indications par une prise de sang, à la recherche de trouble de la coagulation ou de l'hémostase. Le geste était ensuite réalisé au lit du patient ou en ambulatoire lors d'une consultation.

Le patient était confortablement installé, en décubitus dorsal. En condition stérile et après désinfection par Povidone (Betadine<sup>®</sup>), une anesthésie locale était réalisée par injection de 2 à 3 ml de Xylocaine 1% grâce à une aiguille fine sous-cutanée. L'opérateur pratiquait une incision courte et horizontale de la face interne de la lèvre inférieure à l'aide d'une lame de bistouri. Une à deux glandes salivaires accessoires étaient prélevées et conservées dans du Paraformaldéhyde (PFA) (Figure 6 et 7). L'hémostase était assurée par compression de la zone biopsiée pendant 3 à 5 minutes. Il n'était pas nécessaire de réaliser de suture. Au terme de la biopsie, une prescription d'antalgiques et de bains de bouche antiseptiques était remise au patient. L'ensemble des biopsies a été réalisé par le même opérateur.



*Figure 6. Incision courte et horizontale de la lèvre inférieure, révélant les glandes salivaires accessoires (issu de Caporali et al., 2008)*



*Figure 7. Six glandes salivaires accessoires prélevées, de taille variable (1 à 2 mm)*

### **3. Analyse immuno-histochimique**

Les glandes salivaires biopsiées étaient fixées dans du PFA 10% (vol/vol), incluses en paraffine et coupées en section de 4  $\mu$ m. Les coupes étaient ensuite colorées à l'Hématoxyline Eosine (HE) ou immunomarquées par un anticorps anti phospho-synucléine. Après déparaffinage, les coupes étaient incubées dans une solution contenant l'anticorps anti phospho- $\alpha$ -synucléine (1:10 000, WAKO, Osaka, Japan) sur la nuit à 4°C, puis rincées dans du PBS (*Phosphate Buffered Saline*), et incubées une heure avec l'anticorps secondaire biotinylé. La révélation se faisait ensuite grâce au complexe biotine-peroxydase selon les

recommandations du fabricant (ABC kit, Dako, Trappes, France). Toutes les procédures étaient réalisées par un appareil LEICA-BOND III et les coupes lues sous microscope ZEISS avec le logiciel Axio Visio 4.6. Trois coupes par patient étaient examinées par le même neuropathologiste en aveugle du diagnostic.

#### **4. Critères de jugement**

Le critère de jugement principal était la mise en évidence d'inclusions d' $\alpha$ -synucléine phosphorylée au sein des glandes salivaires accessoires.

Les critères de jugement secondaires étaient la mise en évidence d'une corrélation entre la présence d'inclusion, la durée d'évolution de la maladie et le score de sévérité moteur défini par l'UPDRS III.

#### **5. Statistiques**

Aucune analyse statistique n'a été nécessaire.

# RESULTATS

---

## 1. Population

Seize patients parkinsoniens ont été inclus, 9 hommes et 7 femmes. L'âge moyen était de  $66.6 \pm 10.2$  ans et la durée moyenne d'évolution de la maladie de  $12.3 \pm 5$  années. Le sous-score UPDRS III moyen était de 35 (Tableau 1).

Les douze patients du groupe témoins avaient un âge moyen de  $50.7 \pm 16.8$  ans, répartis en 8 femmes et 4 hommes. Il s'agissait principalement de patients hospitalisés dans le service de neurologie pour bilan de maladies inflammatoires du système nerveux central ou périphérique (Tableau 2).

## 2. Biopsie de glandes salivaires accessoires

### 2.1 Procédure

Aucune complication liée à la procédure (hémorragique, infectieuse ou cicatricielle) n'a été observée parmi les 28 patients biopsiés. Le geste de biopsie ne comportait pas de difficulté de réalisation particulière, il n'y avait pas de plainte douloureuse après anesthésie à la Xylocaïne, et l'hémostase était réalisée par simple compression locale. Cette procédure offre donc une sécurité et faisabilité satisfaisante.

### 2.2 Etude immuno-histochimique

La technique d'immunomarquage par anticorps anti phospho- $\alpha$ -synucléine a été préalablement testée sur des coupes de mésencéphale d'un patient parkinsonien. L'immuno-histochimie offrait un marquage satisfaisant de la pathologie de Lewy au sein des neurones dopaminergiques de la substance noire (figure 8).

Nous avons ensuite utilisé le protocole d'immuno-histochimie validé sur la substance noire dans les BGSA. Dans le groupe parkinsonien, 3 patients présentaient des inclusions d'alpha-synucléine phosphorylée, dont l'aspect était évocateur de prolongements de Lewy (figure 9). Les inclusions se situaient principalement en région périacinaire. Sur l'ensemble des coupes, il n'a pas été observé de corps de Lewy. Il n'y avait pas de lien avec la durée d'évolution (patient 1: 21 ans, patient 12: 11 ans, patient 14: 11 ans) ou le score de sévérité

clinique. Un des trois patients présentait cependant une durée d'évolution longue (21 ans) et un score UPDRS élevé (UPDRS III 72).

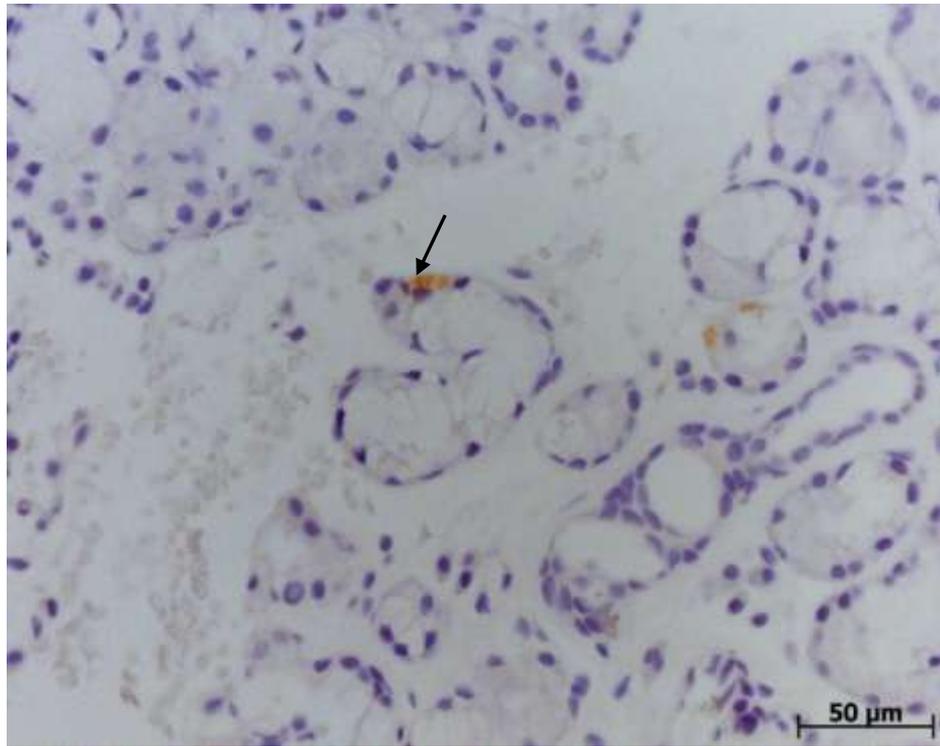
Deux patients témoins avaient également une immunoréactivité phospho-synucléine au sein des glandes salivaires accessoires, ne pouvant être caractérisée comme véritables inclusions (Figure 10).



**Figure 8. Immunomarquage anti phospho-synucléine de la substance noire d'un patient parkinsonien.** Corps de Lewy (flèche noire), prolongements dystrophiques de Lewy (flèche rouge), persistance de quelques neurones dopaminergiques (flèche bleue) avec gliose astrocytaire (tête de flèche bleue). Substantia nigra pars compacta faible grossissement.



**Figure 9. Inclusion de phospho- $\alpha$ -synucléine périacinaire chez un patient parkinsonien (patient 1 – Echelle 20  $\mu$ m)**



*Figure 10. Immunoréactivité phospho- $\alpha$ -synucléine chez un témoin*

N°	Maladie	Sexe	Age (années)	Année de début	Durée d'évolution (années)	UPDRS III /108	phospho-synucléine
1	MP	H	73	1992	21	72	+
2	MP	H	53	2005	8	38	-
3	MP	F	76	2002	11	17	-
4	MP	H	73	2003	10	26	-
5	MP	H	88	2004	9	37	-
6	MP	F	76	2000	13	51	-
7	MP	F	65	2001	12	14	-
8	MP	H	69	2005	8	38	-
9	MP	F	66	1997	16	51	-
10	MP	H	63	1999	14	28	-
11	MP	H	71	1987	26	34	-
12	MP	F	51	2002	11	49	+
13	MP	F	61	2004	9	30	-
14	MP	H	49	2002	11	13	+
15	MP	H	62	2005	8	22	-
16	MP	F	70	2003	10	34	-
<b>Moyenne ± DS</b>			<b>66.6 ±10.2</b>		<b>12.3 ±5</b>	<b>35</b>	

**Tableau 1. Résultats cliniques et neuropathologiques dans le groupe MP.**

*MP: Maladie de Parkinson; H : Homme ; F : Femme ; UPDRS: Unified Parkinson's Disease Scale ; DS: Dérivation standard*

Témoïn	Pathologie	Sexe	Age	phospho-synucléïne
1	PRNC	F	61	-
2	Maladie inflammatoire du SNC	F	60	-
3	Myélite inflammatoire	H	48	-
4	Leucopathie	F	78	-
5	Syndrome paranéoplasique	H	70	-
6	Atteinte des nerfs crâniens	F	57	+/-
7	Atteinte des nerfs crâniens	H	41	-
8	Troubles sensitifs	F	23	-
9	Neuropathie périphérique	F	63	-
10	Maladie inflammatoire du SNC	F	38	+/-
11	Myélite inflammatoire	F	29	-
12	Myélite inflammatoire ou ischémique	H	40	-
<i>Moyenne</i>			50.7 ±16.8	2/12

**Tableau 2. Résultats cliniques et neuropathologiques dans le groupe témoin**

*PRNC : Polyradiculonévrite chronique*

## DISCUSSION

---

Notre travail visait à étudier l'intérêt des BGSA pour le diagnostic neuropathologique de MP, en utilisant un marquage anti phospho- $\alpha$ -synucléine et l'examen de trois coupes par patient. Trois des 16 patients parkinsoniens prélevés (19%) avaient des inclusions pathologiques dans les espaces périacinaires, se rapprochant de prolongements de Lewy, et 2 des 12 (17%) témoins étaient faiblement immunoréactifs. Aucune complication liée au geste n'a été rapportée.

### 1. Sensibilité et spécificité

Nous avons montré que l'étude des BGSA, en utilisant une technique d'immunohistochimie anti phospho- $\alpha$ -synucléine, est peu sensible et peu spécifique pour le diagnostic de MP. Cette faible sensibilité peut être rapportée à un nombre insuffisant de coupes examinées (3 coupes/patient). En effet, il existe une grande variabilité de la densité de la pathologie de Lewy, à la fois interindividuelle et en fonction du site de prélèvement. A titre d'exemple, dans l'étude de *Lebouvier et al., 2010* on pouvait ne retrouver qu'une seule inclusion sur la totalité d'une biopsie de plexus sous-muqueux, pourtant pourvu d'une forte densité neuronale. On peut supposer que l'examen d'une plus grande quantité de tissu salivaire permettrait d'augmenter la sensibilité de cette technique.

La technique d'immunohistochimie elle-même peut être mise en cause. Le marquage anti phospho- $\alpha$ -synucléine est bien validé, couramment utilisé dans des centres experts et repose sur des articles de référence (*Fujiwara et al., 2002; Saito et al., 2003*). Cependant, la sensibilité de la technique pourrait être améliorée si l'on suit les recommandations établies en 2008 pour le marquage de la protéine  $\alpha$ -synucléine. Le consensus d'experts proposait d'utiliser un prétraitement par protéinase K afin d'augmenter la détection l'antigène (*Beach et al., 2008*).

La présence de deux faux-positifs est surprenante. Le manque de spécificité de l'anticorps peut encore être évoqué, mais ce n'est pas l'expérience que nous en avons sur d'autres tissus comme le système nerveux central ou le plexus sous-muqueux colique. Il est également possible que ces deux témoins soient des formes pré-symptomatiques de la MP aussi appelées maladies à corps de Lewy incidents ou ILBD pour *incidental Lewy Body Pathology* (*DelleDonne et al., 2008*). Si on peut l'évoquer pour le patient n° 6, cette hypothèse paraît peu probable pour le patient n° 10 âgé seulement de 38 ans.

## **2. Biopsies de glandes sous-maxillaires**

Parallèlement à ce travail, les résultats préliminaires d'une étude présentée à l'*American Academy of Neurology* en mars 2013 viennent confirmer les nôtres (*Adler et al., 2013*), avec 1/10 BGSA positives chez les parkinsoniens, en utilisant un marquage anti phospho- $\alpha$ -synucléine. Cette étude rapporte également pour la première fois in vivo l'utilisation de biopsies de glandes sous-maxillaires à l'aiguille (biopsies percutanées, aiguille de 16 et 18 gauges, après anesthésie locale) et retrouve 4/6 patients parkinsoniens positifs. Les auteurs décrivent la survenue de 3 effets secondaires notables: tuméfaction de la joue, douleur pharyngée, fuite de liquide par le site de la biopsie après un éternuement. Par ailleurs, 4 biopsies n'étaient pas utilisables du fait de la faible quantité de tissus disponible.

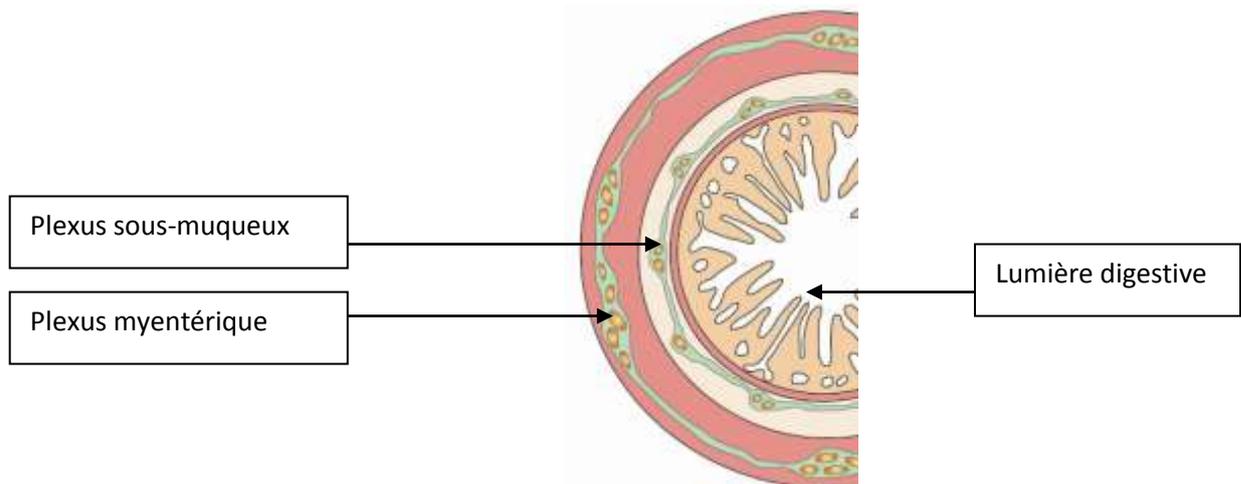
En conclusion, si la trop faible sensibilité et spécificité des BGSA ne permet pas de les recommander comme biomarqueur dans la MP, les biopsies de glandes sous-maxillaires à l'aiguille offrent une perspective intéressante. Elles nécessitent cependant des études complémentaires, avec une évaluation précise du risque de complication.

## **3. Peau et tube digestif: autres pistes de biomarqueurs dans la MP ?**

Dans une série autopsique de 85 patients présentant une pathologie de Lewy du SNC définie au plan neuropathologique, *Ikemura et al., 2008* ont montré la présence d'agrégats de synucléine (neurites de Lewy), associés à des anomalies morphologiques (cellules ballonisées) au sein des fibres non myélinisées du derme chez 20 patients. Les prélèvements cutanés, de 1x0.5 cm, ont été réalisés au niveau du bras et de la paroi abdominale. Entre autres techniques, un immunomarquage anti phospho- $\alpha$ -synucléine était réalisé. Dans le groupe des patients parkinsoniens, la sensibilité était de 70% avec 14 positifs parmi 20 parkinsoniens. Aucune immunoréactivité n'a été constatée chez les patients ne présentant pas de pathologie de Lewy. Ceci a logiquement conduit à une étude sur l'utilisation des biopsies cutanées comme marqueur histopathologique de la MP. *Miki et al., 2009* ont réalisé des biopsies au punch en thoracique et sus-malléolaire externe (6mm, profondeur de 3 mm) chez 20 patients parkinsoniens et effectué un immunomarquage anti phospho- $\alpha$ -synucléine (WAKO, Osaka, Japan; 1:5000). Seuls 2 des 20 patients (10%) présentaient des prolongements de Lewy dans des fibres non myélinisées du derme. Ces anomalies étaient localisées préférentiellement dans les zones péri-vasculaires et autour des glandes sudoripares

du derme, et uniquement présentes sur deux biopsies thoraciques. Les biopsies de peau apparaissent donc peu sensibles pour détecter la pathologie de Lewy du vivant du patient

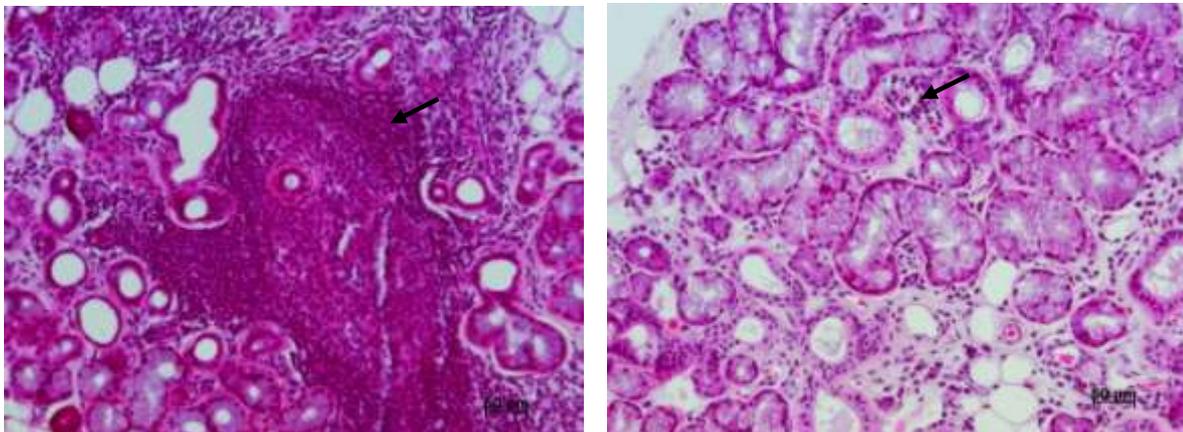
Le SNE est un réseau neuronal intégré, présent sur l'ensemble du tractus digestif (du 1/3 inférieur de l'œsophage au rectum) et constitué de deux plexus principaux, le plexus sous-muqueux de Meissner et le plexus myentérique d'Auerbach (figure 11). La présence de pathologie de Lewy dans les plexus sous-muqueux et myentériques a été mise en évidence dès les années 1980 (*Qualman et al., 1984; Wakabayashi et al., 1988*). Une étude autopsique récente a permis de montrer que les lésions du SNE étaient présentes chez la quasi-totalité des patients parkinsoniens (*Beach et al., 2009*). Le plexus sous-muqueux a pour avantage d'être accessible et analysable en utilisant des biopsies digestives réalisées en routine (*Lebouvier et al., 2010<sup>1</sup>; Pouclet et al., 2012*). Cette technique permet de mettre en évidence des prolongements de Lewy chez près de  $\frac{3}{4}$  des patients parkinsoniens, avec une bonne spécificité (pas d'anomalies décelées chez les patients AMS) (*Lebouvier et al., 2010<sup>2</sup>; Pouclet et al., 2012*). Il semble donc que l'analyse du SNE par biopsie soit une piste intéressante pour développer des biomarqueurs de la MP.



**Figure 11.** Schéma des plexus myentérique et sous-muqueux du tube digestif, le second étant accessible à la biopsie.

## D. Conclusions et Perspectives

La sensibilité de l'analyse des BGSA par immuno-histochimie  $\alpha$ -synucléine pour le diagnostic de MP est décevante et ne confirme pas les données autopsiques obtenues avec les glandes sous-maxillaires. Ce travail a donné lieu à une publication (Folgoas *et al.*, 2013). Une nouvelle étude avec cette même technique d'immunomarquage sur une plus grande série de patient nous paraît peu utile, nos résultats ayant été confirmés indépendamment par une autre équipe (Adler *et al.*, AAN, 2013). Il pourrait être en revanche intéressant de proposer des approches différentes de l'immuno-histochimie pour détecter les formes pathologiques d' $\alpha$ -synucléine dans les BGSA. Par exemple, les formes agrégées et phosphorylées de cette protéine pourraient être recherchées sur ces mêmes prélèvements par analyse en électrophorèse bidimensionnelle. Il est aussi tout à fait possible d'envisager d'autres analyses que la recherche de ces formes pathologiques d' $\alpha$ -synucléine. Nous avons observé chez plusieurs patients parkinsoniens un abondant infiltrat inflammatoire à prédominance périvasculaire (Figure 12). La signification de cet infiltrat reste à définir, mais on peut envisager que sa caractérisation pourrait permettre de différencier patients parkinsoniens de sujets sains.



**Figure 12.** *Infiltrat inflammatoire au sein de glandes salivaires accessoires de patients parkinsoniens (stroma et espaces périvasculaires). Coloration hématoxyline-éosine*

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Adler C., Beach T. [S03.005] Salivary Gland Biopsy as a Diagnostic Test for Parkinson's Disease. American Academy of Neurology. San Diego, 2013 March
- Beach T, White C, Hamilton R et al. Evaluation of alpha-synuclein immunohistochemical methods used by invited experts. *Acta Neuropathol*, 2008,116:277–288
- Beach TG, Adler CH, Sue LI, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*, 2009, 119: 689-702.
- Beach TG, Adler CH, Dugger BN et al. Submandibular gland biopsy for the diagnosis of Parkinson disease. *Neuropathol Exp Neurol*, 2013, 72:130-6
- Becker G, Berg D. Neuroimaging in basal ganglia disorders: perspectives for transcranial ultrasound. *Mov Disord*, 2001, 16:23-32
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H et al. Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol*, 2002, 249:1-5.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 2003, 24:197–211
- Braak H, de Vos R. A, Bohl J et al. Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett*, 2006, 396:67–72
- Braak H, Sastre M, Bohl J R et al. Parkinson's disease: lesions in dorsal horn layer I, involvement of parasympathetic and sympathetic pre- and postganglionic neurons. *Acta Neuropathol*, 2007, 113:421–429
- Caporali R, Bonacci E, Epis O et al. Safety and Usefulness of Minor Salivary Gland Biopsy: Retrospective Analysis of 502 Procedures Performed at a Single Center. *Arthritis & Rheumatism*, 2008, 59, 5:714–720
- Cersosimo MG, Tumilasci OR, Raina GB, et al. Hyposialorrhea as an early manifestation of Parkinson disease. *Auton Neurosci* 2009,150:150–1

- Cersosimo MG, Perandones C, Micheli FE et al. Alpha-synuclein immunoreactivity in minor salivary gland biopsies of Parkinson's disease patients. *Mov Disord*, 2010, 26:188-190.
- Colella G, Cannavale R, Flamminio F et al. Fine-needle aspiration cytology of salivary gland lesions: a systematic review. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2010, 68:2146–2153.
- DelleDonne A, Klos K J, Fujishiro H et al. Incidental Lewy body disease and preclinical Parkinson disease. *Arch. Neurol*, 2008, 65:1074–1080
- Del Tredici K, Rub U, De Vos R A et al. Where does Parkinson disease pathology begin in the brain? *J Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2002, 61:413–426
- Del Tredici K, Hawkes C H, Ghebremedhin E et al. Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.*, 2010, 119:703–713.
- Devic I, Hwang H, Edgar JS, et al. Salivary alpha-synuclein and DJ-1: potential biomarkers for Parkinson's disease. *Brain*, 2011, 134 (Pt 7): e178.
- Fahn S, Elton RL, UPDRS program members. Unified Parkinsons Disease Rating Scale Recent developments in Parkinsons disease, vol 2. 1987. p153–163.
- Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N et al. Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat. Cell Biol*, 2002, 4:160–164
- Hughes AJ, Daniel SE, Ben-Shlomo Y et al. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. *Brain*, 2002, 125: 861-870
- Ikemura M, Saito Y, Sengoku R et al. Lewy body pathology involves cutaneous nerves. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2008, 67:945–953.
- Lebouvier T<sup>1</sup>, Coron E, Chaumette T et al. Routine colonic biopsies as a new tool to study the enteric nervous system in living patients. *Neurogastroenterol Motil.*, 2010, 22(1):e11-4.
- Lebouvier T<sup>2</sup>, Neunlist M, Bruley des Varannes S, et al. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One*, 2010, 14, 5: e12728.
- Miki Y, Tomiyama M, Ueno T et al.. Clinical availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2009; 469: 357-9.

- Orimo S, Ushihara T, Nakamura A, et al. Axonal a-synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease. *Brain*, 2008, 131:642-650
- Parnetti L, Castrioto A, Chiasserini D et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9 :131-40.
- Pinnington LL, Muhiddin KA, Ellis RE, et al. Non-invasive assessment of swallowing and respiration in Parkinson's disease. *J Neurol*, 2000, 247:773–777
- Proctor G.B, Carpenter G.H. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci*. 2007, 30, 133:3-18
- Pouclet H, Lebouvier T, Coron E, et al. Lewy pathology in gastric and duodenal biopsies in Parkinson's Disease. *Mov Disord*, 2012, 27:708.
- Proulx M, de Courval FP, Wiseman MA, et al. Salivary production in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2005, 20:204–7
- Qualman SJ, Haupt HM, Yang P et al. Esophageal Lewy bodies associated with ganglion cell loss in achalasia. Similarity to Parkinson's disease. *Gastroenterology*, 1984, 87: 848-56.
- Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, et al. Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in aging human brain. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 62:644–654
- Song IU, Chung SW, Kim JS, et al. Association between high-sensitivity C-reactive protein and risk of early idiopathic Parkinson's disease. *Neurol Sci*, 2011, 32:31–34
- Stoessl AJ. Neuroimaging in Parkinson's disease: from pathology to diagnosis. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18:55–59.
- Tumilasci OR, Cersosimo MG, Belforte JE, et al. Quantitative study of salivary secretion in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2006, 21:660–7
- Vidailhet B, Robin O, Polo A, et al. Salivation. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), Stomatologie/Odontologie*, 22-008-A-05, 2000, 7p.
- Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61:554–8.
- Wakabayashi K, Takahashi H, Takeda S et al. Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. *Acta Neuropathol*, 1988, 76:217–221

- Yanamandra K, Gruden MA, Casate V, et al. Alpha-synuclein reactive antibodies as diagnostic biomarkers in blood sera of Parkinson's disease patients. PLoS One, 2011, 25,6:e18513.

**Titre de thèse :****BIOPSIES DE GLANDES SALIVAIRES ACCESSOIRES : UNE NOUVELLE SOURCE DE BIOMARQUEURS POUR LA MALADIE DE PARKINSON ?**

---

**OBJECTIF:** Mettre en évidence la présence d'inclusions de phospho- $\alpha$ -synucléine dans les glandes salivaires accessoires de patients parkinsoniens afin d'évaluer l'utilité des biopsies de glandes salivaires accessoires en tant que biomarqueur dans la maladie de Parkinson (MP). **INTRODUCTION:** Il n'existe pas à l'heure actuelle de biomarqueur radiologique ou biochimique validé dans la MP. Un biomarqueur neuropathologique permettrait d'établir le diagnostic positif et de différencier la MP de l'atrophie multisystème ou de la paralysie supranucléaire progressive. Les études post-mortem du système salivaire dans la MP ont montré que le système nerveux autonome pré- et postganglionnaire innervant les glandes salivaires, était atteint par le processus pathologique de façon marquée. Le système salivaire pourrait être un biomarqueur intéressant car facilement accessible à la biopsie et fortement innervé par les neurones postganglionnaires. **MATERIEL/METHODES:** 28 patients (16 parkinsoniens, 12 témoins) ont bénéficié d'une biopsie de glandes salivaires accessoires, grâce à une courte incision de la lèvre inférieure après anesthésie locale et prélèvement de 1 à 2 glandes salivaires accessoires. Le tissu était fixé dans du paraformaldéhyde, inclus en paraffine, puis immunomarcqué par un anticorps anti phospho- $\alpha$ -synucléine (1:10 000, Wako, Osaka, Japan). Trois coupes de 4  $\mu$ m d'épaisseur étaient étudiées par patient. **RESULTATS:** Seuls 3/16 (19%) patients parkinsoniens ont révélé des inclusions phospho- $\alpha$ -synucléine positives, se rapprochant de prolongements de Lewy. Deux des 12 témoins étaient faiblement immunoréactifs (17%). Aucune complication liée au geste n'a été rapportée. **CONCLUSION:** La sensibilité de l'analyse des BGSA par immuno-histochimie anti phospho- $\alpha$ -synucléine pour le diagnostic de MP est décevante et ne confirme pas les données autopsiques obtenues dans les glandes sous-maxillaires. Nos résultats sont confirmés par ceux d'une autre équipe, en cours de publication. Des explorations complémentaires, visant à mieux caractériser l'infiltrat inflammatoire et à étudier la protéine pathologique par des techniques non immuno-histochimiques comme la migration sur gel bidimensionnel, sont des perspectives intéressantes pour l'avenir.

---

**MOTS-CLES**

Maladie de Parkinson ; biopsies de glandes salivaires accessoires ; corps de Lewy ; prolongements de Lewy ; alpha-synucléine