



Université de Nantes



Faculté de Médecine

Année 2008

N°

Thèse

pour le

Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine

DES de Neurologie

par

Thibaud Lebouvier
né le 22 janvier 1978 à Caen

présentée et soutenue publiquement le 30 avril 2008

**Systeme nerveux entérique
et maladie de Parkinson**

Président : Monsieur le Professeur Pascal Derkinderen
Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Michel Neunlist

Abréviations

5-HT	Sérotonine	NA	Noradrénaline ou norépinéphrine
AADC	L-aromatic aminoacid decarboxylase	NET	Noepinephrine transporter
ACh	Acétylcholine	NF	Neurofilament
AMS	Atrophie multi-systématisée	NO	Protoxyde d'azote
ANAES	Agence nationale d'accréditation et d'évaluation des soins	NSE	Neuron specific enolase
ATP	Adénosine tri-phosphate	PBS	Phosphate buffer saline
CGE	Cellules gliales entériques	PINK-1	PTEN-induced kinase 1
CGRP	Calcitonin gene-related peptide	PM	Plexus myentérique (d'Auerbach)
ChAT	Choline acetyl-transférase	PPSE	Potentiel post-synaptique excitateur
CL	Corps de Lewy	PPSI	Potentiel post-synaptique inhibiteur
CoA	Co-enzyme A	PSM	Plexus sous-muqueux
COMT	Catéchol-O-méthyltransférase	QSART	Quantitative sudomotor axon reflex test
CPPRB	Comité de protection des personnes dans la recherche biomédicale	sEPSP	Slow excitatory post-synaptic potential ou PPSE lent
Cy-3	carboxyméthylindocyanine-3	SNA	Système nerveux autonome
DBH	Dopamine- β -hydroxylase	SNC	Système nerveux central
DCL	Démence à corps de Lewy	SNE	Système nerveux entérique
EGG	Électrogastrographie	SNpc	Substantia nigra pars compacta
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	som	Somatostatine
fEPSP	Fast excitatory post-synaptic potential ou PPSE rapide	TDP-43	Trans-activating response element (TAR)-DNA binding protein of 43 kDa
FITC	Fluorescein isothiocyanate	UCHL1	Ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1
fml	fibres musculaires lisses	UKPDSBB	United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank
GFAP	Glial fibrillary acidic protein	UPDRS	Unified Parkinson's Disease Rating Scale
LRRK2	Leucine-rich repeat kinase 2	VIP	Vasointestinal peptide
MAO	Monoamine oxydase	VMAT	Vesicular monoamine transporter ou transporteur vésiculaire des monoamines
MIBG	Méta-iodo-benzyl-guanidine		
MP	Maladie de Parkinson		
MPTP	1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine		

Sommaire

INTRODUCTION	5
1 LE SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE	6
1.1 LE SYSTÈME NERVEUX AUTONOME	6
1.1.1 <i>Afférences du système nerveux autonome</i>	6
1.1.2 <i>Centres nerveux autonomes</i>	7
1.1.3 <i>Efférences</i>	7
1.1.4 <i>Biochimie des neurotransmetteurs</i>	8
1.1.5 <i>Le nerf vague</i>	9
1.1.6 <i>Le système nerveux entérique au sein du système nerveux autonome</i>	10
1.2 ORGANISATION DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE	10
1.2.1 <i>Morphologie</i>	10
1.2.2 <i>Neuromédiateurs du système nerveux entérique</i>	11
1.2.3 <i>Neurones entériques</i>	13
1.2.4 <i>Autres populations cellulaires</i>	15
1.3 PHYSIOLOGIE DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE ET INTERACTIONS AVEC LE SYSTÈME NERVEUX AUTONOME	16
1.3.1 <i>Activité motrice intrinsèque</i>	17
1.3.2 <i>Rôle des systèmes sympathiques et parasympathiques</i>	18
1.4 PATHOLOGIE DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE.....	19
1.4.1 <i>Le concept de neuropathie digestive</i>	19
1.4.2 <i>Exploration des neuropathies digestives</i>	20
1.4.3 <i>Maladies neurodégénératives du système nerveux entérique</i>	21
1.4.4 <i>Altérations du système nerveux entérique avec l'âge</i>	22
1.4.5 <i>Une fenêtre sur le système nerveux central ?</i>	23
2 ATTEINTE DES SYSTÈMES NERVEUX AUTONOME ET ENTÉRIQUE DANS LA MALADIE DE PARKINSON	24
2.1 PHASE PRÉSYMPTOMATIQUE ET MANIFESTATIONS NON-MOTRICES	24
2.2 PHYSIOPATHOLOGIE	25
2.2.1 <i>α-synucléine</i>	26
2.2.2 <i>Vulnérabilité génétique versus facteurs environnementaux</i>	27
2.3 NEUROPATHOLOGIE	29
2.3.1 <i>Inclusions d'α-synucléine</i>	29
2.3.2 <i>Autres lésions</i>	30
2.4 PROGRESSION DES LÉSIONS ET CORRÉLATION ANATOMOCLINIQUE	31
2.4.1 <i>Lésions encéphaliques</i>	31

2.4.2	<i>Lésions médullaires</i>	33
2.4.3	<i>Quand le système nerveux périphérique devient central</i>	34
2.5	ATTEINTE DYSAUTONOMIQUE	34
2.5.1	<i>Epidémiologie</i>	35
2.5.2	<i>Physiopathologie</i>	35
2.5.3	<i>Atteinte morphologique</i>	37
2.6	ATTEINTE DIGESTIVE	39
2.6.1	<i>Epidémiologie</i>	39
2.6.2	<i>Physiologie</i>	40
2.6.3	<i>Atteinte morphologique</i>	42
3	APPROCHE DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE DANS LA MALADIE DE PARKINSON PAR ENDOSCOPIE	
	COLIQUE	46
3.1	MATÉRIEL ET MÉTHODES	46
3.1.1	<i>Sélection des patients</i>	46
3.1.2	<i>Préparation des tissus</i>	47
3.1.3	<i>Immunohistochimie</i>	48
3.1.4	<i>Phénotype dopaminergique et noradrénergique</i>	48
3.1.5	<i>Analyse morphométrique</i>	49
3.1.6	<i>Analyse statistique</i>	49
3.2	RÉSULTATS	50
3.2.1	<i>Compte neuronal</i>	50
3.2.2	<i>Phénotypage dopaminergique et noradrénergique</i>	50
3.2.3	<i>Analyse morphologique et morphométrique</i>	50
3.2.4	<i>Inclusions d'α-synucléine</i>	51
3.3	DISCUSSION	52
3.3.1	<i>Faisabilité et limitations</i>	52
3.3.2	<i>Compte neuronal</i>	53
3.3.3	<i>Etude de la population intrinsèque dopaminergique</i>	54
3.3.4	<i>Etude de l'innervation extrinsèque</i>	54
3.3.5	<i>Prolongements de Lewy</i>	55
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	57
	RÉFÉRENCES	58

Introduction

La maladie de Parkinson (MP) est d'abord caractérisée par des signes moteurs, akinésie et hypertonie, qui résultent de la dénervation dopaminergique du striatum. A côté de ces signes classiques, les manifestations non-motrices de la maladie rassemblent des symptômes très divers (troubles de l'olfaction, troubles du sommeil paradoxal, atteinte digestive, dysautonomie ou fléchissement cognitif). Elles font l'objet d'une attention croissante à tous les stades de la maladie : précédant souvent la survenue du handicap moteur, ces manifestations laissent entrevoir la possibilité d'un diagnostic précoce aux stades initiaux ; à la période d'état, leur résistance au traitement dopaminergique en fait une cause importante d'altération de la qualité de vie ; elles dominent le tableau clinique en fin d'évolution, les signes moteurs étant alors relégués au second plan.

Les symptômes digestifs de la MP sont l'archétype de ces manifestations non-motrices. Constipation et gastroparésie concernent la majorité des patients, provoquent une gêne importante et dans un grand nombre de cas appartiennent aux signes précurseurs de la maladie. Au cours de la dernière décennie, les avancées majeures de la neuropathologie de la MP en ont fourni les bases anatomiques présumées, en révélant l'atteinte précoce, préalable à celle de la substance noire, des noyaux végétatifs du système nerveux central (SNC). Des arguments récents suggèrent en outre que les lésions suivent une progression centripète dans le système nerveux autonome (SNA), débutant par les nerfs et les ganglions végétatifs du système nerveux périphérique.

Connecté aux centres végétatifs de la moelle et du tronc cérébral par l'innervation sympathique et parasympathique du SNA, le système nerveux entérique (SNE) est un abondant réseau nerveux situé tout au long du tractus digestif. Son fonctionnement largement indépendant est modulé par les afférences centrales. Encore méconnu malgré l'essor des neurosciences, il possède de nombreux points communs avec le SNC et fournit un exemple inédit de centre nerveux intégré en dehors du SNC. L'hypothèse qu'il pourrait représenter le premier maillon de l'atteinte neurodégénérative dans la MP n'est finalement que le prétexte au développement d'outils performants pour étudier ce réseau neuronal fascinant.

L'objectif principal de ce travail est de caractériser les lésions du SNE observées dans la MP à partir de biopsies endoscopiques. Les résultats préliminaires que nous présentons augurent des applications diagnostiques voire thérapeutiques nouvelles, et confortent la théorie que le SNE puisse constituer une fenêtre sur le SNC.

1 Le système nerveux entérique

L'hypothèse de l'atteinte primitive du SNE dans la MP ne peut être comprise ni critiquée sans appréhender l'organisation et le fonctionnement de ce système. Le SNE appartient au SNA mais s'intègre mal, de par sa complexité et son indépendance, dans la dichotomie traditionnelle qui oppose ses composantes sympathique et parasympathique.

1.1 Le système nerveux autonome

Le SNA contrôle ou régule les fonctions involontaires assurées par l'activité des fibres musculaires lisses (fml), des cardiomyocytes et des glandes endo- et exocrines à travers l'organisme. Les travaux fondateurs de John Langley [1] et de Walter Cannon [2] au début du siècle dernier ont permis de subdiviser le SNA en deux entités fonctionnelles d'action opposée : le système sympathique, dont la vocation est de mobiliser les ressources de l'organisme pour répondre à une épreuve ou à une menace, quelle qu'elle soit (c'est le système du « *fight or flight* », combattre ou fuir, comme l'écrivait Cannon) ; et le système parasympathique, dont l'activité prédomine dans les états de quiescence, et vise à reconstituer les stocks énergétiques dépensés (« *rest and digest* », se reposer et digérer).

L'étude précise de l'anatomie, de la physiologie et de la pharmacologie de ces deux systèmes concurrents dépasse largement le cadre de ce travail et peut être résumé dans un schéma classique ([figure 1](#) et [tableau 1](#)). L'organisation générale du SNA, invariable pour le sympathique et le parasympathique, est comparable aux circuits réflexes du système nerveux somatique et comprend des afférences, des centres nerveux et des efférences. Elle s'en distingue néanmoins par certains aspects [3].

1.1.1 Afférences du système nerveux autonome

Les afférences viscérosensibles sont surtout développées dans le système parasympathique, où elles constituent le contingent majeur du nerf vague (X). Dans le tractus digestif, les fibres afférentes du X innervent la muqueuse, les plexi entériques et la musculature, particulièrement au niveau de l'œsophage et de l'estomac. Ce sont des fibres de petit calibre non (type C) ou faiblement (type A δ) myélinisées. Les neurones sensitifs viscéraux dont elles dépendent répondent aux stimuli mécaniques et chimiques physiologiques. Leur corps cellulaire se situe dans le cou au niveau du ganglion plexiforme et leur court axone fait synapse dans le noyau du tractus solitaire de la moelle allongée.

Dans le système sympathique, les neurones sensitifs viscéraux possèdent des fibres de type C et véhiculent avant tout les stimuli nociceptifs déclenchés par une variété de médiateurs inflammatoires. Leur corps cellulaire se situe dans le ganglion rachidien de la racine dorsale de la moelle et leur court axone fait synapse dans la couche V de la corne dorsale, où une convergence avec les afférences somatiques explique le phénomène des douleurs projetées d'origine viscérale. Les neuromédiateurs sont des neuropeptides (CGRP, VIP, somatostatine, dynorphine) incluant la famille des tachykinines (substance P, neurokinine A) [3-5].

1.1.2 Centres nerveux autonomes

Les centres végétatifs diffèrent selon le système : les centres parasympathiques viscéromoteurs destinés au tractus digestif sont situés à la fois dans le tronc cérébral et dans la moelle sacrée (colonne intermédiolatérale de S2 à S4). Les centres sympathiques viscéromoteurs sont localisés dans la colonne intermédiolatérale de la moelle de T1 à L3.

Les centres végétatifs contiennent le corps cellulaire du premier motoneurone viscéral, analogue du premier motoneurone de la motricité somatique, également appelé neurone préganglionnaire [3-5].

1.1.3 Efférences

Les fibres préganglionnaires cholinergiques font synapse avec le deuxième motoneurone viscéral (neurone ganglionnaire), qui possède la propriété remarquable de se situer en dehors du SNC. Le récepteur post-synaptique à l'acétylcholine est à ce niveau en règle générale un récepteur nicotinique dans les deux systèmes (rarement le récepteur est muscarinique dans le parasympathique). Dans le parasympathique, le neurone ganglionnaire se situe à *proximité* de l'organe cible, au sein des plexus nerveux pariétaux. Dans le sympathique à l'inverse, le corps du neurone ganglionnaire est situé à *distance*, dans les chaînes ganglionnaires paravertébrales et prévertébrales. Trois ganglions prévertébraux, reliés aux chaînes paravertébrales par l'intermédiaire des nerfs splanchniques, assurent l'innervation sympathique des organes sous-diaphragmatiques : le ganglion coélique, le ganglion mésentérique supérieur et le ganglion mésentérique inférieur.

Selon le schéma classique, le deuxième motoneurone viscéral contacte directement l'effecteur (fibre musculaire lisse ou glande excrétrice) avec lequel il fait synapse. Dans le parasympathique, le neurotransmetteur impliqué est l'acétylcholine, excitatrice, et le récepteur post-synaptique est de type muscarinique. Dans le sympathique, le neurotransmetteur est la noradrénaline. En réalité, les informations afférentes sont intégrées au sein des plexus nerveux d'organe avant la mise en jeu de l'effecteur [5]. L'exemple le plus simple est la synapse axo-axonale que fait l'axone sympathique post-ganglionnaire à la jonction nerf-effecteur, qui réalise une inhibition présynaptique.

Si cette conception dichotomique de deux systèmes d'action opposée reste valable pour appréhender la physiologie générale du système nerveux autonome, elle est souvent battue en brèche en pratique. Au plan anatomique le ganglion parasympathique, sensé héberger le neurone postganglionnaire, n'est jamais réellement individualisé et est fondu dans un plexus nerveux entourant les organes viscéraux. Au plan biochimique l'existence de neurones ganglionnaires catécholaminergiques et cholinergiques, dans les plexus intrinsèques du cœur ou au niveau des glandes sudoripares, remet un peu plus en cause une ségrégation trop simpliste entre les deux systèmes [6].

1.1.4 Biochimie des neurotransmetteurs

Les deux neurotransmetteurs principaux du SNA sont l'acétylcholine (ACh) et la noradrénaline (NA).

1.1.4.1 Acétylcholine

L'ACh est le fruit d'une réaction réversible au cours de laquelle la choline acétyltransférase (ChAT) transfère un groupe acétyle de l'acétyl-coenzyme A (CoA) à la choline. Sa synthèse est régulée par la disponibilité de la choline, qui est transportée jusqu'aux terminaisons axonales. La majorité de l'ACh est synthétisée dans les boutons terminaux riches en mitochondries, qui fournissent l'acétyl-CoA. L'action synaptique de l'ACh est interrompue par l'acétylcholinestérase qui hydrolyse l'ACh en choline et acétate. La choline est ensuite recyclée par la terminaison axonale mais le transporteur responsable de sa recapture n'a pas encore été identifié.

L'ACh se fixe à deux types de récepteurs. Les récepteurs muscariniques sont des récepteurs métabotropiques à 7 segments transmembranaires, et sont les récepteurs post-ganglionnaires du système parasympathique. Les récepteurs nicotiques appartiennent à la famille des récepteurs-canaux ioniques et servent de récepteurs ganglionnaires dans le sympathique et le parasympathique [4].

1.1.4.2 Noradrénaline

La NA ou norépinéphrine appartient avec l'adrénaline et la dopamine au groupe des catécholamines, caractérisé par un noyau catéchol et un groupe éthylamine en position 1. Tous ces neurotransmetteurs dérivent d'une voie de synthèse unique, qui débute par l'acide aminé tyrosine. La première réaction implique la tyrosine hydroxylase (TH), enzyme limitante de l'ensemble de la voie des catécholamines. Utilisant la tétrahydrobioptérine, Fe^{2+} et O_2 comme cofacteurs, la TH hydroxyle la tyrosine en position 3 pour former la dihydroxyphenylalanine. La décarboxylase des acides aminés aromatiques L (*L-aromatic aminoacid decarboxylase* [AADC]), décarboxylase ubiquitaire et aspécifique, transforme la dihydroxyphenylalanine en dopamine (figure 2). Dans les

neurones noradrénergiques, la voie de synthèse continue par la conversion de la dopamine en NA par la dopamine- β -hydroxylase (DBH).

La synthèse des catécholamines a lieu en majorité dans les terminaisons axonales. Les enzymes nécessaires sont transportées *in situ* depuis le corps cellulaire. La dopamine est synthétisée dans le cytoplasme de la terminaison et est amenée dans des vésicules de stockage par le transporteur vésiculaire des monoamines VMAT2. Ainsi la dopamine est placée à l'abri des enzymes de dégradation comme la monoamine oxydase (MAO). La transformation de la dopamine en NA est intra-vésiculaire, car la DBH est située au sein même des vésicules de stockage et est parfois libérée avec la NA.

Les catécholamines libérées dans le milieu extracellulaire sont soit dégradées par la MAO ou la catéchol-O-méthyltransférase (COMT), soit recapturée par un transporteur spécifique, qui est le DAT (*dopamine transporter*) pour la dopamine et le NET (*norepinephrin transporter*) pour la NA.

Ainsi un neurone noradrénergique ne peut pas être différencié d'un neurone dopaminergique par le marquage de la tyrosine hydroxylase, de la dopamine ou du transporteur vésiculaire VMAT qu'ils contiennent tout deux. Le phénotype noradrénergique peut être établi par la positivité pour DBH ou pour le transporteur spécifique NET. A l'inverse, le neurone dopaminergique est positif pour TH, négatif pour DBH et positif pour DAT.

Les récepteurs à la NA sont tous des récepteurs métabotropiques. On en distingue de nombreux types (récepteurs β_1 , β_2 , α_1 et α_2 qui sont des autorécepteurs inhibiteurs) classés selon leurs effets et leur pharmacologie. Ce sont les récepteurs sympathiques post-ganglionnaires [4].

1.1.5 Le nerf vague

Le nerf vague (X^{ème} paire crânienne) est un nerf mixte puisqu'il contient des fibres sensibles et sensorielles, des fibres somatomotrices et des fibres viscéromotrices et viscérosensibles ; il couvre un territoire exceptionnellement large, innervant la totalité des organes thoraciques, du foie et du pancréas et la majorité du tractus digestif, de son extrémité orale jusqu'aux deux tiers proximaux du côlon [7].

Son noyau viscérosensible, où projettent les neurones viscérosensibles dont le corps est situé dans le ganglion plexiforme, est le noyau du tractus solitaire. Son noyau viscéromoteur est le noyau dorsal du vague, situé dans la moelle allongée dorso-médiale. Centre parasympathique majeur, ce noyau reçoit de multiples afférences du noyau du tractus solitaire, sous le contrôle de voies descendantes issues de la substance réticulée et de l'hypothalamus.

Outre ces noyaux végétatifs, le X possède un contingent somatique sensoriel (assurant la sensibilité du pharynx et du larynx et la gustation marginalement), qui projette sur le noyau du trijumeau (V), et un contingent somatomoteur (innervant notamment la musculature striée du pharynx et de l'œsophage supérieur) issu du noyau ambigu.

Le noyau dorsal du vague fait partie des trois principaux noyaux pigmentés du tronc cérébral.

1.1.6 Le système nerveux entérique au sein du système nerveux autonome

Les neurones des plexus nerveux digestifs ont longtemps été considérés comme des neurones parasympathiques post-ganglionnaires cholinergiques. Ce dogme a été ébranlé par la découverte dans les années 60 de neurones inhibiteurs non adrénérgiques et non cholinergiques (NANC) [8]. La densité du tissu nerveux et la diversité fonctionnelle, électrophysiologique et neurochimique des neurones entériques reflète les fonctions variées et complexes exercées par le SNE. Sa large indépendance, illustrée par l'existence de réflexes intrinsèques, ne permet pas de l'intégrer à la subdivision classique entre sympathique et parasympathique, et depuis Langley il est décrit comme une troisième subdivision du SNA [3, 5].

Cependant, si le SNE constitue de loin le plus grand contingent périphérique du SNA, l'existence de connexions et de circuits réflexes intrinsèques dans d'autres plexus d'organe est possible. Une telle organisation a été démontrée au niveau des ganglions cardiaques, où la régulation autonome du cœur est partiellement indépendante des centres végétatifs [5, 9].

1.2 Organisation du système nerveux entérique

Le tissu nerveux qui constitue le SNE est composé d'un réseau dense de fibres nerveuses intrinsèques et extrinsèques distribué tout au long du tractus digestif. Les fibres intrinsèques proviennent des quelques 2 à $6 \cdot 10^8$ neurones entériques, un chiffre qu'il est classique de comparer au nombre équivalent de neurones dans la moelle épinière [10]. Ces neurones dérivent embryologiquement de cellules du segment vagal de la crête neurale, qui migrent à l'extrémité orale du tractus digestif et le peuplent progressivement selon un gradient oro-anal. La portion la plus distale du tube digestif reçoit une contribution du segment sacré de la crête neurale [11]. Le contingent intrinsèque du SNE possède donc la même origine embryologique que les neurones ganglionnaires du parasympathique.

1.2.1 Morphologie

Le plexus ganglionnaire est l'unité structurelle du SNE ; il existe deux plexus majeurs au sein des parois digestives : le plexus sous-muqueux (PSM) qui contient le plexus de Meissner, et le plexus myentérique (PM) ou plexus d'Auerbach ([figure 3](#)). Le PSM est situé dans la sous-muqueuse, et le PM

se situe dans le plan entre la couche longitudinale (externe) et circulaire (interne) de la *muscularis propria*. Le PSM comprend en réalité plusieurs plexus reliés par d'abondantes connexions nerveuses : un PSM externe (dit plexus de Schabadasch), minoritaire, immédiatement sous-jacent à la couche circulaire de la musculature ; et un PSM interne (le plexus de Meissner à proprement parler), majoritaire, immédiatement sus-jacent à la *muscularis mucosæ*. Un troisième plexus ganglionnaire est parfois décrit entre le plexus de Meissner et le plexus de Schabadasch, et des plexus aganglionnaires assurent l'innervation de chaque couche du tube digestif, de la muqueuse à la séreuse [7, 10, 12-14].

Le PSM est surtout développé dans le grêle, et est absent ou à l'état de reliquat dans le tractus digestif supérieur jusqu'à l'estomac inclus. Le PM et le PSM se présentent comme un maillage serré de fibres et de faisceaux de fibres nerveuses couvrant toute la circonférence du tube digestif, et continu sur l'ensemble du tractus. Les nœuds ou ganglions nerveux se situent aux points de jonction des fibres nerveuses, et sont formés d'un amas serré de cellules gliales entériques (CGE) et de neurones. Les ganglions du PM sont plus volumineux et possèdent plus de neurones que ceux du PSM. Les neurones entériques sont largement interconnectés au sein du ganglion, avec les ganglions adjacents et avec les ganglions des autres plexus.

Les fibres nerveuses contenues dans les plexus nerveux ont deux origines :

- l'innervation extrinsèque désigne les axones originaires de neurones situés en dehors du SNE (pour la plupart fibres post-ganglionnaires sympathiques ou parasympathiques), qui projettent sur les neurones du SNE ou rarement directement sur les effecteurs.
- l'innervation intrinsèque, la plus abondante, désigne les neurites provenant des neurones des différents plexus du SNE ; ces fibres projettent sur d'autres neurones (interneurones) ou sur les effecteurs de la paroi digestive (fml ou glandes).

Les nombreux vaisseaux sanguins de la muqueuse digestive, souvent situés à proximité des ganglions nerveux, reçoivent une abondante innervation intrinsèque et extrinsèque d'origine sympathique.

1.2.2 Neuromédiateurs du système nerveux entérique

Si le tissu nerveux est bien individualisé au sein de la paroi digestive, il n'est séparé du milieu environnant que par une lame basale et une inconstante enveloppe de cellules interstitielles et de tissu conjonctif. Cela explique l'influence sur le tissu nerveux d'hormones ou de neuromédiateurs libérés à distance de façon paracrine. Les contacts entre le neurone moteur viscéral et l'organe cible sont moins bien différenciés que la jonction neuromusculaire du système moteur somatique : les terminaisons présynaptiques sont nombreuses, localisées sur les nombreuses varicosités de

l'arborisation axonale terminale ; les structures post-synaptiques sont moins ordonnées et plus dispersées que la plaque motrice, et les neuromédiateurs peuvent diffuser sur plusieurs centaines de micromètres avant de trouver un récepteur [3, 7].

Ces données illustrent les frontières floues entre sécrétion endo/paracrine humorale et neurotransmission dans ce système nerveux moins différencié que le SNC. Une trentaine d'agents neuro-humoraux ont été identifiés dans le SNE et peuvent être classés en fonction de leur action excitatrice ou inhibitrice sur la motilité digestive (tableau 2). La plupart peuvent être exprimés par les neurones, même si leur implication directe dans la transmission synaptique reste parfois à démontrer [15, 16]. Certains sont également sécrétés par d'autres types cellulaires (cellules entérochromaffines, cellules endocrines, mastocytes, etc.) Ces neuromédiateurs entériques sont des petites molécules (noradrénaline [NA], acétylcholine [ACh], sérotonine [5-HT]), des bases puriques (adénosine, adénosine tri-phosphate [ATP]), des peptides (tachykinines [substance P et neurokinine A], vasointestinal peptide [VIP], *calcitonin gene-related peptide* [CGRP], somatostatine [som]) ou des gaz (protoxyde d'azote [NO]).

Les neurones entériques expriment en général une combinaison de plusieurs de ces neuromédiateurs, définissant leur codage ou phénotype neurochimique. Un neuromédiateur principal peut être associé à un ou plusieurs co-neurotransmetteurs. Leur action varie en fonction du type de récepteur.

Comme dans le SNC, les synapses du SNE sont axo-somatiques, axo-axonales ou axo-dendritiques. La transmission synaptique provoque :

- un potentiel post-synaptique excitateur (PPSE) rapide (*fEPSP* pour *fast excitatory post-synaptic potential*) si un récepteur-canal ionique est impliqué ; l'acétylcholine se liant aux récepteurs nicotiques est le neuromédiateur principal des *fEPSP*, 5-HT et ATP plus rarement.
- un PPSE lent (*slow EPSP* ou *sEPSP*) s'il s'agit d'un récepteur métabotrope ; plus d'une vingtaine de neuromédiateurs ayant cet effet ont été décrits (VIP, CGRP, etc.)
- un potentiel postsynaptique inhibiteur (PPSI) : ATP, som, NA, etc.
- une inhibition (rarement une facilitation) présynaptique, notamment au niveau des synapses axo-axonales de la jonction neuromusculaire : noradrénaline avant tout, mais aussi acétylcholine, etc. La noradrénaline est exclusivement réservée aux projections extrinsèques des neurones sympathiques post-ganglionnaires.

1.2.3 Neurones entériques

Les neurones entériques peuvent être classifiés en fonction de leur localisation, de leur morphologie (la classification de Dogiel, histologiste russe de la fin du XIX^{ème} siècle, est encore utilisée), de leurs caractéristiques électrophysiologiques ou de leur phénotype neurochimique. Les progrès réalisés dans la compréhension de la physiologie du SNE permettent désormais d'en envisager une classification fonctionnelle, qui intègre largement les précédentes. Qualifier le SNE de centre nerveux sous-entend que l'innervation intrinsèque du tube digestif comprenne des neurones afférents, des interneurones et des neurones efférents connectés aux effecteurs. Ces trois catégories de neurones sont mises à contribution dans les réflexes locaux ou réflexes entéro-entériques.

1.2.3.1 Neurones afférents

On distingue parmi les neurones afférents intrinsèques les neurones afférents primaires intrinsèques (IPANs) et les neurones intestinofuges. Ces deux types de neurones afférents s'ajoutent aux neurones afférents viscérosensibles sympathiques et parasympathiques.

Situés à la fois dans le PSM et le PM, les IPANs répondent à des stimuli mécaniques (déformation de la muqueuse, distension des fml) et chimiques (variation du pH intraluminal). La sensibilité à la déformation de la muqueuse et aux variations de pH est indirecte, et fait intervenir les cellules entérochromaffines de l'épithélium digestif qui libèrent des facteurs comme la sérotonine en réponse à ces stimuli [17]. Ces neurones possèdent un large soma rond ou ovalaire et une arborisation axonale et dendritique longue et ramifiée (Dogiel type II), et sont caractérisés sur le plan électrophysiologique par un potentiel d'action (PA) mixte, sodique et calcique, et par une hyperpolarisation prolongée (neurones AH pour *after-hyperpolarization*). Cette relation morpho-électrophysiologique est cependant moins claire chez l'homme que chez le rongeur [13]. Leurs dendrites innervent les villosités, et leur arborisation axonale projette de façon circonférentielle sur les interneurones et les motoneurones du PMS et du PM [18]. Les IPANs sont cholinergiques et tachykininergiques et expriment également le CGRP [19].

Les neurones intestinofuges sont situés dans le PM et projettent sur des neurones du ganglion sympathique de façon indépendante du système sympathique puisque les centres spinaux n'interviennent pas dans la boucle réflexe. Ils répondent essentiellement à la distension intestinale [18].

1.2.3.2 Interneurones

Les interneurones ont une morphologie Dogiel type I (courts prolongements dendritiques et long axone unique) et sont des neurones S (pour *synaptic*) sur le plan électrophysiologique (potentiels post-synaptiques excitateurs courts et de large amplitude, PA exclusivement sodique et absence

d'hyperpolarisation prolongée autorisant une haute fréquence de décharge). Connectés entre eux pour former une chaîne d'excitation ascendante ou descendante, ils reçoivent également des afférences des IPANs.

Les interneurones ascendants sont des neurones exclusivement cholinergiques. Les interneurones descendants ont un codage neurochimique plus complexe : les interneurones exprimant ACh/NO/VIP/som sont impliqués dans les réflexes péristaltiques locaux, et les interneurones ACh/5-HT sont impliqués dans les réflexes sécrétomoteurs locaux [14, 19].

1.2.3.3 Neurones efférents

Ces neurones sont connectés aux effecteurs que sont les fml de la paroi digestive au premier chef (motoneurones), mais aussi les glandes, les vaisseaux et les cellules immunitaires de la sous-muqueuse (il s'agit alors de neurones sécrétomoteurs). Ils sont tous Dogiel I/S.

Les motoneurones sont soit excitateurs soit inhibiteurs, et s'adressent à la couche circulaire ou longitudinale de la *muscularis propria*, ou encore à la *muscularis mucosæ*. Ils sont situés dans le PM en majorité, mais également dans le PSM. Les motoneurones excitateurs sont principalement cholinergiques et tachykininergiques. Les motoneurones inhibiteurs sont principalement nitreurgiques (ils libèrent un gasotransmetteur inhibiteur, le NO, grâce à l'enzyme neuronale NO synthase [nNOS]), mais peuvent exprimer également VIP, ATP, etc.

Les neurones sécrétomoteurs sont situés dans le PSM et sont cholinergiques ou VIPergiques. L'acétylcholine libérée contacte les récepteurs métabotropiques muscariniques des effecteurs [13, 14, 19].

La caractérisation la plus aboutie des neurones entériques a été réalisée sur l'intestin grêle du cochon d'Inde, modèle animal privilégié qui a permis leur classification fonctionnelle exhaustive. Les données ne sont que partiellement transposables chez l'homme du fait d'importantes différences inter-espèces [13]. Le phénotypage neurochimique des populations neuronales entériques est récent chez l'homme [20]. Il confirme que les neurones cholinergiques forment la population dominante dans tous les segments du tube digestif, et qu'ils co-expriment le plus souvent VIP, à l'exception remarquable du PSM colique où neurones VIPergiques et catécholaminergiques forment deux contingents [20]. Dans le SNE cependant, comme nous l'avons vu, le phénotype cholinergique ne suffit pas à définir une classe fonctionnelle de neurones puisque les neurones viscérosensibles, les interneurones et les motoneurones peuvent utiliser l'acétylcholine, ce qui souligne la nécessité d'une caractérisation plus complète. La deuxième population en fréquence est celle des neurones

nitroergiques, en général distincts des cholinergiques (la co-expression ChAT/NOS est rare [21]). Une frange marginale (5%) de la population neuronale totale n'est ni cholinergique ni nitroergique.

1.2.3.4 Une sous-population dopaminergique

La présence de dopamine dans le tube digestif est connue de longue date en tant que précurseur sur la voie de synthèse de la NA dans les fibres sympathiques noradrénergiques (figure 2). Son action inhibitrice notoire sur la motilité intestinale était initialement attribuée à une sensibilité croisée des récepteurs à la NA. Une étude récente du codage neurochimique chez l'homme révèle cependant une sous-population de neurones exprimant la TH et le transporteur vésiculaire monoaminergique VMAT2, mais négative pour la DBH et 5-HT, et par conséquent obligatoirement dopaminergique [20]. Le SNE étant dénué de neurones intrinsèques noradrénergique, tout neurone entérique exprimant la TH peut être en réalité considéré comme dopaminergique. Cette sous-population dopaminergique évolue en proportion du nombre total de neurones selon un gradient dégressif oro-anal, représentant de 4 (dans le côlon) à 20% (dans l'estomac) des neurones myentériques, et de 0 (dans le côlon) à 20% (dans l'estomac) des neurones sous-muqueux [20].

Dans une étude antérieure [22], la proportion de neurones coliques exprimant la TH atteignait 12 et 15% dans le PM et PSM, respectivement. Cette différence importante s'explique vraisemblablement par la méthodologie différente (immunohistochimie sur coupes transversales incluses en paraffine, dans le premier cas, et immunofluorescence de surface sur préparations disséquées [*whole-mount*] dans le second).

La présence d'un contingent dopaminergique dans le SNE a été depuis confirmée chez l'animal [23], de même que celle de récepteurs dopaminergiques intrinsèques, majoritairement de type D2 [24]. Présents dans le PM et dans une moindre mesure le PSM, les neurones dopaminergiques exerceraient une fonction de modulation inhibitrice de la motilité digestive [25]. La proportion de neurones dopaminergiques augmente fortement dans la dénervation sympathique expérimentale, vraisemblablement pour compenser l'absence d'inhibition sympathique extrinsèque [23].

1.2.4 Autres populations cellulaires

L'appareil musculaire du tube digestif est constitué de larges faisceaux de fml formant des syncytiums électriques par l'intermédiaire de jonctions communicantes (*gap junctions*). Contrairement au SNC où l'unité motrice n'est reliée qu'à un motoneurone, ces unités fonctionnelles musculaires (« unités motrices ») sont contactées par des centaines de fibres nerveuses et subissent l'influence de multiples neuromédiateurs et facteurs neuro-hormonaux.

Les cellules interstitielles de Cajal, probablement liées aux fml par des jonctions communicantes (*gap junctions*), sont les cellules *pacemaker* du SNE. Leur action est de faire osciller le potentiel de membrane des fml. Les cellules interstitielles génèrent une contraction propagée coordonnée des fml sur de longues distances (ondes lentes). Cette activité propulsive purement myogène est inhibée ou modulée par le SNE, par action directe sur les fml ou par l'intermédiaire des cellules de Cajal qui reçoivent une abondante innervation [12].

Les cellules gliales entériques (CGE) possèdent de nombreuses propriétés morphologiques et fonctionnelles communes avec l'astroglie du SNC. Quatre fois plus nombreuses que les neurones, les CGE forment un dense réseau cellulaire au sein du tissu nerveux entérique (dans les ganglions, les faisceaux interganglionnaires, le long des nerfs extrinsèques) et dans la *lamina propria*, en contact intime avec le pôle basal de l'épithélium digestif et avec les vaisseaux de la sous-muqueuse [26]. Leur fonction trophique et cytoprotectrice vis-à-vis des neurones dont elles régulent l'activité (par exemple en assurant la synthèse de précurseurs de neuromédiateurs) n'est que l'un des aspects de leur activité. Les CGE sont nécessaires au maintien de la perméabilité de la barrière muqueuse épithéliale, et jouent un rôle de premier plan (en tant que présentateur d'antigène ou par la sécrétion de cytokines) dans la réponse inflammatoire [27].

1.3 Physiologie du système nerveux entérique et interactions avec le système nerveux autonome

Les expériences fondatrices de Bayliss et Starling en 1899 (sur l'intestin grêle) et 1900 (sur le côlon) démontrent que le tube digestif isolé (c'est-à-dire dénervé) se contracte de façon polarisée, oro-anale, en réponse à un stimulus mécanique ou de façon spontanée [28]. Langley établit à leur suite, en 1905, que cette réponse persiste après dégénérescence wallérienne des afférences autonomes extrinsèques, et qu'il ne s'agit donc pas d'un réflexe d'axone [29]. Ce réflexe local ou intrinsèque est la preuve expérimentale de l'existence de centres nerveux en dehors du SNC. Leurs bases morphologiques et biochimiques ont depuis été élucidées.

Le SNE ne fait pas que coordonner la motilité digestive : il est impliqué dans le contrôle du flux sanguin, de l'absorption et de la sécrétion muqueuse, et de certaines fonctions immunitaires et endocrines, dépassant le cadre de l'exposé.

1.3.1 Activité motrice intrinsèque

1.3.1.1 Le réflexe péristaltique

Le réflexe péristaltique associe une contraction orale et une relaxation anale du muscle circulaire en réponse à une stimulation mécanique ou chimique locale de la muqueuse ou à une distension du tube digestif.

Les IPANs du PSM et du PM sont les afférences de ce réflexe, et projettent circonférentiellement pour faire synapse avec d'autres IPANs et de courts interneurons cholinergiques ascendants formant une chaîne d'excitation (figure 4). Ces interneurons contactent finalement des motoneurons excitateurs cholinergiques et tachykininergiques. La voie inhibitrice descendante implique probablement une deuxième catégorie d'IPANs faisant synapse avec de longs interneurons descendants au codage neurochimique plus complexe, liés par une synapse excitatrice à des motoneurons inhibiteurs nitroergiques. Les motoneurons de la voie ascendante projettent sur le muscle circulaire, et probablement aussi sur le muscle longitudinal [30, 31].

Le réflexe péristaltique a d'autres composantes dont les bases neurales sont moins bien définies : relaxation musculaire à l'endroit où est appliquée la distension (réflexe d'accommodation), contraction conjointe du muscle longitudinal favorisant le raccourcissement du segment digestif et la propulsion, et transmission de la contraction du muscle circulaire en direction anale sur une courte distance. La voie excitatrice descendante responsable n'a jamais été mise en évidence [12].

1.3.1.2 Les réflexes entéro-entériques

Ces réflexes mettent en jeu *les* neurones intestinofuges du PM, activés directement par la distension colique ou indirectement par les IPANs. La résultante est une inhibition de la motilité du segment digestif situé en aval. C'est ce type de réflexe qui inhibe par exemple la motilité gastrique en réponse à la réplétion et à l'acidité jéjunale. Ils ne sont pas à proprement parler intrinsèques puisque l'efférence principale est un neurone ganglionnaire sympathique, mais ne constituent pas un réflexe central puisqu'ils surviennent indépendamment des centres nerveux (si les nerfs splanchniques sont sectionnés) [18].

1.3.1.3 Les complexes moteurs migratoires

Un complexe moteur migratoire est une contraction radiaire du muscle circulaire qui se transmet lentement en direction anale, de proche en proche, sur une longue distance. Cette contraction apparaît spontanément, de façon rythmique, à une fréquence variable selon la région du tube digestif considérée. Ces complexes sont dépendants de l'activité nerveuse puisqu'ils sont supprimés

par la tétrodothine, bloqueur des canaux sodiques. Ils impliquent les motoneurones excitateurs du muscle circulaire, et vraisemblablement une chaîne d'interneurones descendants [30, 32].

Le SNE a donc à disposition un certain nombre de programmes moteurs spontanés ou réflexes, qu'il coordonne entre les différents segments du tube digestif et ajuste aux stimuli. Son fonctionnement autonome n'est que modulé par les afférences extrinsèques, qui restent au second plan pour le contrôle du péristaltisme, mais jouent un rôle plus important dans des régions circonscrites du tube digestif.

1.3.2 Rôle des systèmes sympathiques et parasympathiques

L'innervation extrinsèque parasympathique et sympathique intervient surtout dans les régions d'interface entre SNA et système nerveux somatique, où les fonctions digestives résultent d'une coordination intime entre motricité volontaire, réflexe et autonome. Il s'agit du pharynx, de la portion striée de l'œsophage et de la région du plancher pelvien et du sphincter anal. Les troubles de déglutition ou de défécation sont souvent multifactoriels, résultant de l'atteinte motrice combinée somatique et viscérale.

Le rôle respectif de l'innervation extrinsèque et intrinsèque peut être plus aisément appréhendé dans des régions dépendant exclusivement du SNA, sans intervention de la motricité somatique, comme l'estomac ou le côlon. L'innervation extrinsèque y joue un rôle de coordination de la vidange gastrique et du péristaltisme intestinal. Schématiquement, le parasympathique est l'accélérateur de la motricité et de la sécrétion digestive, tandis que le sympathique en est le frein.

1.3.2.1 Vidange gastrique

L'estomac est fonctionnellement divisé en un réservoir proximal, le fundus, et une pompe distale, l'antrum. Le fundus présente une contraction tonique adaptée au contenu gastrique, et l'antrum possède une activité phasique à type de contraction circulaire propagée. La musculature fundique est innervée par des motoneurones excitateurs et inhibiteurs, eux-mêmes sous la dépendance du SNE et des afférences parasympathiques. De la balance entre excitation et inhibition dépend le volume du réservoir, qui doit s'adapter au contenu, et la pression intragastrique, nécessaire à la propagation du bol alimentaire vers l'antrum. Cette adaptation continue met en jeu un réflexe vago-vagal.

Trois types de réponses réflexes sont décrits pour le fundus : la relaxation de réception est déclenchée par la déglutition, et prépare le fundus à recevoir le bol alimentaire. Les afférences sont les fibres viscérosensibles du vague issues de récepteurs pharyngés et les efférences sont ses fibres viscéromotrices faisant synapse avec les motoneurones inhibiteurs. La relaxation d'adaptation est également un réflexe vago-vagal déclenché par les récepteurs à l'étirement de la musculature

fundique. La relaxation rétroactive est un réflexe à la fois intrinsèque (réflexe entéro-entérique) et vagal évoqué par la présence de nutriments dans le jéjunum [33].

La relaxation de réception et d'adaptation est abolie en cas de lésion vagale. Les patients rapportent une sensation de réplétion gastrique, des nausées et un ballonnement post-prandial. L'abolition ou la désorganisation des contractions antrales, en revanche, serait plus spécifique de l'atteinte intrinsèque du SNE [7].

1.3.2.2 Motricité intestinale

La motricité digestive est essentiellement constituée par deux types d'activité liés à l'alimentation : en période de jeûne, l'activité digestive est limitée aux complexes moteurs migratoires qui, en assurant une motricité intestinale de fond, limiteraient la pullulation bactérienne. En période postprandiale, des mouvements de propulsion et de malaxage impliquant exclusivement les réflexes intrinsèques (notamment péristaltique) alternent avec des périodes de quiescence. Cette activité digestive est évoquée par l'arrivée du bol alimentaire et par sa composition chimique (les lipides, et notamment les triglycérides à chaîne moyenne, sont le stimulus le plus efficace pour supprimer les complexes moteurs migratoires et déclencher la transition jeûne-digestion).

Le rôle de l'innervation extrinsèque est modeste, puisqu'il persiste un péristaltisme efficace sur le tube digestif désafférenté. Cela étant, on observe dans les modèles animaux de dénervation extrinsèque une intrication des deux types d'activité, avec la persistance de complexes moteurs migratoires en période postprandiale, soulignant le rôle de coordination du SNA dans la transition jeûne-digestion [33].

1.4 Pathologie du système nerveux entérique

1.4.1 Le concept de neuropathie digestive

Le concept de neuropathie digestive, qui rassemble les pathologies caractérisées par une atteinte du SNE, est récent et mal délimité. Plusieurs raisons peuvent être évoquées pour expliquer que ce champ de la neurogastroentérologie ait été relativement délaissé [34] :

- Les atteintes les plus courantes du SNE s'associent à une neuropathie extrinsèque (c'est-à-dire à une dysautonomie) permettant de porter relativement aisément le diagnostic ; c'est le cas par exemple du diabète ou de l'amylose.
- Le répertoire sémiologique limité du tube digestif empêche l'identification de signes cliniques spécifiques : dysphagie, gastroparésie, constipation, pseudo-obstruction ou incontinence peuvent résulter de causes diverses (obstructives, musculaires, centrales,

dysautonomiques...) et n'appellent pas pour l'instant, causes obstructives à part, un traitement spécifique, ce qui limite l'intérêt d'explorations diagnostiques poussées.

- Les atteintes primitives isolées du SNE sont rares, mais les atteintes secondaires ou satellites d'un processus pathologique identifié sont fréquentes (atteinte du SNE dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin par exemple).

Les principales neuropathies entériques sont regroupées dans le tableau 3 et ne seront pas détaillées dans le texte. Elles peuvent être classées en maladies génétiques et développementales, maladies inflammatoires à médiation humorale ou cellulaire, mitochondriopathies, troubles du codage neurochimique, ou maladies neurodégénératives. Leur point commun est un trouble majeur de la motilité digestive allant jusqu'à l'atonie.

1.4.2 Exploration des neuropathies digestives

Après élimination des causes obstructives par l'examen endoscopique ou radiologique approprié, les explorations fonctionnelles digestives sont un apport précieux au diagnostic de neuropathie digestive.

Les études de transit (marqueurs radio-opaques comme dans la mesure du temps de transit colique, scintigraphie dynamique, test respiratoire au lactulose) confirment la dysmotilité digestive et en précisent le siège.

La manométrie (oesophagienne, gastrique, du grêle, colique, recto-sigmoïdienne ou ano-rectale) peut aisément distinguer un profil neuropathique d'un profil myopathique (myopathies du muscle lisse) ou d'un aspect de lutte (dans les causes obstructives). Elle peut en théorie différencier un aspect de dénervation (respect de la motricité intrinsèque) d'un aspect de neuropathie digestive intrinsèque, mais y rencontre en pratique souvent ses limites. L'abolition du réflexe recto-anal inhibiteur (intrinsèque) peut être secondaire à la distension rectale quelle qu'en soit la cause, et une dyschésie terminale entraînera à force une dilatation colique, un allongement du temps de transit et une diminution du péristaltisme.

Les examens électrophysiologiques de surface (électrogastrographie [EGG]) ou endoluminaux (EMG colique sur 24 heures) sont des techniques intéressantes mais peu employées. L'électrogastrographie (EGG) est une technique d'électromyographie de surface détournée pour l'enregistrement trans pariétal de l'activité myoélectrique de l'estomac [35]. L'enregistrement a lieu en décubitus, paroi abdominale relâchée. Le signal myoélectrique global est intégré, et de son spectre de puissance sont déduits la fréquence dominante, sensée représenter la fréquence des ondes lentes gastriques (norme 3/min), et la puissance à la fréquence dominante, sensée représenter la contractilité. La

normalité est définie comme un pourcentage de dysrythmie (<2 ou >4 ondes lentes/min) inférieur à 30% de la durée de l'enregistrement et une augmentation de la puissance en post-prandial. Si l'EKG est performant pour établir le diagnostic de gastroparésie, son utilité pour discriminer son étiologie reste discutée [36].

Les indications des biopsies digestives chirurgicales, qui peuvent potentiellement apporter un diagnostic de certitude dans les suspicions de neuropathie digestive, ne sont pas bien définies. La nécessité de biopsies profondes incluant le PM, procédure essentiellement chirurgicale, lourde et non dénuée de risque, explique en partie qu'on y ait peu recours [37]. Des progrès dans les techniques de biopsies endoscopiques modifieront peut-être les pratiques diagnostiques à l'avenir.

1.4.3 Maladies neurodégénératives du système nerveux entérique

Les maladies neurodégénératives du SNE forment une entité controversée [34]. La maladie à inclusions nucléaires intraneuronales est une affection rarissime dont le caractère neurodégénératif n'est pas discuté. Vraisemblablement d'origine génétique [38], elle se présente comme une pseudo-obstruction intestinale chronique. Caractérisée par une perte neuronale massive dans le PM associée à des inclusions protéiques nucléaires éosinophiles, la maladie est diagnostiquée par biopsie rectale profonde. Il existe vraisemblablement un continuum pathologique entre des formes purement digestives [38, 39] et des formes associées à une atteinte du SNC parfois massive et fatale, comportant un syndrome cérébelleux et un syndrome parkinsonien juvénile [40]. Les inclusions hyalines nucléaires retrouvées également dans le SNC les rapprochent du groupe des maladies à expansion de triplets [41, 42]. Conceptuellement intéressante malgré sa rareté, la maladie à inclusions nucléaires intraneuronales fournit un exemple inédit de maladie neurodégénérative dont le diagnostic neuropathologique peut être établi par l'étude du SNE. L'existence de formes digestives pures pose la question de l'origine neurologique de certains troubles fonctionnels intestinaux actuellement considérés comme idiopathiques.

Des maladies digestives plus courantes pourraient à terme entrer dans cette catégorie, soit parce que leur caractère idiopathique est remis en cause par l'identification de lésions subtiles du SNE, soit parce que l'atteinte du SNE semble primitive, sans cause auto-immune, infectieuse (ou génétique) connue. La constipation fonctionnelle et l'achalasia de l'œsophage en constituent deux exemples.

Des travaux convergents font état d'altérations du SNE dans la constipation sévère chronique et la pseudo-obstruction intestinale chronique, avec une hypoganglionose (diminution du nombre de neurones par ganglion) et une diminution du nombre de cellules interstitielles de Cajal [43]. La question en suspens est bien entendu de déterminer si ces anomalies sont primaires ou secondaires.

L'association fréquente entre maladies neurologiques et constipation est peut-être un argument supplémentaire en faveur d'un lien de causalité [44].

L'achalasie de l'œsophage est caractérisée par une disparition du péristaltisme associée à un trouble de relaxation du sphincter inférieur de l'œsophage, dont le diagnostic est posé par la manométrie. Caractérisée par une dysphagie prédominant aux liquides, la maladie peut survenir à tout âge, mais il existe un pic d'incidence à la septième décennie [45]. D'étiologie inconnue, la maladie résulte d'une dégénérescence sélective des neurones inhibiteurs intrinsèques (VIPergiques et nitrergiques) du SNE. Les pistes autoimmunes et infectieuses fréquemment évoquées n'ont jamais été confirmées [46].

1.4.4 Altérations du système nerveux entérique avec l'âge

L'exemple le plus commun de neurodégénérescence dans le SNE est fourni par le vieillissement. Les altérations du SNE liées à l'âge n'ont pas fait l'objet d'études approfondies chez l'homme mais une perte neuronale semble acquise, notamment dans les segments les plus distaux (une perte neuronale de 40% dans le PM du côlon a été rapportée [47]). Ces altérations pourraient en partie rendre compte de la forte prévalence des troubles fonctionnels intestinaux, au premier plan desquels la constipation, chez les sujets âgés.

Des études plus poussées ont été menées chez l'animal, et les résultats semblent concordants entre les espèces, même si des facteurs alimentaires doivent être pris en compte [48]. La perte neuronale et gliale estimée par la densité neuronale est continue à partir de l'âge adulte, importante (avec une perte d'environ un tiers au cours de la vie) et suit un gradient oro-anal [49, 50]. Certains neurones semblent plus vulnérables à ce processus dégénératif, qui semble affecter préférentiellement les neurones cholinergiques et respecter les neurones nitrergiques [51] ; les IPANs pourraient également subir une perte rendant compte de l'émoussement des réflexes intrinsèques [48].

En outre, des altérations de l'innervation extrinsèque sympathique ont été rapportées chez le rat Fischer 344 dès l'âge de 8 mois, et leur fréquence augmente nettement avec l'âge. Chez le rat âgé, l'immunomarquage de la tyrosine hydroxylase, qui visualise le réseau des fibres extrinsèques, met en évidence des fibres gonflées, variqueuses, très dystrophiques, formant parfois des amas à proximité des neurones dans les ganglions. La proportion de fibres immunoréactives décroît en parallèle, signant la dénervation sympathique. Des altérations neuritiques du même ordre sont décrites dans une moindre mesure sur les fibres nitrergiques [51]. Fait majeur, avec l'âge, des neurites dystrophiques, certains prolongements axonaux normaux et quelques corps cellulaires sont immunoréactifs pour l' α -synucléine, protéine neuronale commune dont l'agrégation forme les lésions emblématiques de la MP. Ces données ont été confirmées chez la souris âgée.

1.4.5 Une fenêtre sur le système nerveux central ?

Des ouvrages de vulgarisation scientifiques présentent le SNE comme « le deuxième cerveau » [52]. Au terme de cette présentation sommaire, la comparaison paraît en effet légitime. Les caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des neurones entériques et centraux sont semblables, le système de neurotransmission du SNE est au moins aussi complexe que dans le SNC, et des circuits réflexes identiques aux réflexes centraux ont été décrits. La comparaison va au-delà de ces évidences, et des parallèles peuvent être tracés entre des fonctions apparemment totalement distinctes : ainsi le rôle des CGE dans la perméabilité épithéliale est comparé à celui des astrocytes dans le maintien de la barrière hémato-encéphalique [27]. La connexion entre ces deux systèmes est assurée par le SNA et le système endocrinien (les sécrétions neuro-humorales qu'elles soient issues de l'hypothalamus ou du tube digestif constituent une forme transitionnelle de communication). Ce lien est bidirectionnel et sans hiérarchie nette : en modulant l'appétit, certains aspects du métabolisme et la digestion, le SNE agit sur le SNC [53] tout comme le SNC agit sur le SNE dans les circonstances que nous avons décrites.

En pathologie, l'atteinte conjointe des systèmes nerveux central et entérique n'est rapportée que lorsque les manifestations digestives l'emportent sur les signes neurologiques centraux, comme dans le syndrome des anti-Hu ou la maladie à inclusions nucléaires intraneurales. La fréquence des signes fonctionnels digestifs dans les maladies neurologiques laisse suggérer que l'atteinte combinée du SNE pourrait être bien plus commune. Dans ce contexte, l'accessibilité et la plasticité du SNE ouvrent de larges perspectives pour le diagnostic et la recherche.

La MP est le candidat idéal pour éprouver ce paradigme. Dans cette affection, la progression apparemment centripète des lésions du système nerveux autonome laisse penser que l'atteinte du SNE pourrait devancer celle du SNC.

2 Atteinte des systèmes nerveux autonome et entérique dans la maladie de Parkinson

La MP est la deuxième pathologie neurodégénérative en fréquence après la maladie d'Alzheimer [54]. Sa prévalence en Europe a été récemment estimée à 1,8% de la population âgée de plus de 65 ans. Le lien avec l'âge est évident puisque la prévalence passe de 0,6% entre 65 et 69 ans à 2,6% entre 85 et 89 ans [55, 56]. Le diagnostic et le traitement de la MP représentent donc un enjeu de santé publique dans les pays concernés par le vieillissement de la population.

2.1 Phase présymptomatique et manifestations non-motrices

La MP à la phase d'état est caractérisée par une tétrade symptomatique motrice résumée par l'acronyme *TRAP* : *Tremblement*, *Rigidité*, *Akinésie* et *instabilité Posturale*. Parmi ceux-ci les signes cardinaux de la maladie, l'akinésie et la rigidité, sont la conséquence de la dénervation dopaminergique du putamen par une destruction relativement sélective de la substantia nigra pars compacta (SNpc) [57, 58]. Les prolongements des neurones dopaminergiques de la substance noire constituent en effet le tractus nigro-striatal qui projette dans les deux structures du striatum, putamen et noyau caudé. La perte neuronale dans la SNpc est associée à la formation d'inclusions cytoplasmiques hyalines dans les neurones restants nommées corps de Lewy (CL). Quand la gène motrice apparaît, on estime que 60% des neurones dopaminergiques ont dégénéré, et que le putamen a perdu 80% de la dopamine des terminaisons axonales nigro-striatales [58]. A ce stade de MP débutante, où l'atteinte de la SNpc n'est pas massive, certains noyaux non dopaminergiques du tronc cérébral sont déjà touchés par une perte neuronale sévère [59].

Ces données anatomo-pathologiques suggèrent que le processus dégénératif est bien antérieur à l'apparition des signes moteurs. Malgré de larges variations interindividuelles, la durée de cette phase présymptomatique a pu être calculée en corrélant durée des symptômes et perte dopaminergique, mais les estimations s'étalent de 5 [60] à 50 ans [61] selon les études ! Les modélisations les plus récentes, basées sur un suivi longitudinal en neuroimagerie métabolique (tomographie par émission de positons à la ^{18}F -fluorodopa), montrent que le processus dégénératif suit une exponentielle inverse (en contradiction avec les modèles linéaires précédemment retenus), et estiment la phase présymptomatique à 6 ans en moyenne [62]. Ces travaux centrés sur l'atteinte dopaminergique confirment l'hypothèse d'un processus lent et insidieux, qui pourrait être encore allongé si l'atteinte initiale est extra-nigrique.

« Présymptomatique » ne signifie pas « silencieux ». Un certain nombre de signes précurseurs de la MP ont été décrit, souvent non spécifiques (syndrome dépressif) ou communs à d'autres pathologies dégénératives (déficit olfactif). Ils comprennent des troubles neuropsychiatriques, des troubles du sommeil et des troubles dysautonomiques et gastro-intestinaux [63]. De façon plus large, les signes précurseurs appartiennent aux manifestations non motrices de la maladie. Mieux pris en compte par les neurologues [64] mais résistant souvent au traitement dopaminergique [63], ces symptômes non-moteurs retentissent de façon majeure sur la qualité de vie ressentie des patients [63], et dominent le tableau clinique en fin d'évolution de la maladie [65].

Au-delà de l'enjeu thérapeutique, l'attention portée aux manifestations non-motrices a eu la vertu de déplacer l'attention sur les lésions non-dopaminergiques de la MP, et notamment sur celles responsables des signes précurseurs. L'intérêt est double : fondamental d'une part, car il s'agit de mieux comprendre une pathologie complexe qui ne se résume pas, notamment aux deux extrêmes de la maladie, à l'atteinte du neurone dopaminergique [66, 67] ; clinique de l'autre, car un diagnostic précoce au stade présymptomatique (ou plus exactement au stade préMOTEUR) aurait un intérêt évident pour les stratégies de neuroprotection.

Après une revue rapide des hypothèses physiopathologiques récentes, les avancées de la neuropathologie de la MP seront détaillées, avec un accent particulier sur la progression des lésions. L'étude de la distribution des corps de Lewy chez des sujets sans maladie neurologique connue (maladies à corps de Lewy incidentes) pointe les centres végétatifs de la moelle et du tronc comme porte d'entrée de la pathologie dans le SNC. Les signes digestifs et la dysautonomie qui résultent de ces lésions feront l'objet de développements du fait de leur fréquence et de leur complexité. Une atteinte périphérique du système nerveux autonome, et notamment du système nerveux entérique, pourrait y contribuer et devancer même l'atteinte centrale.

2.2 Physiopathologie

A de rares exceptions près, les maladies neurodégénératives sont toutes caractérisées par des agrégats protéiques intra- ou extracellulaires, composés d'un assemblage éclectique de protéases et de protéines de l'inflammation, de protéines de membrane et du cytosquelette, de kinases et de phosphatases et de protéines chaperon [68, 69]. Une protéine prédomine toujours au sein des agrégats, et y forme généralement des polymères de structure amyloïde [70]. L'immunohistochimie est la technique incontournable permettant de les mettre en évidence et d'en identifier la nature.

L'agrégation de l'une parmi les 3 protéines suivantes est impliquée dans la majorité des maladies dégénératives connues, d'expression cognitive ou motrice : la protéine tau, l' α -synucléine et TDP-43

[71-73]. Chacune de ces protéines caractérise un groupe de maladies, et une classification moléculaire a été consacrée par l'usage : la MP se place dans le groupe des α -synucléinopathies, avec la démence à corps de Lewy (DCL), l'atrophie multi-systématisée (AMS) et quelques entités rares.

2.2.1 α -synucléine

L' α -synucléine, composant prédominant des corps de Lewy [72], est une protéine essentiellement neuronale (une expression gliale modeste existe), abondante dans le système nerveux, dont la fonction n'est encore qu'imparfaitement élucidée. Le terme synucléine reflète sa double distribution dans la membrane nucléaire et les terminaisons synaptiques [74]. Comportant 140 aminoacides, l' α -synucléine comprend à son extrémité N-terminale quatre séquences répétées amphipathiques, capables de s'organiser en hélices α , et formant un domaine de fixation aux lipides ([figure 5](#)). Ainsi son rôle supposé est-il lié à sa capacité de fixation aux membranes, notamment vésiculaires : régulation de l'exocytose au niveau présynaptique, en particulier dans les neurones catécholaminergiques [75] ; régulation du transport vésiculaire du reticulum endoplasmique vers le Golgi dans le périkaryon [76] (revue en référence [77]).

L'identification de l' α -synucléine dans les CL a fait immédiatement suite à la découverte de la mutation responsable d'une forme génétique de MP, de transmission autosomique dominante, dans 4 familles méditerranéennes. Cliniquement et histologiquement indiscernables des formes sporadiques, ces MP sont liées à la mutation A53T sur le gène *SNCA* (4q21-22), qui code pour l' α -synucléine [78].

Le rôle de l' α -synucléine en pathologie est largement aussi méconnu. La surexpression de l' α -synucléine par effet de dosage génique (des duplications ou triplications du gène *SCNA* normal sont responsables de MP génétiques [79]) semble suffire à induire la pathologie. La signification des agrégats fait l'objet d'une controverse entre partisans de leur rôle protecteur, par séquestration des protéines surexprimées ou anormales [80], et tenants de leur toxicité, par désorganisation du cytosquelette et perte de fonction de l' α -synucléine ([figure 5](#)).

L'agrégation de l' α -synucléine est précédée de modifications post-traductionnelles, dont la plus constante est la phosphorylation de son résidu sérine 129 [81, 82], qui majorerait sa toxicité [80]. En immunohistochimie, les anticorps anti-phosphosynucléine 129 sont remarquablement spécifiques des inclusions et de l' α -synucléine insoluble. Une petite fraction de l' α -synucléine normale soluble est phosphorylée de façon physiologique [82].

2.2.2 Vulnérabilité génétique *versus* facteurs environnementaux

2.2.2.1 Maladies de Parkinson génétiques

Dans le sillage de la découverte des mutations sur *SCNA*, d'autres formes monogéniques de MP ont contribué à la compréhension de la maladie : à ce jour 7 gènes ont été identifiés, incluant *SCNA*, et 13 locus ont été ciblés par les études d'association [83]. Ces gènes pointent tous vers deux grands mécanismes physiopathologiques : l'inhibition du système ubiquitine-protéasome et le stress oxydatif, variablement associé à un dysfonctionnement mitochondrial.

Le système ubiquitine-protéasome est la voie de dégradation principale des protéines intracellulaires solubles indésirables (c'est-à-dire mutantes, mal conformées, dénaturées ou endommagées). La première étape consiste en un marquage des protéines anormales par une chaîne de monomères d'ubiquitine. Cet étiquetage va permettre la reconnaissance par des protéines-chaperons, qui les dirigeront vers le protéasome. Après déubiquitination, les protéines indésirables sont clivées en petits peptides recyclés par la cellule [84]. En pathologie dégénérative, les agrégats sont presque constamment ubiquitinylés, témoignant de la faillite du protéasome à en assurer la clairance [84, 85]. Dans la maladie de Parkinson en particulier, des mutations ou des polymorphismes sur des gènes codant pour des protéines de ce système (*parkine* et *UCHL1*) ont été associées à la maladie.

Le stress oxydatif désigne l'agression des constituants cellulaires (protéines, acides nucléiques ou lipides) par les radicaux libres que sont les espèces réactives oxygénées (ROS) ou azotées. Impliqué de longue date dans la pathogénie de la MP à cause des propriétés oxydantes de certains métabolites de la dopamine [86], le stress oxydatif pourrait contribuer à la formation des agrégats en altérant la structure et la conformation des protéines. La nitration de l' α -synucléine favorise par exemple son agrégation *in vitro* [87]. Dans ce contexte, une dysfonction mitochondriale est délétère par la carence énergétique qu'elle induit (la dégradation des protéines est coûteuse en énergie) et par la production accrue de radicaux libres par la chaîne respiratoire. Des mutations sur les gènes codant pour 4 protéines impliquées dans la protection contre le stress oxydatif (*DJ1*, *parkine*, *LRRK2*) ou la régulation mitochondriale (*DJ1*, *PINK1*) sont des causes de MP génétique.

Ces arguments forts issus de la génétique doivent cependant être pondérés car certaines mutations n'ont pas été associées à une étude pathologique (*UCHL1*, *DJ1*, *PINK1*), et les mutations de la *parkine* s'accompagnent inconstamment de corps de Lewy, ce qui en fait plus une cause de syndrome parkinsonien génétique que de MP génétique, d'un point de vue strictement histopathologique. Ces formes de MP de transmission mendélienne ne représentent en l'état actuel que de 5% des cas, mais permettent de cibler des acteurs potentiels de la MP [83]. Des études épidémiologiques à grande

échelle sur jumeaux homozygotes et hétérozygotes montrent que les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans le déterminisme de la MP [88].

2.2.2.2 Facteurs environnementaux

Les toxiques environnementaux sont suspectés d'être impliqués dans la pathogénie de la MP depuis la survenue en 1983 de syndromes parkinsoniens dopa-sensibles secondaires à une intoxication à un analogue de la mépéridine, le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) [89]. Sa proximité structurale avec le paraquat largement utilisé dans l'agriculture a généré l'hypothèse qu'une exposition chronique aux pesticides puisse favoriser la survenue d'une MP. Des études épidémiologiques rétrospectives cas-contrôles semblent confirmer un lien entre MP et pesticides, au moins chez les hommes [90].

Réconciliant les hypothèses génétique et environnementale, ces deux molécules et un troisième pesticide, la roténone, se trouvent être de puissants poisons mitochondriaux inhibiteurs du complexe I de la chaîne respiratoire. Récemment un autre toxique mitochondrial, le trichloroéthylène, a été incriminé dans la survenue de la MP [91]. Chez l'animal, leur administration chronique par voie systémique provoque des lésions du système nerveux central, relativement sélectives pour la SNpc dans le cas du MPTP, plus diffuses pour les autres, mais induisant invariablement des signes moteurs attribués à l'atteinte nigro-striatale [92, 93]. La formation d'agrégats d' α -synucléine est par contre inconstante et débattue, et aucun modèle n'a pu reproduire la progression lésionnelle ascendante décrite chez l'homme [94].

Malgré ces réserves, ces arguments épidémiologiques et expérimentaux suggèrent que la MP pourrait résulter à la fois d'une susceptibilité génétique, illustrée par son association avec certains polymorphismes, et d'une exposition chronique à des neurotoxiques [95].

L'implication d'un toxique environnemental ingéré et/ou inhalé est particulièrement plausible à la lumière des données neuropathologiques récentes, qui montrent que les premières structures atteintes dans le SNC sont le bulbe olfactif et les centres végétatifs innervant le tube digestif. A ce titre, un modèle murin d'intoxication orale chronique par la roténone provoque des lésions centrées sur la substance noire avec une surexpression de l' α -synucléine dans les neurones dopaminergiques restants [96]. Les modèles d'intoxication aigue systémique par la roténone présentent des lésions diffuses du SNC avec la formation conjointe d'agrégats de protéine tau et d' α -synucléine, et leur pertinence a pu être critiquée [97, 98]. Ce modèle chronique, avec un mode d'administration plus physiologique, est en revanche très convaincant.

2.3 Neuropathologie

A ce jour, le diagnostic de certitude de maladie de Parkinson ne peut être posé qu'à l'autopsie, par la mise en évidence *a)* d'une perte neuronale et d'une dépigmentation de la SNpc, associée à *b)* la présence de corps de Lewy (CL) dans les neurones restants [99]. Ce dogme reste justifié pour corriger le diagnostic dans les formes atypiques de MP ; les critères diagnostiques actuels ont en effet une valeur prédictive positive excellente mais une sensibilité perfectible, estimée à environ 90% [100].

2.3.1 Inclusions d' α -synucléine

Les inclusions cytoplasmiques d' α -synucléine sont les corps et prolongements de Lewy, dont on doit la description princeps à Lewy en 1912, et la dénomination à Trétiakoff en 1919. Les CL peuvent être séparés, tant morphologiquement que spatialement, en deux entités : les CL classiques, du tronc cérébral, et les CL corticaux.

2.3.1.1 Corps de Lewy

Les corps de Lewy classiques ([figure 6](#)) sont des inclusions neuronales cytoplasmiques sphériques, mesurant 8 à 30 μm de diamètre. Leur cœur éosinophile et hyalin en HE est circonscrit d'un halo pâle. Un neurone peut occasionnellement contenir plusieurs CL. Lorsqu'ils sont situés dans les neurones des noyaux pigmentés du tronc cérébral (noyau dorsal du vague [X], locus coeruleus et substance noire), l'HE suffit amplement à les identifier puisque l'inclusion refoule les pigments de neuromélanine [101] et apparaît alors nettement par contraste. Les corps pâles, plages éosinophiles optiquement vides situées au sein des pigments, seraient des précurseurs de CL [102]. Les corps de Lewy corticaux sont pareillement éosinophiles mais dépourvus de halo. Ils prédominent dans les couches profondes (V-VI) du cortex temporal, cingulaire ou insulaire. A l'inverse des précédents, ils sont difficiles à visualiser en HE et requièrent l'immunohistochimie.

Sur le plan ultrastructurel, les agrégats de synucléine sont formés de filaments de 7 à 20 nm d'épaisseur organisés de façon radiaire, d'un matériel granulaire dense et de quelques structures vésiculaires. L'organisation amyloïde des filaments les rend discrètement affins pour la thioflavine S. A l'instar des autres agrégats, la composition des CL est riche : neurofilaments phosphorylés, protéines chaperon, ubiquitine et autres éléments du système ubiquitine-protéasome [69]. Cependant l'immunohistochimie de l' α -synucléine est la plus sensible et la plus spécifique.

Les CL classiques caractérisent surtout la MP, mais sont également présent en densité variable dans la DCL, et sont retrouvés dans les noyaux pigmentés du tronc cérébral, le noyau dorsal du vague et les noyaux cholinergiques du diencephale (dont le noyau basal de Meynert). Les seconds sont plutôt propres à la DCL et à la démence du Parkinson. Ils ont une prédilection pour les régions limbiques, en

particulier l'amygdale (noyau basal et basal accessoire), et le cortex entorhinal, insulaire et cingulaire antérieur. Au sein du cortex, les CL prédominent dans les couches 5 et 6, les plus profondes, où tous les types de neurones peuvent être atteints.

Les corps de Lewy ne sont pas spécifiques à la MP ou à la démence à corps de Lewy (DCL), et peuvent exister en tant que lésions élémentaires secondaires dans d'autres maladies dégénératives ou chez des sujets cognitivement normaux [103], ce qui a été à l'origine de certaines controverses sur leur caractère véritablement pathogène.

2.3.1.2 Prolongements de Lewy

Les neurites ou prolongements de Lewy sont des neurites dystrophiques présentant la même immunoréactivité que les CL. Invisibles en HE, ils prédominent dans l'amygdale, les champs CA2 et CA3 de l'hippocampe et certains noyaux du tronc cérébral. L'apparition de l'immunomarquage de l' α -synucléine a révélé l'importance insoupçonnée de la pathologie neuritique dans la DCL, qui affecte même les régions normalement dénuées de CL (striatum, thalamus).

2.3.1.3 Immunoréactivité normale à l' α -synucléine

Compte tenu de son abondance dans le système nerveux, l'immunomarquage normal de l' α -synucléine est diffus dans le cortex cérébral, prédominant dans les terminaisons présynaptiques ; il n'existe normalement aucun agrégat [99].

2.3.2 Autres lésions

2.3.2.1 Perte neuronale

A notre connaissance, les seules études stéréologiques estimant la perte neuronale ont été effectuées dans la substance noire [104] ou certains noyaux du tronc cérébral comme le locus cœruleus, ce qui renvoie au paradoxe des maladies neurodégénératives : si la perte neuronale (et synaptique) est leur essence, il s'agit du paramètre le plus difficile à mettre en évidence. Toutefois lorsqu'elle est sévère et survient dans des structures circonscrites comme dans les noyaux pigmentés du tronc cérébral, la perte neuronale est aisément décelable. Dans la MP, la perte cellulaire dans le complexe du locus cœruleus-subcœruleus [105] et dans le noyau dorsal du vague [59] est souvent massive.

Au sein de la SNpc, la destruction prédomine dans sa portion ventrolatérale et caudale, et respecte relativement au début sa portion dorsomédiale [60]. La susceptibilité à la dégénérescence des neurones dopaminergiques dépend de leur distribution au sein de compartiments de la SNpc définis par l'immunomarquage de la calbindin : la mort neuronale est plus importante dans les nigrosomes

(régions pauvrement marquées par la calbindin) que dans la matrice (fortement marquée) [106, 107]. Dès lors, la perte neuronale évolue selon un gradient caudo-rostral, latéro-médial et ventro-dorsal.

2.3.2.2 Réaction gliale et microgliale

Une réaction astrogliale non spécifique accompagne la destruction des noyaux du tronc cérébral, révélée par l'immunomarquage de la protéine gliale fibrillaire (GFAP) [108]. Une activation de la microglie exprimant les marqueurs du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II est à l'origine de la libération locale de cytokines pro-inflammatoires. L'origine primaire ou réactionnelle de la microglie activée est très discutée ; ses effets semblent néanmoins plus délétères que bénéfiques [108, 109].

Des inclusions de synucléine dans les astrocytes et les oligodendrocytes ont été rapportées mais paraissent indépendantes de la réaction gliale [110].

2.4 Progression des lésions et corrélation anatomoclinique

La présence d'inclusions d' α -synucléine chez de nombreux sujets sans atteinte neurologique identifiée est connue de longue date. L'hypothèse posée par Braak que ces lésions incidentes représentent les stades présymptomatiques de maladie à corps de Lewy (maladies à corps de Lewy incidentes) a suscité une vaste étude neuropathologique qui élucide la progression temporo-spatiale grossièrement ascendante des inclusions [111]. Cette classification ne tient pas compte de la perte neuronale.

2.4.1 Lésions encéphaliques

2.4.1.1 Classification de Braak

Elle est le fruit d'une vaste étude transversale sur 168 patients classés en 3 groupes : MP, maladie à CL incidente et contrôles [111]. L'esprit de ce travail, calqué sur la classification de la pathologie neurofibrillaire établie par le même auteur [112], est d'identifier, pour chaque région atteinte, les régions qui sont obligatoirement atteintes avec elle, et les régions qui le sont de façon facultative. Ainsi une progression temporo-spatiale peut être déduite avec une relative confiance. Le postulat de ce système est que les lésions ne régressent jamais et évoluent d'un seul tenant. Depuis, plus de 300 autopsies ont validé a posteriori la pertinence du classement [113].

Les premières lésions encéphaliques apparaissent dans le noyau dorsal du vague, le bulbe olfactif et les noyaux olfactifs antérieurs (stade 1), et gagnent les noyaux du raphé et le locus cœruleus (stade 2). Au stade 3 le mésencéphale et notamment la substance noire sont touchés conjointement à certains noyaux de la base (noyau basal de Meynert) et à l'amygdale. Au stade 4 l'atteinte de

l'amygdale est massive, et s'accompagne de lésions du mésocortex temporal et de la corne d'Amon. Puis l'atteinte corticale gagne l'insula et le cortex cingulaire (stade 5) et le néocortex dans son ensemble (stade 6) (figure 7).

Cette classification fait actuellement l'objet d'un large consensus et est couramment pratiquée en neuropathologie. Dans la démence à CL, la progression pourrait calquer celle de la MP, et l'évolution de la maladie à corps de Lewy vers un phénotype cognitif ou moteur reflèterait simplement une sensibilité différente des structures limbiques ou du tronc cérébral au processus dégénératif [113]. Alternativement, la pathologie pourrait débuter dans l'amygdale et envahir le tronc cérébral de façon descendante [114]. Certains cas cependant (17% dans l'étude de Zaccai *et al.* [114], 18,3% dans celle de Jellinger *et al.* [115]) ne s'intègrent pas bien dans la classification de Braak. Le noyau dorsal du vague notamment serait épargné chez une minorité (8,3%) de patients [115].

2.4.1.2 Corrélations anatomo-cliniques

Même si elle connaît des exceptions, la classification de Braak permet de rendre compte de la totalité des signes précurseurs de la MP [116]. Faute de corrélation anatomo-clinique fiable pour la plupart, le lien entre inclusions d' α -synucléine dans le tronc cérébral et signes précurseurs reste à l'état d'hypothèse.

Au stade 1, l'atteinte du noyau dorsal du vague (cholinergique) contribuerait aux troubles digestifs et dysautonomiques, mais cet aspect sera développé plus loin. Le déficit olfactif appartient aux manifestations non motrices de la MP à la phase d'état [117]. Il est également un signe précurseur : chez les apparentés au premier degré d'un parkinsonien, le risque de développer une MP s'élève à 10% au moins s'ils sont hyposmiques, et est inférieur au risque de la population générale si l'olfaction est préservée [118]. Ainsi il est tentant de relier ces troubles de discrimination olfactive à la présence des inclusions dans le bulbe et les noyaux antérieurs. L'hyposmie est un caractère partagé par l'ensemble des synucléinopathies et d'autres pathologies dégénératives comme la maladie d'Alzheimer.

Au stade 2, l'atteinte du noyau subcœruleus (cholinergique) expliquerait la survenue de troubles du sommeil paradoxal, dont l'initiation dépend chez l'animal de structures proches dans le tegmentum méso-pontin [119]. Un suivi longitudinal sur plus de 5 ans d'une cohorte de 44 patients montre que 40% d'entre eux développent une synucléinopathie (MP pour la plupart, démence à CL pour le reste et un cas d'AMS) [120], ce qui fait des troubles du sommeil paradoxal un signe précurseur relativement spécifique. La classification de Braak est encore confortée par l'observation que plus d'un tiers des patients souffrant de troubles du sommeil paradoxal ont des difficultés de discrimination olfactive [121], et que deux tiers présentent des signes de dysautonomie [122].

L'atteinte du locus cœruleus noradrénergique pourrait contribuer à la dépression et aux troubles anxieux qui inaugurent quelquefois la maladie [123]. En imagerie fonctionnelle, le syndrome dépressif dans la MP est associé à un déficit de l'innervation noradrénergique et dopaminergique limbique [124]. Le locus cœruleus, atteint au stade 2, et l'aire tegmentale ventrale, atteinte au stade 3, en sont respectivement l'origine.

Des corrélations supplémentaires peuvent être établies aux stades supérieurs, notamment avec l'atteinte cognitive, mais elles sont hors du sujet de ce travail.

2.4.2 Lésions médullaires

L'atteinte de la moelle épinière dans la MP était connue [125] mais a été redécouverte peu après la publication des travaux de Braak, avec un intérêt nouveau pour sa chronologie. La progression ascendante des lésions au niveau du tronc cérébral évoque en effet la possibilité d'une atteinte médullaire primitive.

Dans la moelle épinière des parkinsoniens, les inclusions d' α -synucléine prédominent au niveau de la corne intermedio-latérale de la moelle épinière qui contient les neurones préganglionnaires cholinergiques, à l'étage thoracique [126] (système sympathique) comme à l'étage sacré [127] (système parasympathique). Il s'agit essentiellement de neurites de Lewy et d'inclusions punctiformes immunoréactives pour l' α -synucléine. D'autres structures sont affectées, comme la lame I de Rexed au niveau de la corne dorsale et les bords latéraux des cornes dorsale et ventrale [128]. Des prolongements dystrophiques relient la lame I à la colonne intermedio-latérale. Occasionnellement les neurones multipolaires de la corne intermedio-latérale sont marqués dans le périkaryon ou l'ensemble du cytoplasme. Rarement ce marquage granulaire s'organise en véritables CL.

Deux études simultanées parues en 2006 s'intéressent à la chronologie de l'atteinte médullaire [126, 127]. Deux séries de 13 et 17 cas de maladie à CL incidente sont issues de cohortes de 106 et 98 cas autopsiques sans atteinte neurologique clinique (soit une prévalence élevée de 12 et 17% de maladie à corps de Lewy incidente). L'atteinte médullaire y est fréquente dans la première série (9/13), constante dans la deuxième (17/17). Sur les deux cohortes, l'atteinte de la moelle était toujours associée à celle du noyau dorsal du vague. Ces éléments suggèrent que la moelle est atteinte simultanément ou aussitôt après le noyau dorsal du vague, c'est-à-dire aux stades 1 et 2 de Braak.

L'atteinte des centres végétatifs de la moelle épinière contribue sans doute à la dysautonomie et aux troubles digestifs qui seront traités ci-après. L'hypothèse que l'atteinte de la lame I de Rexed serait l'une des causes des douleurs de la MP est plus inédite [128]. A ce niveau convergent en effet toutes

les afférences douloureuses du métamère véhiculées par les fibres C. Si les douleurs ou paresthésies mal systématisées sont fréquentes dans la MP, il ne s'agit pas d'un signe précurseur habituel, peut-être faute de le rechercher.

2.4.3 Quand le système nerveux périphérique devient central

Les découvertes scientifiques majeures de ces dernières années doivent beaucoup à l'essor de la biologie moléculaire, et la recherche sur la MP en a largement bénéficié. Dans ce contexte, il est troublant que de « simples » études histopathologiques aient révolutionné en l'espace de cinq années la conception de la maladie. Comme nous l'avons vu, les travaux fondateurs de Heiko Braak, anatomiste génial exerçant à l'université Goethe de Francfort, dévoilent en 2003 la diffusion ascendante de la maladie dans l'encéphale. Cette progression temporo-spatiale est complétée en amont par l'étude de la moelle épinière en 2006, focalisant l'attention sur les centres végétatifs. Or dès le début des années 80, quelques observations de corps de Lewy dans les ganglions végétatifs et les plexus intrinsèques sont publiées sans déclencher d'intérêt majeur. A la lumière des travaux récents, la barrière anatomique (et « psychologique » pour bien des neurologues) séparant le SNC du système nerveux périphérique peut tomber.

Un scénario très différent voit le jour, qui s'affranchit de l'atteinte longtemps présumée centrale du neurone dopaminergique, et pointe le système nerveux autonome comme porte d'entrée de la maladie dans le SNC. L'idée d'un processus dégénératif débutant dans le système nerveux périphérique et gagnant le SNC par l'intermédiaire des voies autonomes voit le jour [129, 130].

L'hypothèse de l'atteinte périphérique du SNA dans la MP ne peut être étayée que par l'étude de ses manifestations dysautonomiques en général et digestives en particulier. Elle est confortée par un faisceau d'arguments cliniques, physiopathologiques et anatomiques. Les signes dysautonomiques de la MP seront comparés avec ceux de l'atrophie multisystématisée (AMS), qui est un modèle de dysautonomie d'origine centrale, les symptômes étant exclusivement attribués à une perte neuronale massive dans les centres végétatifs de la moelle et du tronc cérébral [131]. L'AMS est une maladie neurodégénérative qui dans sa forme parkinsonienne est un diagnostic différentiel critique de la MP [132].

2.5 Atteinte dysautonomique

L'éventail des manifestations dysautonomiques est large, incluant signes cardiovasculaires, troubles urinaires et génitaux, anomalies de la thermorégulation et de l'accommodation. Les troubles digestifs seront traités à part compte tenu de la complexité du SNE et de ses relations avec le SNA.

2.5.1 Epidémiologie

La dysautonomie affecte à des degrés divers l'ensemble des parkinsoniens. Sa prévalence varie du tout au tout selon que des critères objectifs (recherche d'une hypotension orthostatique) ou d'interrogatoire (sensations vertigineuses à l'orthostatisme) sont utilisés [133]. La formulation des questions influençant beaucoup les résultats, un interrogatoire standardisé a été développé [134]. Ses résultats sur une large cohorte de 421 patients confirment que les troubles digestifs sont les plus fréquentes des manifestations dysautonomiques, et pointent d'autres symptômes entraînant une gêne fonctionnelle importante [135] : l'incontinence urinaire, les troubles de l'érection ou l'hyperhidrose touchent par exemple plus de la moitié des patients, soit une prévalence deux fois supérieure aux témoins appariés en âge. Dans cette étude, les symptômes cardiovasculaires sont moins fréquents qu'habituellement rapporté, affectant un tiers des patients. C'est dans ce domaine que les différences entre paramètres mesurés et signes fonctionnels sont les plus importantes [136].

Le deuxième enseignement de cette étude est l'aggravation de la dysautonomie avec l'âge, la durée d'évolution de la maladie et le traitement dopaminergique (à l'exception remarquable des symptômes cardio-vasculaires qui, contrairement à l'opinion commune, sont largement indépendants du traitement). Des signes dysautonomiques parfois frustes sont présents dès le diagnostic chez la plupart des patients, confortant l'hypothèse d'une atteinte primitive du SNA, et progressent insidieusement avec la maladie. Un cas de dénervation cardiaque sympathique précédant de 4 ans les premiers signes moteurs a été rapporté [137]. De ce point de vue la MP diffère de l'AMS où l'atteinte dysautonomique est d'emblée majeure [138].

2.5.2 Physiopathologie

Diverses modalités d'exploration fonctionnelle du SNA ont été décrites [139]. Les plus importantes sont celles qui s'adressent aux fonctions cardiovasculaires et sudoromotrices, car elles prétendent localiser le siège pré- ou post-ganglionnaire de l'atteinte.

2.5.2.1 Atteinte cardio-vasculaire

L'hypotension orthostatique peut résulter de deux grandes atteintes. Celle du baroréflexe artériel d'abord, qui naît dans les barorécepteurs du cœur et des gros troncs artériels ; son afférence est vagale et son efférence vagale et sympathique. Le baroréflexe est évalué par le monitoring de l'électrocardiogramme et de la pression artérielle après l'injection d'une substance vasoactive ou au décours d'une manœuvre de Valsalva. Son abolition refléterait plus une atteinte centrale ou pré-ganglionnaire [140]. Alternativement la dénervation cardiaque (et vasculaire) sympathique est une atteinte post-ganglionnaire. Elle peut être diagnostiquée par la scintigraphie au méta-iodo-benzyl-guanidine marqué (¹²³I-MIBG), un analogue de la noradrénaline recapturé par les

transporteurs spécifiques (NET) des axones sympathiques. Sa fixation cardiaque reflète le nombre de terminaisons sympathiques. Le dosage plasmatique de la NA basale et après épreuve de provocation (dans le sang veineux mêlé, ou prélevé *in situ* par cathétérisme cardiaque) apporte les mêmes enseignements. Les tests de provocation sont physiques (orthostatisme) ou pharmacologiques (yohimbine).

Toutes les études de la fonction cardiovasculaire dans la MP objectivent une atteinte mixte, à la fois préganglionnaire et/ou centrale et postganglionnaire. Les signes de dénervation cardiaque sympathique sont indiscutables, précoces et confirmés par maintes études : dans la MP, il existe une diminution précoce de la fixation cardiaque physiologique du MIBG [141] et une diminution des réserves de NA plasmatique [142] (revue en [140]). En comparaison, les dosages de neurotransmetteurs et la scintigraphie au MIBG sont normaux dans l'AMS, dans laquelle l'atteinte du baroréflexe seule rend compte de l'hypotension orthostatique [143-145]. L'hypofixation cardiaque différencie également la MP d'autres syndromes parkinsoniens atypiques (dégénérescence cortico-basale, paralysie supranucléaire progressive, ou mutation de la parkine, argument supplémentaire contre son assimilation à la MP [146]). La fiabilité du diagnostic différentiel sur la seule évaluation du SNA reste toutefois discutée [147].

Certains points demeurent obscurs : de nombreux patients ne présentent pas d'hypotension orthostatique malgré de franches anomalies à ces épreuves fonctionnelles [148], et les transplantés cardiaques, modèle de dénervation cardiaque, ne souffrent que transitoirement de symptômes dysautonomiques. Dans la MP l'atteinte supplémentaire de l'innervation vasculaire sympathique, d'une part, et des lésions des plexus intrinsèques cardiaques (de description récente [5, 9]) d'autre part pourraient rendre compte de ces divergences.

2.5.2.2 Atteinte sudomotrice

La dénervation sympathique cutanée peut être évaluée par deux techniques : l'enregistrement réflexe cutané sympathique (mesure des variations de résistance cutanée, liées à la transpiration, après un stimulus sonore brusque), méthode globale dont la reproductibilité est incertaine ; et l'évaluation quantitative du réflexe d'axone sudomoteur (QSART, *quantitative sudomotor axon reflex test*), qui évalue la quantité de sueur produite par méthode hygrométrique à distance d'une administration transcutanée (par iontophorèse) d'acétylcholine.

Les résultats sont conflictuels dans la MP. Une étude rapporte des résultats normaux au QSART, ce que l'auteur interprète comme une spécificité de la dénervation sympathique post-ganglionnaire pour les fibres noradrénergiques (l'innervation sympathique des glandes sudoripares est cholinergique) [142]. Un deuxième travail montre des altérations dans les deux tests mais similaires

dans la MP et l'AMS [147]. Ces données dissonantes remettent en cause la séparation entre MP et AMS, mais demandent à être confirmées.

2.5.3 Atteinte morphologique

Malgré ces incertitudes, la physiopathologie de la dysautonomie dans la MP implique l'association d'une atteinte vagale à une atteinte à la fois pré- et post-ganglionnaire des voies sympathiques. L'identification de corps de Lewy dans l'ensemble des structures du SNA en fournit un substratum pathologique potentiel, mais rares sont les études qui corrélerent les inclusions à la perte axo-neuronale.

2.5.3.1 Des inclusions dans le contingent périphérique du SNA

Avant l'avènement de l'immunomarquage de l' α -synucléine, le premier inventaire exhaustif des corps de Lewy est celui de Wakabayashi *et al.* [125], qui montre que l'ensemble des structures périphériques du SNA peuvent être affectées dans la MP : des inclusions éosinophiles sont retrouvées dans les ganglions sympathiques, dans le plexus sacré, dans le plexus cardiaque et même dans la glande surrénale.

La sensibilité de l'immunohistochimie permet le marquage des inclusions axonales et révèle une atteinte beaucoup plus vaste, avec la présence de corps ou prolongements de Lewy dans les racines nerveuses, dans les nerfs périphériques (où l'on suppose sans pouvoir le prouver que les prolongements porteurs d'inclusions sont des fibres végétatives), dans les fibres pré-ganglionnaires des nerfs splanchniques et du nerf vague, dans les ganglions sympathiques pré- et paravertébraux et dans les fibres post-ganglionnaires chez des sujets parkinsoniens [127-130]. Il persiste une incertitude sur la possibilité d'une atteinte des fibres afférentes autonomes, qui semblent épargnées. Ces lésions sont précoces puisque déjà présentes dans le nerf vague (dans 75% des cas) et dans les ganglions paravertébraux (dans 82% des cas) dans les cas autopsiques de maladies à CL incidentes [127].

2.5.3.2 Etude de l'innervation autonome du cœur

Les travaux de Orimo *et al.* font une avancée décisive [149, 150]. Appliquant la méthodologie décrite par Braak à l'innervation autonome du cœur, ces auteurs comparent les inclusions d' α -synucléine dans les nerfs épicaux (constitués de fibres sympathiques post-ganglionnaires) et les ganglions sympathiques paravertébraux sur 20 maladies à CL incidentes (Braak \leq III), 10 MP (Braak \geq III) et 10 témoins (cas autopsiques indemnes d'inclusions dans le SNC). Trois points supplémentaires singularisent ce travail : l'utilisation pour l'immunohistochimie d'anticorps anti-phosphosynucléine 129, dont la spécificité pour les inclusions pathologiques est établie [81, 82] ; l'estimation semi-

quantitative de la perte axonale (les fibres sympathiques sont révélées par l'immunomarquage de la TH), corrélée à la présence d'inclusions ; et enfin l'étude comparative de 20 cas d'AMS.

Les résultats sont édifiants : dans les maladies à CL, les premiers agrégats d' α -synucléine sont décelés dans les fibres post-ganglionnaires et le myocarde. La progression des agrégats jusqu'au ganglion sympathique coïncide avec la dégénérescence des fibres post-ganglionnaires (diminution de l'immunoréactivité TH et aspect dystrophique). A un stade ultérieur, correspondant à l'entrée dans la MP, la densité des agrégats augmente dans le ganglion para-vertébral et diminue dans les fibres post-ganglionnaires à mesure que celles-ci disparaissent. Des observations similaires dans le SNC attestent d'un nombre à peu près constant de CL dans les noyaux pigmentés du tronc cérébral (estimé à 4% des neurones dopaminergiques), qui diminue finalement quand disparaissent les derniers neurones : les inclusions d' α -synucléine auraient une durée de vie limitée qui correspond à la survie du neurone porteur [99]. Il s'agit d'un argument fort en faveur de la toxicité des CL.

Aucun des témoins ne présente d'inclusions d' α -synucléine périphériques dissociées de l'atteinte centrale, mais l'effectif est modeste. Dans l'AMS le neurone post-ganglionnaire est épargné dans la majorité des cas, confirmant la conception classique d'une dysautonomie principalement centrale. Ainsi la progression centripète de la pathologie peut-elle être appréhendée par l'étude "transversale" de cas autopsiques à différents stades évolutifs.

2.5.3.3 Autres lésions du système nerveux autonome

Dans la ligne des travaux précédents sur l'atteinte initiale et majoritaire des fibres post-ganglionnaire, une dénervation cutanée sympathique a été rapportée dans la MP, en employant des techniques histologiques particulières sur des biopsies cutanées de type *punch biopsies* [151, 152]. La corrélation de ces lésions avec les épreuves cutanées sympathiques reste à établir. L'immunoréactivité pour l' α -synucléine n'a pas été testée.

Dans ce contexte d'atteinte autonome diffuse, une étude histopathologique sur des pièces d'exérèse chirurgicale d'organes abdominopelviens issues de 100 patients neurologiquement indemnes remet totalement en cause la spécificité du marquage de l' α -synucléine dans le SNA [153]. Ce travail publié en 2007 rapporte la présence de CL dans 26,1% des organes vésico-prostatiques analysés, un chiffre trop important pour pouvoir représenter les cas présymptomatiques de MP. Cependant le rôle de la pathologie sous-jacente (néoplasie dans la plupart des cas) et la spécificité de la prostate doivent être pris en compte : la protéine tau, protéine principalement neuronale, est présente dans les cellules prostatiques et sa surexpression est même un facteur de résistance à la chimiothérapie [154] ; cette expression diffuse d' α -synucléine, qui ne donne lieu à aucune agrégation [153], est peut-être physiologique.

L'élucidation en amont de la progression des inclusions d' α -synucléine, avec la mise en évidence d'une progression centripète dans le SNA, pose plus de questions qu'elle n'en résout, et la première d'entre elles : que se passe-t-il avant ? Cette progression lésionnelle pointe les plexus intrinsèques comme lieu d'initiation de la pathologie. Le plus vaste et le plus complexe d'entre eux est le SNE. Comme précédemment, des données épidémiologiques, physiopathologiques et anatomiques corroborent l'hypothèse de son atteinte primitive dans la MP.

2.6 Atteinte digestive

Particulièrement fréquente et diverse, l'atteinte digestive de la MP semble trop importante pour être seulement due à la désafférentation autonome. Le rôle respectif de l'innervation intrinsèque et extrinsèque dans la pathogénie des troubles digestifs doit encore être éclairci.

2.6.1 Epidémiologie

Les signes digestifs sont les plus fréquentes des manifestations non-motrices de la maladie, pouvant impliquer l'ensemble du tractus digestif [155] ([figure 8](#)). A l'étage oropharyngé, l'hypersalivation et la dysphagie concernent 70 et 52% des parkinsoniens respectivement [156]. L'hypersalivation est un terme impropre, puisque les troubles sont liés à l'abolition de la déglutition réflexe et non à l'augmentation de la sécrétion. Les troubles de la vidange gastrique (gastroparésie), à l'origine de nausées, de ballonnement post-prandial et d'une réduction des prises alimentaires, touchent de 34 à 45% des patients [157]. La constipation est très commune dans la MP. Sa prévalence a été récemment mesurée à 59% en utilisant les critères de définition internationaux de Rome III [158], soit presque trois fois plus que chez les sujets contrôles d'âge équivalent [159]. Elle dépasse 70% sur des critères subjectifs (plaintes des patients) [160]. Enfin la dysfonction ano-rectale (dyschésie), difficile à distinguer de la constipation fonctionnelle sur le seul interrogatoire, est également très fréquente chez les parkinsoniens [160, 161].

Comme d'autres signes non-moteurs, le ralentissement du transit intestinal est souvent précoce voire précède l'apparition de la maladie ; signe précurseur ou facteur de vulnérabilité, un transit ralenti est associé à un risque relatif de 2,7 de développer une MP dans une population d'âge supérieur à 51 ans [162] (comparaison sur une étude longitudinale de l'incidence de la maladie chez les sujets présentant moins d'une défécation par rapport à ceux ayant au moins une exonération quotidienne).

2.6.2 Physiologie

Aux deux extrémités du tube digestif, des fonctions comme la déglutition et la défécation (et par extension la miction) résultent d'une coordination étroite et extrêmement régulée entre SNC, SNE et SNA. Ces trois systèmes sont potentiellement atteints dans la MP, rendant compte de la fréquence de la dysphagie oropharyngée et de la dyschésie ano-rectale dans la maladie. L'atteinte de la motricité somatique est parfois au premier plan [163] : la dysphagie du parkinsonien peut résulter d'un défaut de relaxation du muscle crico-pharyngien (muscle strié somatique), expliquant l'efficacité des myotomies crico-pharyngiennes [164] ; la dyschésie peut être secondaire à une dystonie du pubo-rectal (muscle strié somatique), mais également à une contraction anarchique du sphincter anal interne (muscle lisse) ou externe (muscle strié), à l'émoussement du réflexe recto-anal inhibiteur (réflexe à la fois intrinsèque et extrinsèque), ou à la combinaison des trois [155, 165].

Dans un effort de caractérisation de l'atteinte respective du SNA et du SNE, il est plus pertinent de centrer l'étude sur les segments du tube digestif sous contrôle autonome exclusif, pour s'abstraire de l'intervention de la motricité somatique. Ces segments sont la portion inférieure de l'œsophage, l'estomac et le côlon. Peu d'études sont disponibles, et la plupart ne prennent pas en compte les traitements anti-parkinsoniens comme éventuel facteur confondant, ce qui les rend difficiles à interpréter compte tenu de la fonction inhibitrice connue de la dopamine sur la motilité digestive [25].

2.6.2.1 Atteinte œsophagienne

La majorité des études sur la dysphagie dans la MP sont centrées sur l'étage oropharyngé. Peu se sont intéressées à l'atteinte œsophagienne basse. A notre connaissance, en dehors de quelques cas rapportés, seules deux séries substantielles de patients parkinsoniens consécutifs (non sélectionnés sur des critères digestifs) ont fait l'objet d'une caractérisation manométrique [166, 167].

Une manométrie anormale, mal corrélée à l'existence d'une dysphagie et non corrélée à la gravité de la MP, est retrouvée chez 61 à 73% des patients. L'effet propre du traitement dopaminergique n'a pas été étudié. Les anomalies les plus courantes sont des spasmes œsophagiens diffus et un ralentissement du péristaltisme œsophagien (allant jusqu'à l'apéristaltisme chez 14% des patients de l'étude de Castell *et al.* [167]). Des contractions répétées de l'œsophage proximal et une hypertonie du sphincter inférieur de l'œsophage sont variablement retrouvées. Dans les deux études, l'hypertonie et apéristaltisme ne coexistent jamais, une association qui est propre à l'achalasie.

Pour autant la dysmotilité œsophagienne objectivée dans la MP partage certaines caractéristiques manométriques avec l'achalasie [168], modèle de neuropathie digestive. Ces points communs arguent en faveur d'une atteinte du SNE œsophagien, qui s'ajouterait à la désafférentation vagale

liée à l'atteinte du noyau dorsal du X. L'absence d'hypertonie pourrait être liée à la non-spécificité du processus dégénératif pour les neurones inhibiteurs, contrairement à ce qui est observé dans l'achalasie.

2.6.2.2 Gastroparésie

La gastroparésie est définie comme un retard à la vidange gastrique sans cause obstructive décelable. Le diagnostic est posé par transit scintigraphique, plus rarement par un test respiratoire après ingestion d'un nutriment marqué au ^{13}C (dosage du $^{13}\text{CO}_2$ dans l'air expiré). Les études sur des séries globales de parkinsoniens sont parfois contradictoires, avec une tendance à l'allongement de la vidange gastrique très variable selon le statut sous/hors traitement et selon le stade de la maladie [155]. Ces données générales ne doivent pas faire ignorer les cas de gastroparésie sévère, entraînant parfois des complications vitales, chez une minorité de patients [169]. La MP représente 7,5% des cas de gastroparésie sévère d'un centre spécialisé, en quatrième position derrière le diabète, les causes idiopathiques et les causes postchirurgicales [170]. Un suivi épidémiologique longitudinal des cas de gastroparésie idiopathique pourrait déterminer si une proportion significative développe une MP.

Une étude électrogastrographique sur onze patients parkinsoniens présentant des signes de gastroparésie objective une dysrythmie variable, mais l'absence d'augmentation de la contractilité (estimée par la puissance du signal myoélectrique à la fréquence majoritaire), indépendamment des prises médicamenteuses [171]. Les auteurs interprètent ces résultats comme liés à une atteinte intrinsèque, et non comme de simples stigmates de dénervation vagale (qui se manifesterait plus volontiers par une réponse exclusivement dysrythmique, voire normale [35]). Il ne s'agit cependant que de conjectures.

2.6.2.3 Dysmotilité colique

Le corrélat physiologique de la constipation semble être l'allongement du temps de transit colique (estimé par l'ingestion de radiotraceurs), même s'il est totalement asymptomatique dans un certain nombre de cas [172]. L'allongement du temps de transit colique au cours de la MP a été retrouvé à maintes reprises, les durées variant beaucoup avec la méthodologie utilisée (revue dans [155]). La constipation ne répond pas voire est aggravée par le traitement dopaminergique [156] et contribue à la dégradation de la qualité de vie [159]. Des complications vitales consécutives à une pseudo-obstruction colique (syndrome d'Ogilvie) ou à un volvulus du sigmoïde sont décrites chez les parkinsoniens, témoignant de l'atonie parfois majeure du tube digestif [173, 174].

Le ralentissement du temps de transit colique est multifactoriel. Si des lésions du SNE sont associées à certains tableaux de dysmotilité colique [43], le ralentissement du temps de transit colique peut être secondaire à un obstacle organique ou fonctionnel, comme dans la dysfonction anorectale. Dans

la MP, la diminution de la sensation de soif, par l'intermédiaire d'une déshydratation chronique, pourrait être en partie responsable de la constipation [175]. D'autres techniques comme la manométrie ou l'EMG colique n'ont jamais été évaluée dans la MP.

Contrairement aux autres étages du tube digestif, la sémiologie fonctionnelle colique est trop pauvre pour distinguer l'atteinte du SNE des autres causes potentielles de dysmotilité. Dans cette ligne, le temps de transit colique et la manométrie anorectale ne différencient pas MP et AMS. L'atteinte des noyaux d'Onuf, qui appartiennent à la motricité somatique et hébergent les motoneurones destinés aux sphincters striés, est le seul paramètre physiologique du tractus digestif bas capable de distinguer l'AMS de la MP. L'EMG du sphincter met en effet en évidence des signes de dénervation chronique dans l'AMS évoluée qui sont toujours absents dans la MP [176].

2.6.3 Atteinte morphologique

2.6.3.1 Premiers travaux (historique)

Il est troublant *a posteriori* que le premier article rapportant la présence de CL dans le SNE, signé par Qualman *et al.* en 1984 [177], compare MP et achalasie, assimilant déjà la MP à une neuropathie digestive. Dans cette étude autopsique, des CL et une perte neuronale sont mis en évidence dans le PM œsophagien de 2/8 patients atteints d'achalasie et de 2/3 patients parkinsoniens dysphagiques. Malgré des études histologiques poussées [178], la présence d'inclusions dans les neurones entériques n'a pas été confirmée depuis dans l'achalasie. En réalité, l'un des deux cas présente des CL dans le noyau dorsal du vague et serait aujourd'hui considéré comme une maladie à CL au stade I-II de Braak ; l'autre correspond probablement aussi à une phase présymptomatique. Il faut rendre hommage à Qualman d'avoir assimilé les inclusions éosinophiles sphériques des neurones entériques aux CL du SNC, ce que confirmera plus de dix ans plus tard l'immunohistochimie.

En 1987, Kupsky *et al.*, de façon tout aussi visionnaire, étudient une pièce d'exérèse chirurgicale colique chez un patient parkinsonien souffrant d'un mégacôlon idiopathique [179]. Des CL sont détectés dans le PSM et dans le PM coliques, à la fois sur une biopsie rectale préliminaire et sur la pièce. Ce deuxième travail évoque déjà le caractère pathogène des inclusions, auxquelles on attribue la dysmotilité colique.

Wakabayashi dresse l'inventaire des CL dans l'ensemble du tube digestif à partir de 1989 [180-183], avant de s'adresser au SNA dans sa totalité [125]. Les 7 patients parkinsoniens qu'il autopsie présentent des inclusions dans les neurones entériques [182] ; potentiellement trouvés à chaque étage du tractus digestif, de l'œsophage haut au rectum, les CL sont très inconstants au sein d'une même région, à l'exception notable du PM de l'œsophage bas où leur densité est majeure. Des CL en

densité moindre sont présents chez 8/24 témoins sans atteinte neurologique, un chiffre qui paraît surévalué à la lumière des travaux actuels. Le développement de l'immunohistochimie permet à Wakabayashi d'identifier des neurones entériques immunoréactifs pour la TH, qu'il pense logiquement être les neurones porteurs d'inclusion [183]. Il se dément lui-même dans un travail postérieur [184] qui démontre le phénotype VIPergique des neurones et des prolongements atteints.

Enfin Singaram *et al.* [22] publient en 1995 des résultats ambigus qui paraissent en contradiction avec les précédents : dans le côlon de patients atteints de MP, malgré une proportion normale de neurones TH-positif (le caractère dopaminergique obligatoire de ces neurones TH intrinsèques sera démontré par la suite [20]), une déplétion majeure en dopamine est objectivée par immunomarquage et par chromatographie liquide. La spécificité des CL pour les neurones VIPergique est remise en question par l'atteinte apparente des neurones dopaminergiques, à moins d'une co-expression VIP-TH [22]. La déplétion en dopamine pourrait cependant ne refléter que l'atteinte des fibres noradrénergiques par la dénervation sympathique : dans le SNC la dopamine est présente en abondance dans les projections noradrénergiques [185].

Après ces quatre séries de publications, plus de dix années s'écoulent dans une relative indifférence pour le SNE et la MP. Au cours des trois dernières années, dans la foulée des travaux de Braak, le SNE éveille à nouveau l'intérêt des neurosciences.

2.6.3.2 *Etudes actuelles*

L'avantage des travaux récents sur les études antérieures est de disposer de l'immunohistochimie de l' α -synucléine [72], qui est la plus sensible et spécifique pour les corps et prolongements de Lewy. Une pathologie neuritique relativement abondante est ainsi mise en évidence en 2006 dans le plexus myentérique et sous-muqueux de l'estomac [129]. Les neurites de Lewy étant dispersés, les auteurs ont recours à des coupes épaisses et répètent l'analyse plusieurs fois par bloc. Les CL sont présents principalement dans le plexus myentérique. Les neurites marqués ont une morphologie axonale, et sont fréquents dans la sous-muqueuse, immédiatement sous-jacents à la muqueuse digestive qu'ils semblent innervent. Certains ont un aspect dystrophiques avec des varicosités et des dilatations. Les inclusions sont présentes à tous les niveaux de l'estomac, du fundus à l'antrum et au pylore.

Sur les 5 cas de maladies à CL analysés dans cette étude, tous présentent des lésions à une densité comparable, qu'il s'agisse de stades présymptomatiques (stades 1-2 de Braak) ou de maladies de Parkinson avérées. Aucune inclusion n'est visible chez 5 témoins indemnes de pathologie centrale. De même, sur 17 maladies à corps de Lewy incidentes rapportés dans une autre publication, le plexus myentérique de l'œsophage est atteint dans 14 cas sur 17 (82%). Dans l'étude de Minguez-Castellanos sur les pièces d'exérèse chirurgicale abdominopelviennes de sujets indemnes

neurologiquement [153] (déjà présentée plus haut), le pourcentage de CL dans le tractus digestif est de 3,9 %, une proportion paraissant compatible avec une MP présymptomatique chez des sujets âgés de 67 ans en moyenne. Une fois encore ces données appuient l'idée d'une atteinte précoce du SNE, précédant de peu ou simultanée à l'atteinte des centres autonomes, qui diffuserait secondairement à l'encéphale.

Mais la confirmation ultime de cette hypothèse ne pourrait venir que du suivi longitudinal de sujets avec des CL incidents dans le SNE. Minguez-Castellanos *et al.* prétendent relever le défi en suivant au long cours quelques sujets de leur étude [153]. 6 patients avec inclusions et 10 témoins sont inclus et certains sont suivis jusqu'à 30 mois. Dans le groupe avec inclusions, on relève à 16 mois une dénervation cardiaque sympathique (par scintigraphie au MIBG) significativement supérieure ; un patient présente des troubles du sommeil paradoxal, un déficit olfactif et une dénervation striatale en scintigraphie. A 30 mois, le score à l'UPDRS moteur s'aggrave insidieusement chez 3 patients. L'article ne dit pas si les patients suivis ont des inclusions digestives ou urogénitales.

Dans la première publication utilisant l'immunohistochimie de l' α -synucléine dans le SNE [129], Braak pose l'hypothèse que le PSM du SNE puisse représenter le premier maillon d'une chaîne d'évènements neurodégénératifs menant au SNC. Sa proximité avec la barrière épithéliale digestive, dont il régule les fonctions, suggère qu'un neurotoxique ingéré puisse être l'évènement initiateur. La pathologie progresserait par voie axonale rétrograde jusqu'aux centres autonomes, au premier plan desquels le noyau dorsal du vague. Le neurotoxique pourrait également être inhalé, rendant alors compte de l'atteinte précoce du bulbe olfactif.

Pour séduisante qu'elle soit, cette hypothèse centrée sur le SNE est battue en brèche par plusieurs observations. A ce jour, aucune inclusion entérique d' α -synucléine n'a été décrite indépendamment d'une atteinte centrale, comme si la dégénérescence survenait d'emblée simultanément dans les centres autonomes et dans le SNE. Par ailleurs, la prévalence des inclusions d' α -synucléine dans certaines études [127, 153], qui paraît anormalement élevée par rapport à la prévalence de la MP (à moins d'une phase préclinique extrêmement longue ne laissant pas le temps à la maladie de se développer chez la plupart des sujets âgés), remet en cause le caractère pathogène obligatoire des inclusions. Aucun travail n'a évalué la perte neuronale dans le SNE et sa relation avec les agrégats d' α -synucléine, comme cela a été fait dans le cœur [150]. Enfin, l'étude du SNA dans son ensemble découvre un tableau bien différent, où l'atteinte semble bien centripète mais implique *l'ensemble* du SNA, des fibres sympathiques cutanées au plexus prostatique.

Dans ce contexte l'étude du SNE a-t-elle toujours un sens ? Assurément oui. De par sa densité, sa complexité comparable à celle du SNC, le SNE pourrait reproduire la pathologie centrale dans un centre nerveux directement accessible à la biopsie, ouvrant des possibilités inégalées pour l'expérimentation et le diagnostic. Quand bien même le SNE ne serait qu'un plexus intrinsèque atteint parmi d'autres, sa physiologie passionnante et les répercussions cliniques de son atteinte justifient pleinement qu'on s'y intéresse en premier lieu. Dans ce travail préliminaire, nous testons l'hypothèse que des biopsies digestives standards acquises par coloscopie permettent d'accéder au SNE et d'y relever les stigmates de la MP.

3 Approche du système nerveux entérique dans la maladie de Parkinson par endoscopie colique

L'étude présentée ci-après entre dans le cadre du protocole ENTEROPARK (N° DGS 2006-A00277-44, référence 06/5-l), dont l'investigateur coordonnateur est le Professeur Philippe Damier. Ce projet transversal entre centres d'investigation clinique (CIC) de neurologie et de gastroentérologie implique de nombreux intervenants : gastro-entérologues (Pr Galmiche, Pr Bruley des Varannes) pour l'évaluation et la sélection des patients ; gastro-entérologues endoscopistes (Dr Coron, Dr Touchefeu) pour la réalisation des endoscopies ; neurologues (Pr Damier, Pr Derkinderen) pour la sélection des patients ; anesthésiste (Dr Vrignaud) pour la neuroleptanalgie et l'hypnose ; l'unité Inserm 913 menée par M. Neunlist pour le traitement des biopsies.

Des biopsies standards sont acquises au cours d'une endoscopie justifiée médicalement sur trois groupes : des patients atteints de la MP et souffrant de troubles digestifs (constipation), des témoins sains et des témoins constipés. Le côlon droit est privilégié dans une première approche pour plusieurs raisons : contribuant de façon prépondérante à la motricité colique et densément innervé, le côlon droit devrait présenter des lésions du SNE décelables si la constipation de la MP relève bien d'une atteinte intrinsèque ; son innervation parasympathique est vagale, et les données sur l'atteinte sur noyau dorsal du X sont plus nombreuses que pour les centres parasympathiques sacrés (qui innervent le côlon gauche et le rectum).

3.1 Matériel et méthodes

3.1.1 Sélection des patients

3.1.1.1 *Tractus digestif bas*

Cinq patients remplissant les critères diagnostiques de l'UKPDSBB modifiés en 2001 [186] sont inclus dans l'étude. Leurs caractéristiques démographiques sont détaillées dans le [tableau 4](#). 2 patients présentent une maladie modérément évoluée (durée d'évolution de 5 à 10 ans et fluctuations motrices) ; 3 présentent une maladie sévère (durée d'évolution supérieure à 10 ans et signes axiaux). Tous les cinq souffrent de constipation chronique justifiant en théorie une coloscopie exploratrice, selon les critères de l'ANAES [187].

Cinq patients d'âge similaire ([tableau 4](#)) requérant une coloscopie totale dans le cadre d'un dépistage de cancer colorectal sont inclus comme témoins. Au terme d'une double évaluation par un neurologue et par un gastroentérologue hospitaliers, les sujets atteints d'une pathologie digestive ou neurologique chronique ont été exclus. En outre, un examen neurologique systématique écarte un syndrome parkinsonien débutant. Aucun des témoins ne présente de constipation.

La constipation étant un facteur confondant potentiel, 3 témoins supplémentaires souffrant de constipation fonctionnelle sévère sont inclus comme témoins additionnels ([tableau 4](#)). Le protocole d'étude a été approuvé par le comité de protection des personnes dans la recherche biomédicale (CPPRB). Des consentements écrits ont été obtenus.

3.1.1.2 Etude préliminaire sur le tractus digestif haut

Trois patients parkinsoniens justifiant d'une fibroscopie œso-gastro-duodénale pour la mise en place d'une sonde jéjunale sont inclus. Ces patients sont atteints d'une MP avancée, au stade des complications motrices sévères malgré un traitement anti-parkinsonien optimal. Duodopa® est une association de lévodopa et de carbidopa qui se présente sous forme de gel administré directement et en continu dans l'intestin grêle au moyen de la sonde. Ce traitement limite les fluctuations d'efficacité. Un consentement écrit pour la réalisation de prélèvements à visée scientifique a été recueilli.

3.1.2 Préparation des tissus

Elle est pratiquée sous neuroleptanalgie ou sous hypnose pour les patients parkinsoniens les plus fragiles.

L'endoscopie haute (fibroscopie œso-gastro-duodénale) ou basse (coloscopie) est réalisée selon les techniques habituelles. Les biopsies sont pratiquées à la pince standard sans dard (type Olympus FB210K®). Pour le tractus digestif bas, les prélèvements sont réalisés en zone saine, le plus souvent sur les éperons muqueux, au nombre de 4 par site, dans le côlon ascendant, dans le côlon transverse et dans le rectum. Pour le tractus digestif haut, 2 biopsies par site sont réalisées dans l'antra, dans le fundus et dans le duodénum.

Les prélèvements sont immédiatement placés dans du sérum physiologique froid à 4°C. Ils sont étirés par épingle dans une pointe de Pétri revêtue d'une couche d'élastomère de silicone (Sylgard®), face endoluminale en dessous. La couche de sous-muqueuse interne adhère à la muqueuse et contient le plexus de Meissner (composant majoritaire du PSM). Elle est disséquée à la pince sous la loupe binoculaire et étirée à son tour. Rarement les prélèvements coliques sont dénués de sous-muqueuse. Par contre cette situation est habituelle dans l'antra et le fundus, du fait de l'épaisseur de

muqueuse. L'ensemble des tissus, muqueuse et sous-muqueuse, est fixé par le paraformaldéhyde à 4%. La procédure complète est décrite dans des publications antérieures [188].

3.1.3 Immunohistochimie

Les tissus sont perméabilisés pendant 2 heures dans une solution de PBS-NaN₃ 1%-Triton X-100 1% contenant 4% de sérum équin. Ils sont ensuite incubés pendant 24 heures dans la solution précédente en présence d'un ou plusieurs des anticorps primaires suivants (concentration, fournisseur) :

- anti-TH de lapin (1:500, Pel-Freez, USA)
- anti-TH de mouton (1:500, Pel-Freez, USA)
- anti-dopamine-β-hydroxylase (DBH) de lapin (1:250, Millipore, USA)
- anti-Hu C/D de souris (1:200, Molecular probes, Pays-Bas)
- anti-α-synucléine phosphorylée de lapin (1:5000, WAKO, Osaka, Japon)
- anti-neurofilament (NF) 200 kDa de lapin (1:250, Chemicon, USA).

Le tissu est alors lavé sans le PBS et incubé pendant deux heures dans une solution d'anticorps secondaires adaptés :

- IgG anti-lapin d'âne conjuguées au carboxyméthylindocyanine-3 (Cy3; 1:500, Immunotech, Marseille, France)
- IgG anti-souris d'âne conjuguées au Cy3 (1:500, Immunotech, Marseille, France)
- IgG anti-mouton d'âne conjuguées à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC; 1:500, Immunotech, Marseille, France)
- IgG anti-lapin d'âne conjuguées au FITC (1:500, Interchim, Montluçon, France).

Les fragments de sous-muqueuse marqués sont rincés dans le PBS, étirés sur lame et montés entre lame et lamelle dans du glycérol pur. L'analyse est réalisée sur un microscope à fluorescence Olympus IX 50[®]. Les images sont acquises sur caméra digitale Olympus DP71 et traitées par informatique à l'aide du logiciel Cell[®] de Soft Imaging System (Olympus).

3.1.4 Phénotype dopaminergique et noradrénergique

Les neurones immunoréactifs pour TH, DBH et Hu C/D sont comptés dans l'ensemble des ganglions de la biopsie. La proportion relative de neurones TH est exprimée en pourcentage du nombre total de neurones déterminé avec le marqueur pan-neuronal Hu.

Pour chaque biopsie, l'immunoréactivité pour la DBH de 20 fibres marquées par l'anticorps anti-TH est déterminée. La proportion relative de fibres noradrénergiques est exprimée en pourcentage des fibres TH marquées par DBH.

3.1.5 Analyse morphométrique

Les fibres immunoréactives pour TH sont visualisées sur un microscope à fluorescence Zeiss Axiovert 200 M® équipé d'un Apotome® et d'un objectif à huile 63X 1,4 n.a., de façon à obtenir des sections optiques de 1 μm d'épaisseur. Les images sont toutes acquises avec les mêmes paramètres (temps d'exposition 50 ms) avec une caméra numérique haute définition AxioCam MRm®. Des piles de 6 images consécutives sont acquises sur une épaisseur de 6 μm dans des régions de faible densité neuritique, de façon à centrer l'analyse sur des fibres uniques plutôt que sur des faisceaux de fibres.

Pour chaque pile d'images de 6 μm d'épaisseur totale, une projection d'intensité maximale dans l'axe Z est réalisée avec le logiciel libre ImageJ (National Institute of Health, Bethesda, MD). Cette projection permet de suivre la majorité des neurites d'une extrémité à l'autre du champ sans qu'ils ne sortent du plan focal. Le PSM étant essentiellement une structure bidimensionnelle, le dénivelé des neurites dans l'axe Z est en effet rarement supérieur à 6 μm . L'intensité de fluorescence est codée en 256 niveaux de gris (8-bit).

Le programme additionnel NeuronJ pour ImageJ [189] permet la délimitation semi-automatique des neurites. L'intensité de fluorescence et les coordonnées de chaque point du neurite TH est exportée dans un tableur (Microsoft Excel®) et traduite en un graphe exprimant l'intensité de fluorescence en fonction de la longueur. Le taux de continuité du neurite est défini pour chaque fibre comme la proportion de la longueur de la fibre située au dessus de 50% de la fluorescence moyenne de la fibre. Pour chaque patient, un taux de continuité moyen pondéré par la longueur totale de chaque fibre est calculé. Le processus est semi-automatisé par des macros.

3.1.6 Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type. L'analyse de distribution des échantillons est effectuée avec le test de Kolmogorov-Smirnov. L'homogénéité des variances est éprouvée par le test de Levene d'égalité des variances. Pour comparer des échantillons indépendants avec une distribution non-normale, le test-T de Mann-Whitney (bilatéral) est utilisé. Pour comparer des échantillons indépendants avec une distribution normale, le test-T de Student (bilatéral) est préféré. Des valeurs de $p < 0,05$ sont considérées comme significatives. L'analyse statistique est réalisée avec le logiciel SigmaStat 3.10®.

3.2 Résultats

L'étude principale concerne le tractus digestif bas, et l'essentiel des résultats concerne le côlon droit. En §3.2.4 cependant, l'étude des inclusions d' α -synucléine est étendue au rectum. Les résultats de l'étude ancillaire sur le tractus digestif haut, qui concernent 3 patients parkinsoniens supplémentaires, y sont également présentés.

3.2.1 Compte neuronal

Chez les témoins, les biopsies contiennent un nombre moyen de $11,2 \pm 7,9$ ganglions et chaque ganglion contient $5,6 \pm 1,9$ neurones immunoréactifs pour Hu C/D. Chez les patients parkinsoniens, le nombre moyen de ganglions par biopsie est similaire aux témoins ($13,6 \pm 5,3$; $p=0,22$). En outre, le nombre moyen de neurones par ganglion est identique aux témoins ($7,0 \pm 1,6$; $p=0,25$) (figure 9A-C). Les témoins constipés ne sont pas différents des patients parkinsoniens en termes de densité ganglionnaire ($11,3 \pm 1,5$; $p=0,57$) ou de nombre de neurones par ganglion ($5,5 \pm 0,6$; $p=0,19$) (figure 9C).

3.2.2 Phénotypage dopaminergique et noradrénergique

L'immunoréactivité TH des neurones sous-muqueux est variable : certains neurones présentent un marquage faible, diffus ou ponctué, parfois difficile à différencier du bruit de fond (figure 9D) ; d'autres sont intensément marqués de façon homogène (figure 9E). Les deux types de marquage sont également représentés chez les témoins et les patients parkinsoniens.

Chez les témoins, $11,6 \pm 5,0\%$ des neurones Hu sont immunoréactifs pour la TH. Chez les patients parkinsoniens, cette proportion est inchangée ($12,3 \pm 3,3\%$; $p=0,80$) (figure 9F). Chez les témoins constipés, la proportion de neurones TH est comparable à celle des patients ($8,2 \pm 2,7\%$; $p=0,12$) (figure 9F).

Dans les 3 groupes, les neurones immunoréactifs pour TH ne sont jamais immunoréactifs pour la DBH, confirmant le caractère dopaminergique obligatoire des neurones intrinsèques TH. A l'inverse, la majorité des fibres immunoréactives pour TH le sont également pour DBH ($92 \pm 5\%$ chez les témoins et $91 \pm 9\%$ chez les parkinsoniens), suggérant que la grande majorité des fibres immunoréactives pour TH sont noradrénergiques, et correspond donc à l'innervation extrinsèque sympathique.

3.2.3 Analyse morphologique et morphométrique

Les fibres positives pour TH de la sous-muqueuse sont alternativement des fibres fines continues (figure 10A) ou des fibres variqueuses discontinues (figure 10B), chez les patients comme chez les

témoins. Cependant les fibres continues semblent plus fréquentes chez les témoins que chez les patients. Chez les patients parkinsoniens par ailleurs, certaines fibres adoptent un aspect très dystrophique, formant des amas au sein des ganglions ([figure 10C](#)) ou des structures allongées dans les faisceaux nerveux ([figure 10D](#)). De tels aspects ne sont jamais observés chez les témoins.

La mesure du taux de continuité des fibres, que nous définissons comme la proportion de longueur de fibre situé au dessus de 50 % de la fluorescence moyenne, permet d'objectiver par une mesure ces variations subjectives. Les fibres TH dans leur ensemble sont moins continues chez les parkinsoniens ($57,6\pm 6,0\%$) comparés aux contrôles ($67,7\pm 6,8\%$). Le seuil de significativité n'est cependant pas atteint ($p=0,056$) avec les tests non paramétriques. Par contre le taux de continuité est significativement inférieur si l'on compare les parkinsoniens aux constipés ([figure 10E](#)).

3.2.4 Inclusions d' α -synucléine

3.2.4.1 Côlon droit

L'immunomarquage du PSM avec un anticorps dirigé contre l' α -synucléine phosphorylée sur sérine 129 (phospho-synucléine) est d'abord réalisé sur les biopsies de côlon droit. L'étude de l'immunoréactivité phospho-synucléine révèle d'abord un marquage cytoplasmique diffus de la majorité des neurones ([figure 11E](#)). Un co-immunomarquage de la chaîne lourde des neurofilaments (NF) met parfaitement en évidence neurones et prolongements neuritiques ([figure 11G-I](#)). Chez 4 parkinsoniens sur 5, certains prolongements sont également intensément marqués par l'anticorps anti-phosphosynucléine ([figure 11D-F](#)). Ces prolongements co-marqués présentent occasionnellement un aspect très dystrophique comparable aux neurites de Lewy (ou prolongements de Lewy) du SNC ([figure 11ADG & CFI](#)). Aucun agrégat n'est retrouvé dans le soma des neurones.

3.2.4.2 Rectum

Au niveau du rectum, des neurites co-immunoréactifs pour NF et phospho-synucléine sont présents chez 3 patients sur 5, et chez aucun contrôle. Le patient parkinsonien sans immunomarquage phosphosynucléine positif dans le côlon droit est également négatif dans le rectum.

3.2.4.3 Tractus digestif haut

Une étude ancillaire portant sur trois patients parkinsoniens supplémentaires est réalisée à titre préliminaire. Des biopsies fundiques, antrales et duodénales sont disséquées et immunomarquées. Chez 1 patient sur 3, d'abondants neurites immunoréactifs pour la phospho-synucléine sont présents dans une biopsie antrale. Aucun co-marquage NF-phosphosynucléine n'est visualisé chez les autres patients ([figure 12](#)).

3.3 Discussion

Ce travail amène trois enseignements majeurs et inédits : la faisabilité d'une analyse précise du SNE par des biopsies endoscopiques standards ; l'absence de perte neuronale et dopaminergique dans le PSM au cours de la MP ; enfin la présence d'altérations de l'innervation extrinsèque et de prolongements de Lewy dans le PSM dans une proportion élevée (80%) de patients.

3.3.1 Faisabilité et limitations

La possibilité d'accéder au PSM de façon fiable et reproductible par des biopsies standards et d'en réaliser une analyse fine est une donnée nouvelle. La dissection et l'immunohistochimie de surface (*whole-mount*) permettent de visualiser l'ensemble du réseau nerveux du PSM sur toute la surface de la biopsie, ce qui explique leur avantage décisif par rapport aux techniques usuelles. Les coupes transversales après inclusion en paraffine mettent en effet rarement en évidence la fine couche de tissu nerveux sous-muqueux. Nous accédons en moyenne dans le côlon à une soixantaine de neurones par biopsie organisés en 11 ganglions. Ce nombre autorise une analyse morphométrique et phénotypique, comme démontré dans ce travail.

Avant lui, seule l'étude de Schneider *et al.* en 2001 avait utilisé une méthodologie similaire et identifié des modifications du codage neurochimique des neurones sous-muqueux dans certaines maladies digestives [190]. Néanmoins il s'agissait de biopsies rectales réalisées à l'endoscope rigide, permettant des prélèvements plus volumineux mais interdisant l'accès au reste du tube digestif. Nos biopsies sont acquises avec les endoscopes flexibles habituels et avec du matériel standard. Les biopsies sont réalisées d'un geste légèrement appuyé, sur les éperons muqueux, ce qui limite encore le risque théorique de perforation. L'endoscopie digestive, technique peu invasive, dont le risque de complications est particulièrement faible dans les conditions de cette étude (absence d'atteinte pariétale digestive) [191], pourrait donc constituer une procédure diagnostique acceptable dans la MP.

Il convient cependant d'exprimer quelques réserves. La colonoscopie est un examen long qui requiert en général une anesthésie, dont le risque n'est pas nul chez la personne âgée et/ou fragile. A ce titre la réalisation de l'examen sous hypnose chez les patients parkinsoniens évolués est un aspect original de notre étude. Dans l'hypothèse du développement de notre technique pour le diagnostic, la comparaison entre côlon droit et rectum sur de grandes séries devrait établir si une rectosigmoïdoscopie (examen court et ambulatoire) peut suffire au diagnostic.

La petite taille des prélèvements pose ensuite la question de leur représentativité. La variation de la densité neuronale entre éperon et paroi, ou entre versant mésentérique et antimésentérique, sont

des aspects qui devront être étudiés. La répétition des prélèvements dans chaque zone (de 4 à 10 biopsies par région par exemple) permet de s'abstraire en partie de ces variations physiologiques. Enfin l'accès au PSM dans certaines régions (antre, fundus, et dans une moindre mesure rectum) est difficile, soit parce que l'épithélium y est épais, soit parce que le PSM y est naturellement peu développé.

Mais la limitation essentielle de la technique est l'absence d'accès au PM, dont l'analyse serait bien plus pertinente dans le cadre de l'exploration étiologique des troubles moteurs intestinaux de la MP. Des techniques nouvelles et prometteuses de biopsies endoscopiques profondes (*full-thickness biopsies*) permettent d'atteindre le PM dans l'estomac ou le rectum [192], et augurent de développements potentiels. Si leur innocuité est établie, l'analyse des plexus nerveux de la paroi gastrique, pendant exact de l'étude autopsique de Braak [129], en serait une application potentielle et devrait permettre le diagnostic des maladies à corps de Lewy à un stade très précoce.

3.3.2 Compte neuronal

L'absence de perte neuronale décelable dans le PSM chez les patients parkinsoniens n'est pas le moindre de nos résultats. Cet aspect renvoie au paradoxe de la pathologie dégénérative : si la mort et la perte neuronales signent la neurodégénérescence, ce sont les paramètres les plus difficiles à mettre en évidence, soit par la rareté des phénomènes d'apoptose dans un processus dégénératif insidieux [193], soit par les difficultés du comptage neuronal [194]. Actuellement le diagnostic des maladies neurodégénératives repose essentiellement sur les signes indirects que sont les inclusions protéiques. Dans la MP cependant, le lien entre agrégats d' α -synucléine et perte neuronale n'a été établi que dans des régions circonscrites comme la SNpc [60] ou le nerf épigastrique [150], et la possibilité demeure que les agrégats d' α -synucléine représentent un phénomène de sénescence normale, dans le SNC [195] comme dans les plexus intrinsèques [153]. Ces éléments insistent sur la nécessité d'associer un compte neuronal à l'étude des inclusions : à notre connaissance, à l'exception d'une estimation subjective dans les premiers travaux sur SNE et MP [177, 182], aucune étude de ce type n'a été réalisée dans le SNE.

Les plexus du SNE sont essentiellement des structures bidimensionnelles, ce qui limite les biais stéréologiques dans le comptage cellulaire. Outre la variation possible de la densité neuronale en fonction du site de biopsie, l'estimation de la population neuronale générale dans le SNE soulève d'autres problèmes méthodologiques. Le nombre de neurones par ganglion présente l'avantage d'être indépendant de l'étirement des biopsies (qui fait varier la densité neuronale absolue). Le choix de ce paramètre sous-entend que la perte neuronale affecte de façon homogène chacun des ganglions, postulat qui semble acceptable compte tenu de leur absence de spécialisation

neurochimique (toutes les catégories de neurones y sont représentées) mais demeure arbitraire [51]. Nous dénombrons 6,2 neurones par ganglion sous-muqueux, un nombre légèrement supérieur à celui retrouvé par Schneider *et al.* ($5,0 \pm 1,2$). Ces auteurs utilisaient cependant la NSE comme marqueur pan-neuronal ; or 10 % des neurones positifs pour Hu C/D n'expriment pas la NSE [21].

L'absence de perte neuronale apparente dans le PSM doit bien sûr être confirmée sur un effectif plus important ; elle argue contre l'hypothèse de Braak qui fait du PSM le premier maillon de l'atteinte dégénérative dans la MP [129]. En pathologie cependant, les neurones sous-muqueux ont une résistance supérieure aux neurones myentériques, vraisemblablement liée à leur fonction critique dans le maintien de l'intégrité de la barrière [37]. Seule l'étude du PM permettrait de vérifier si le processus dégénératif épargne sélectivement le PSM.

3.3.3 Etude de la population intrinsèque dopaminergique

Dans notre étude, $11,6 \pm 5,0\%$ des neurones sous muqueux du côlon droit présentent un phénotype dopaminergique, résultat proche des $14,7 \pm 3,9\%$ établis par Singaram [22], qui confirme en outre le caractère dopaminergique obligatoire (négativité pour la DBH) des neurones intrinsèques immunoréactifs pour la TH. Il s'agit vraisemblablement d'un co-phénotype, mais le codage neurochimique précis des neurones TH reste à établir. Ce pourcentage est en revanche en franche contradiction avec la proportion quasi-nulle de neurones TH sous-muqueux retrouvée par Anlauf *et al.* à l'étage colique [20]. Dans leur travail exhaustif, des techniques immunohistochimiques traditionnelles (travail sur coupe après inclusion en paraffine, absence d'utilisation de l'immunofluorescence) étaient utilisées, avec pour conséquence un nombre inférieur de neurones étudié et une sensibilité moindre.

Comme dans l'étude de Singaram, nous ne retrouvons pas de variation de la proportion de neurones TH entre parkinsoniens et témoins, ce qui semble confirmer l'absence d'atteinte spécifique des neurones dopaminergiques aux stades initiaux de la MP [66]. Les neurones catécholaminergiques sont particulièrement vulnérables au stress oxydatif, dont l'implication dans la physiopathologie de la MP est attestée par des arguments génétiques et expérimentaux [83, 196]. Dans le SNE ce phénomène est peut-être compensé par l'augmentation réactionnelle entraînée par la dénervation sympathique [23, 197]. L'étude de la population dopaminergique du SNE conserve un intérêt central dans la MP, et demande à être précisée et étendue au PM.

3.3.4 Etude de l'innervation extrinsèque

Outre les quelques corps cellulaires marqués, l'immunomarquage de la TH révèle surtout une abondante innervation noradrénergique (les fibres TH coexpriment dans leur grande majorité la

DBH) représentant les axones sympathiques post-ganglionnaires. Sa densité semble comparable chez les patients et chez les témoins. Seul le développement de techniques morphométriques évaluant la longueur totale des fibres par unité de surface pourra objectiver précisément une dénervation.

Des altérations qualitatives sont par contre électivement présentes dans la MP, avec un aspect plus fréquemment dystrophique, variqueux et discontinu chez les patients. L'analyse morphométrique montre que le taux de continuité tend à être inférieur chez les patients, ce qui demande à être confirmé sur une grande série. L'influence de l'âge est intéressante : les fibres les plus continues sont trouvées dans le groupe des témoins constipés, sensiblement plus jeune (non significatif) que témoins sains et parkinsoniens qui forment deux groupes parfaitement homogènes. Des analyses préliminaires sur des témoins plus jeunes (données personnelles) semblent confirmer la relation linéaire inverse entre taux de continuité et âge. Ces anomalies sont à rapprocher des altérations très similaires de l'innervation extrinsèque chez le rat âgé [50].

Notre étude démontre la présence d'altérations de l'innervation sympathique extrinsèque. En somme, nous objectivons un "vieillessement prématuré" des axones post-ganglionnaires. L'étape suivante est d'identifier si des inclusions d' α -synucléine phosphorylée sont présentes dans ces terminaisons noradrénergiques dystrophiques, comme cela a été montré dans le nerf épicaudal [150].

3.3.5 Prolongements de Lewy

L'identification de prolongements immunoréactifs pour l' α -synucléine phosphorylée est le point central de notre étude. L'anticorps phospho-spécifique que nous utilisons est très spécifique de l' α -synucléine agrégée dans les inclusions [81] ; seul une petite fraction de l' α -synucléine soluble est phosphorylée sur sérine 129 à l'état physiologique [82], ce qui semble confirmer un faible marquage neuronal cytoplasmique diffus chez les témoins. Cette spécificité relative du marquage pour les formes pathologiques a un intérêt fondamental car l' α -synucléine est une protéine neuronale présente à l'état physiologique [99]. Dernièrement une étude chez le rat montre que l' α -synucléine est normalement abondante dans les efférences du nerf vague et dans les neurones nitrergiques et cholinergiques du PM de l'estomac [198].

Dans notre étude, le caractère pathologique des prolongements immunoréactifs pour l' α -synucléine phosphorylée semble confirmé par leur aspect parfois franchement dystrophique. Leur fin calibre les apparente sinon à des axones. Ces probables neurites de Lewy sont électivement présents dans la MP, chez 4/5 patients à l'étage colique, 3/5 à l'étage rectal et 1/3 dans le tractus haut. En accord avec la littérature qui mentionne leur prédominance dans le PM, nous n'avons pas décelé de corps de Lewy dans le PSM. La nature des prolongements marqués reste indéterminée au terme de ce

travail. Si certains sont situés dans la paroi des vaisseaux et paraissent extrinsèques, des expériences supplémentaires de comarquage devront répondre à ces interrogations. A ce jour seul Wakabayashi a établi le phénotype VIPergique des neurones porteurs d'inclusions ; les travaux récents sur l'expression d' α -synucléine chez le rat suggèrent que d'autres phénotypes pourraient être touchés [198].

La série n'est pas représentative de l'ensemble des patients, ce qui ne permet pas d'inférer une sensibilité et une spécificité à notre technique. L'étude porte sur des MP modérées à sévères ayant toutes plus de 5 années d'évolution, caractérisées par la présence de signes digestifs invalidants. Cependant, les données de la littérature sur la forte prévalence des signes digestifs et sur l'atteinte vraisemblablement précoce du SNE suggèrent que nos résultats puissent être généralisés à l'ensemble des malades.

Cette sensibilité imparfaite a plusieurs explications potentielles. Le caractère dispersé des inclusions, relevé par Braak en 2006 [129], incite à répéter la même analyse sur plusieurs prélèvements par site. Deux prélèvements par sujet ont été étudiés à l'étage colique, et le taux de positivité par patient passe de 2/5 à 4/5 lorsque les résultats du deuxième prélèvement sont associés aux premiers. Peut-être l'analyse de 4 à 5 prélèvements à différents sites permettra-t-elle d'atteindre une sensibilité optimale. Alternativement le PSM pourrait être largement plus épargné que le PM, dont l'atteinte expliquerait en partie les troubles de motilité digestive de la MP. Enfin la possibilité subsiste que certains patients ne répondent pas au modèle de progression clinique et neuropathologique [114, 115].

Conclusion et perspectives

A ce jour, malgré l'essor de la neuroimagerie, le diagnostic de certitude de pathologies neurodégénératives comme la MP n'est définitivement acquis qu'à l'examen autopsique [100]. Le travail que nous présentons ici est préliminaire, et suscite encore beaucoup plus de questions que de réponses. Cependant la mise en évidence de lésions du SNE accessibles par de simples biopsies endoscopiques laisse entrevoir la possibilité d'un diagnostic neuropathologique simple et reproductible du vivant des patients, ce qui constitue un argument supplémentaire en faveur du paradigme considérant le SNE comme une fenêtre sur le SNC.

Le travail restant à effectuer est vaste. Avant de proposer notre technique comme méthode de diagnostic, le cheminement suivant peut être proposé :

- Dresser la cartographie des lésions de la sous-muqueuse dans les régions facilement accessibles à l'endoscopie chez des patients parkinsoniens volontaires justifiant une endoscopie haute ou basse et identifier la région la plus atteinte ;
- Etablir la sensibilité et la spécificité du test sur une série conséquente de patients parkinsoniens et de témoins ; d'autres pathologies neurodégénératives, et notamment des synucléinopathies (AMS et démence à CL) devraient être incluses ;
- Développer d'autres techniques permettant de s'abstraire de la subjectivité et de la lourdeur de l'analyse immunohistochimique ; la détection de l' α -synucléine totale et phosphorylée sur les prélèvements digestifs par Western blot ou ELISA peut être proposée dans une première approche ;
- Proposer un dépistage et un suivi au long cours dans certaines populations à risque (constipation fonctionnelle justifiant une coloscopie chez des sujets de plus de 50 ans), comprenant par exemple une évaluation clinique, des épreuves cardiovasculaires, des tests olfactifs, la recherche de troubles du sommeil paradoxal, et une imagerie fonctionnelle cérébrale ; valider ainsi la méthode aux stades présymptomatiques de la MP et prouver l'hypothèse de Braak par un suivi longitudinal des patients identifiés.

Au delà du diagnostic, les perspectives fondamentales (phénotypage neurochimique complet et identification des populations neuronales vulnérables, compréhension de l'étiopathogénie des troubles digestifs de la MP) et thérapeutiques (évaluation directe de l'efficacité de traitements neuroprotecteurs par des biopsies répétées dans le temps) sont multiples. Certaines sont très incertaines, d'autres pourraient voir le jour dans un proche avenir.

Références

1. Langley, J.N., *Some observations on the degeneration in the sympathetic and sacral autonomic nervous system of amphibia following nerve section*. J Physiol, 1911. **42**(2): p. 113-24.
2. Cannon, W.B., *Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage; an account of recent researches into the function of emotional excitement*. 1915, New York, London,: D. Appleton and Company. xiii, 311 p.
3. Purves, D., *Neuroscience*. 4th ed. 2008, Sunderland, Mass.: Sinauer. 1 v. (various pagings).
4. Nestler, E.J., S.E. Hyman, and R.C. Malenka, *Molecular neuropharmacology : a foundation for clinical neuroscience*. 2001, New York: McGraw-Hill Medical Pub. Div. xvi, 539.
5. Furness, J.B., *The organisation of the autonomic nervous system: peripheral connections*. Auton Neurosci, 2006. **130**(1-2): p. 1-5.
6. Weihe, E., et al., *Coexpression of cholinergic and noradrenergic phenotypes in human and nonhuman autonomic nervous system*. J Comp Neurol, 2005. **492**(3): p. 370-9.
7. Quigley, E.M.M. and R. Pfeiffer, *Neuro-gastroenterology*. 1st ed. 2004, Philadelphia, PA: Butterworth-Heinemann. xii, 363 , 4 col. plates.
8. Burnstock, G., et al., *Inhibition of the Smooth Muscle on the Taenia Coli*. Nature, 1963. **200**: p. 581-2.
9. Armour, J.A., *Potential clinical relevance of the 'little brain' on the mammalian heart*. Exp Physiol, 2008. **93**(2): p. 165-76.
10. Goyal, R.K. and I. Hirano, *The enteric nervous system*. N Engl J Med, 1996. **334**(17): p. 1106-15.
11. Heanue, T.A. and V. Pachnis, *Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies*. Nat Rev Neurosci, 2007. **8**(6): p. 466-79.
12. Costa, M., S.J. Brookes, and G.W. Hennig, *Anatomy and physiology of the enteric nervous system*. Gut, 2000. **47 Suppl 4**: p. iv15-9; discussion iv26.
13. Schemann, M. and M. Neunlist, *The human enteric nervous system*. Neurogastroenterol Motil, 2004. **16 Suppl 1**: p. 55-9.
14. Hansen, M.B., *The enteric nervous system I: organisation and classification*. Pharmacol Toxicol, 2003. **92**(3): p. 105-13.
15. Hansen, M.B., *Neurohumoral control of gastrointestinal motility*. Physiol Res, 2003. **52**(1): p. 1-30.
16. Galligan, J.J., *Pharmacology of synaptic transmission in the enteric nervous system*. Curr Opin Pharmacol, 2002. **2**(6): p. 623-9.
17. Gershon, M.D., *Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome*. J Clin Gastroenterol, 2005. **39**(4 Suppl 3): p. S184-93.
18. Furness, J.B., *Novel gut afferents: Intrinsic afferent neurons and intestinofugal neurons*. Auton Neurosci, 2006. **125**(1-2): p. 81-5.
19. Furness, J.B., *Types of neurons in the enteric nervous system*. J Auton Nerv Syst, 2000. **81**(1-3): p. 87-96.
20. Anlauf, M., et al., *Chemical coding of the human gastrointestinal nervous system: cholinergic, VIPergic, and catecholaminergic phenotypes*. J Comp Neurol, 2003. **459**(1): p. 90-111.
21. Murphy, E.M., et al., *Quantification of subclasses of human colonic myenteric neurons by immunoreactivity to Hu, choline acetyltransferase and nitric oxide synthase*. Neurogastroenterol Motil, 2007. **19**(2): p. 126-34.
22. Singaram, C., et al., *Dopaminergic defect of enteric nervous system in Parkinson's disease patients with chronic constipation*. Lancet, 1995. **346**(8979): p. 861-4.

23. Li, Z.S., et al., *Enteric dopaminergic neurons: definition, developmental lineage, and effects of extrinsic denervation*. J Neurosci, 2004. **24**(6): p. 1330-9.
24. Li, Z.S., et al., *Physiological modulation of intestinal motility by enteric dopaminergic neurons and the D2 receptor: analysis of dopamine receptor expression, location, development, and function in wild-type and knock-out mice*. J Neurosci, 2006. **26**(10): p. 2798-807.
25. Walker, J.K., et al., *Mice lacking the dopamine transporter display altered regulation of distal colonic motility*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000. **279**(2): p. G311-8.
26. Ruhl, A., *Glial cells in the gut*. Neurogastroenterol Motil, 2005. **17**(6): p. 777-90.
27. Savidge, T.C., M.V. Sofroniew, and M. Neunlist, *Starring roles for astroglia in barrier pathologies of gut and brain*. Lab Invest, 2007. **87**(8): p. 731-6.
28. Bayliss, W.M. and E.H. Starling, *The movements and innervation of the small intestine*. J Physiol, 1899. **24**(2): p. 99-143.
29. Langley, J.N. and R. Magnus, *Some observations of the movements of the intestine before and after degenerative section of the mesenteric nerves*. J Physiol, 1905. **33**(1): p. 34-51.
30. Furness, J.B., et al., *Intrinsic primary afferent neurons and nerve circuits within the intestine*. Prog Neurobiol, 2004. **72**(2): p. 143-64.
31. Hansen, M.B., *The enteric nervous system II: gastrointestinal functions*. Pharmacol Toxicol, 2003. **92**(6): p. 249-57.
32. Costa, M., H. Glise, and R. Sjodahl, *The enteric nervous system in health and disease*. Gut, 2000. **47 Suppl 4**: p. IV1.
33. Grundy, D., et al., *Fundamentals of neurogastroenterology: basic science*. Gastroenterology, 2006. **130**(5): p. 1391-411.
34. De Giorgio, R. and M. Camilleri, *Human enteric neuropathies: morphology and molecular pathology*. Neurogastroenterol Motil, 2004. **16**(5): p. 515-31.
35. Chang, F.Y., *Electrogastrography: basic knowledge, recording, processing and its clinical applications*. J Gastroenterol Hepatol, 2005. **20**(4): p. 502-16.
36. Parkman, H.P., W.L. Hasler, and R.S. Fisher, *American Gastroenterological Association medical position statement: diagnosis and treatment of gastroparesis*. Gastroenterology, 2004. **127**(5): p. 1589-91.
37. De Giorgio, R., et al., *Inflammatory neuropathies of the enteric nervous system*. Gastroenterology, 2004. **126**(7): p. 1872-83.
38. Barnett, J.L., et al., *Familial visceral neuropathy with neuronal intranuclear inclusions: diagnosis by rectal biopsy*. Gastroenterology, 1992. **102**(2): p. 684-91.
39. El-Rifai, N., et al., *Neuronal intranuclear inclusion disease presenting as chronic intestinal pseudo-obstruction in the neonatal period in the absence of neurologic symptoms*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2006. **42**(3): p. 321-3.
40. Paviour, D.C., et al., *Neuronal intranuclear inclusion disease: report on a case originally diagnosed as dopa-responsive dystonia with Lewy bodies*. Mov Disord, 2005. **20**(10): p. 1345-9.
41. Takahashi-Fujigasaki, J., *Neuronal intranuclear hyaline inclusion disease*. Neuropathology, 2003. **23**(4): p. 351-9.
42. Clarke, C.M., et al., *Visceral neuropathy and intestinal pseudo-obstruction in a murine model of a nuclear inclusion disease*. Gastroenterology, 2007. **133**(6): p. 1971-8.
43. Wedel, T., et al., *Enteric nerves and interstitial cells of Cajal are altered in patients with slow-transit constipation and megacolon*. Gastroenterology, 2002. **123**(5): p. 1459-67.
44. Winge, K., D. Rasmussen, and L.M. Werdelin, *Constipation in neurological diseases*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003. **74**(1): p. 13-9.
45. Pohl, D. and R. Tutuian, *Achalasia: an overview of diagnosis and treatment*. J Gastrointest Liver Dis, 2007. **16**(3): p. 297-303.
46. Farrokhi, F. and M.F. Vaezi, *Idiopathic (primary) achalasia*. Orphanet J Rare Dis, 2007. **2**: p. 38.

47. Gomes, O.A., R.R. de Souza, and E.A. Liberti, *A preliminary investigation of the effects of aging on the nerve cell number in the myenteric ganglia of the human colon*. *Gerontology*, 1997. **43**(4): p. 210-7.
48. Wade, P.R. and T. Cowen, *Neurodegeneration: a key factor in the ageing gut*. *Neurogastroenterol Motil*, 2004. **16 Suppl 1**: p. 19-23.
49. Phillips, R.J., E.J. Kieffer, and T.L. Powley, *Loss of glia and neurons in the myenteric plexus of the aged Fischer 344 rat*. *Anat Embryol (Berl)*, 2004. **209**(1): p. 19-30.
50. Phillips, R.J., J.C. Pairitz, and T.L. Powley, *Age-related neuronal loss in the submucosal plexus of the colon of Fischer 344 rats*. *Neurobiol Aging*, 2006.
51. Phillips, R.J. and T.L. Powley, *Innervation of the gastrointestinal tract: patterns of aging*. *Auton Neurosci*, 2007. **136**(1-2): p. 1-19.
52. Gershon, M.D., *The second brain : the scientific basis of gut instinct and a groundbreaking new understanding of nervous disorders of the stomach and intestine*. 1st ed. 1998, New York, NY: HarperCollinsPublishers. xvi, 314 p.
53. Sanger, G.J. and K. Lee, *Hormones of the gut-brain axis as targets for the treatment of upper gastrointestinal disorders*. *Nat Rev Drug Discov*, 2008. **7**(3): p. 241-54.
54. Nussbaum, R.L. and C.E. Ellis, *Alzheimer's disease and Parkinson's disease*. *N Engl J Med*, 2003. **348**(14): p. 1356-64.
55. de Lau, L.M. and M.M. Breteler, *Epidemiology of Parkinson's disease*. *Lancet Neurol*, 2006. **5**(6): p. 525-35.
56. de Rijk, M.C., et al., *Prevalence of Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based cohorts*. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group*. *Neurology*, 2000. **54**(11 Suppl 5): p. S21-3.
57. Jankovic, J., *Parkinson's disease: clinical features and diagnosis*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2008. **79**(4): p. 368-76.
58. Dauer, W.T. and S. Przedborski, *Parkinson's Disease : mechanisms and models*. *Neuron*, 2003. **39**: p. 889-909.
59. Del Tredici, K., et al., *Where does parkinson disease pathology begin in the brain?* *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002. **61**(5): p. 413-26.
60. Fearnley, J.M. and A.J. Lees, *Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity*. *Brain*, 1991. **114 (Pt 5)**: p. 2283-301.
61. Koller, W.C., *When does Parkinson's disease begin?* *Neurology*, 1992. **42**(4 Suppl 4): p. 27-31; discussion 41-8.
62. Hilker, R., et al., *Nonlinear progression of Parkinson disease as determined by serial positron emission tomographic imaging of striatal fluorodopa F 18 activity*. *Arch Neurol*, 2005. **62**(3): p. 378-82.
63. Chaudhuri, K.R., D.G. Healy, and A.H. Schapira, *Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management*. *Lancet Neurol*, 2006. **5**(3): p. 235-45.
64. Martinez-Martin, P., et al., *Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting; study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients*. *Mov Disord*, 2007. **22**(11): p. 1623-9.
65. Hely, M.A., et al., *Sydney Multicenter Study of Parkinson's disease: non-L-dopa-responsive problems dominate at 15 years*. *Mov Disord*, 2005. **20**(2): p. 190-9.
66. Ahlskog, J.E., *Beating a dead horse: dopamine and Parkinson disease*. *Neurology*, 2007. **69**(17): p. 1701-11.
67. Lang, A.E. and J.A. Obeso, *Time to move beyond nigrostriatal dopamine deficiency in Parkinson's disease*. *Ann Neurol*, 2004. **55**(6): p. 761-5.
68. Liao, L., et al., *Proteomic characterization of postmortem amyloid plaques isolated by laser capture microdissection*. *J Biol Chem*, 2004. **279**(35): p. 37061-8.
69. Shults, C.W., *Lewy bodies*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(6): p. 1661-8.
70. Ross, C.A. and M.A. Poirier, *Protein aggregation and neurodegenerative disease*. *Nat Med*, 2004. **10 Suppl**: p. S10-7.

71. Brion, J.P., et al., *Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study*. J Submicrosc Cytol, 1985. **17**(1): p. 89-96.
72. Spillantini, M.G., et al., *Alpha-synuclein in Lewy bodies*. Nature, 1997. **388**(6645): p. 839-40.
73. Neumann, M., et al., *Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis*. Science, 2006. **314**(5796): p. 130-3.
74. Maroteaux, L., J.T. Campanelli, and R.H. Scheller, *Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal*. J Neurosci, 1988. **8**(8): p. 2804-15.
75. Larsen, K.E., et al., *Alpha-synuclein overexpression in PC12 and chromaffin cells impairs catecholamine release by interfering with a late step in exocytosis*. J Neurosci, 2006. **26**(46): p. 11915-22.
76. Chua, C.E. and B.L. Tang, *alpha-synuclein and Parkinson's disease: the first roadblock*. J Cell Mol Med, 2006. **10**(4): p. 837-46.
77. Uversky, V.N., *Neuropathology, biochemistry, and biophysics of alpha-synuclein aggregation*. J Neurochem, 2007. **103**(1): p. 17-37.
78. Polymeropoulos, M.H., et al., *Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease*. Science, 1997. **276**(5321): p. 2045-7.
79. Singleton, A.B., et al., *alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease*. Science, 2003. **302**(5646): p. 841.
80. Chen, L. and M.B. Feany, *Alpha-synuclein phosphorylation controls neurotoxicity and inclusion formation in a Drosophila model of Parkinson disease*. Nat Neurosci, 2005. **8**(5): p. 657-63.
81. Fujiwara, H., et al., *alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions*. Nat Cell Biol, 2002. **4**(2): p. 160-4.
82. Anderson, J.P., et al., *Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of alpha-synuclein in familial and sporadic Lewy body disease*. J Biol Chem, 2006. **281**(40): p. 29739-52.
83. Farrer, M.J., *Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects*. Nat Rev Genet, 2006. **7**(4): p. 306-18.
84. Layfield, R., J. Lowe, and L. Bedford, *The ubiquitin-proteasome system and neurodegenerative disorders*. Essays Biochem, 2005. **41**: p. 157-71.
85. Lowe, J., et al., *Ubiquitin is a common factor in intermediate filament inclusion bodies of diverse type in man, including those of Parkinson's disease, Pick's disease, and Alzheimer's disease, as well as Rosenthal fibres in cerebellar astrocytomas, cytoplasmic bodies in muscle, and mallory bodies in alcoholic liver disease*. J Pathol, 1988. **155**(1): p. 9-15.
86. Przedborski, S., et al., *Free radical and nitric oxide toxicity in Parkinson's disease*. Adv Neurol, 2003. **91**: p. 83-94.
87. Giasson, B.I., et al., *Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions*. Science, 2000. **290**(5493): p. 985-9.
88. Tanner, C.M., et al., *Parkinson disease in twins: an etiologic study*. Jama, 1999. **281**(4): p. 341-6.
89. Langston, J.W., et al., *Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis*. Science, 1983. **219**(4587): p. 979-80.
90. Frigerio, R., et al., *Chemical exposures and Parkinson's disease: a population-based case-control study*. Mov Disord, 2006. **21**(10): p. 1688-92.
91. Gash, D.M., et al., *Trichloroethylene: Parkinsonism and complex 1 mitochondrial neurotoxicity*. Ann Neurol, 2008. **63**(2): p. 184-92.
92. Uversky, V.N., *Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration*. Cell Tissue Res, 2004. **318**(1): p. 225-41.
93. Bove, J., et al., *Toxin-induced models of Parkinson's disease*. NeuroRx, 2005. **2**(3): p. 484-94.

94. Meredith, G.E., G.M. Halliday, and S. Totterdell, *A critical review of the development and importance of proteinaceous aggregates in animal models of Parkinson's disease: new insights into Lewy body formation*. Parkinsonism Relat Disord, 2004. **10**(4): p. 191-202.
95. Brighina, L., et al., *{alpha}-Synuclein, pesticides, and Parkinson disease: A case-control study*. Neurology, 2008. **70**(16 Pt 2): p. 1461-9.
96. Inden, M., et al., *Neurodegeneration of mouse nigrostriatal dopaminergic system induced by repeated oral administration of rotenone is prevented by 4-phenylbutyrate, a chemical chaperone*. J Neurochem, 2007. **101**(6): p. 1491-1504.
97. Hoglinger, G.U., et al., *The mitochondrial complex I inhibitor rotenone triggers a cerebral tauopathy*. J Neurochem, 2005. **95**(4): p. 930-9.
98. Hoglinger, G.U., W.H. Oertel, and E.C. Hirsch, *The rotenone model of parkinsonism--the five years inspection*. J Neural Transm Suppl, 2006(70): p. 269-72.
99. Dickson, D., *Neurodegeneration : the molecular pathology of dementia and movement disorders*. Pathology & genetics. 2003, Basel, Switz.: International Society of Neuropathology. 414.
100. Hughes, A.J., et al., *The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service*. Brain, 2002. **125**(Pt 4): p. 861-70.
101. Double, K.L., et al., *The comparative biology of neuromelanin and lipofuscin in the human brain*. Cell Mol Life Sci, 2008.
102. Gomez-Tortosa, E., et al., *alpha-Synuclein immunoreactivity in dementia with Lewy bodies: morphological staging and comparison with ubiquitin immunostaining*. Acta Neuropathol, 2000. **99**(4): p. 352-7.
103. Jellinger, K.A., *Lewy body-related alpha-synucleinopathy in the aged human brain*. J Neural Transm, 2004. **111**(10-11): p. 1219-35.
104. Ma, S.Y., et al., *A quantitative morphometrical study of neuron degeneration in the substantia nigra in Parkinson's disease*. J Neurol Sci, 1996. **140**(1-2): p. 40-5.
105. Zarow, C., et al., *Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases*. Arch Neurol, 2003. **60**(3): p. 337-41.
106. Damier, P., et al., *The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease*. Brain, 1999. **122 (Pt 8)**: p. 1437-48.
107. Damier, P., et al., *The substantia nigra of the human brain. I. Nigrosomes and the nigral matrix, a compartmental organization based on calbindin D(28K) immunohistochemistry*. Brain, 1999. **122 (Pt 8)**: p. 1421-36.
108. Hirsch, E.C., et al., *The role of glial reaction and inflammation in Parkinson's disease*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **991**: p. 214-28.
109. Block, M.L., L. Zecca, and J.S. Hong, *Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms*. Nat Rev Neurosci, 2007. **8**(1): p. 57-69.
110. Hishikawa, N., et al., *Widespread occurrence of argyrophilic glial inclusions in Parkinson's disease*. Neuropathol Appl Neurobiol, 2001. **27**(5): p. 362-72.
111. Braak, H., et al., *Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease*. Neurobiol Aging, 2003. **24**(2): p. 197-211.
112. Braak, H. and E. Braak, *Neuropathological staging of Alzheimer-related changes*. Acta Neuropathol, 1991. **82**(4): p. 239-59.
113. Braak, H., et al., *Stanley Fahn Lecture 2005: The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered*. Mov Disord, 2006. **21**(12): p. 2042-51.
114. Zaccai, J., et al., *Patterns and stages of alpha-synucleinopathy*. Neurology, 2008. **70**(13): p. 1042-1048.
115. Attems, J. and K.A. Jellinger, *The dorsal motor nucleus of the vagus is not an obligatory trigger site of Parkinson's disease*. Neuropathol Appl Neurobiol, 2008.
116. Przuntek, H., T. Muller, and P. Riederer, *Diagnostic staging of Parkinson's disease: conceptual aspects*. J Neural Transm, 2004. **111**(2): p. 201-16.

117. Tissingh, G., et al., *Loss of olfaction in de novo and treated Parkinson's disease: possible implications for early diagnosis*. *Mov Disord*, 2001. **16**(1): p. 41-6.
118. Ponsen, M.M., et al., *Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease*. *Ann Neurol*, 2004. **56**(2): p. 173-81.
119. Lu, J., et al., *A putative flip-flop switch for control of REM sleep*. *Nature*, 2006. **441**(7093): p. 589-94.
120. Iranzo, A., et al., *Rapid-eye-movement sleep behaviour disorder as an early marker for a neurodegenerative disorder: a descriptive study*. *Lancet Neurol*, 2006. **5**(7): p. 572-7.
121. Fantini, M.L., et al., *Olfactory deficit in idiopathic rapid eye movements sleep behavior disorder*. *Brain Res Bull*, 2006. **70**(4-6): p. 386-90.
122. Ferini-Strambi, L., et al., *Cardiac autonomic activity during wakefulness and sleep in REM sleep behavior disorder*. *Sleep*, 1996. **19**(5): p. 367-9.
123. Shiba, M., et al., *Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson's disease: a case-control study*. *Mov Disord*, 2000. **15**(4): p. 669-77.
124. Remy, P., et al., *Depression in Parkinson's disease: loss of dopamine and noradrenaline innervation in the limbic system*. *Brain*, 2005. **128**(Pt 6): p. 1314-22.
125. Wakabayashi, K. and H. Takahashi, *Neuropathology of autonomic nervous system in Parkinson's disease*. *Eur Neurol*, 1997. **38 Suppl 2**: p. 2-7.
126. Klos, K.J., et al., *Alpha-synuclein pathology in the spinal cords of neurologically asymptomatic aged individuals*. *Neurology*, 2006. **66**(7): p. 1100-2.
127. Bloch, A., et al., *Alpha-synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects*. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2006. **32**(3): p. 284-95.
128. Braak, H., et al., *Parkinson's disease: lesions in dorsal horn layer I, involvement of parasympathetic and sympathetic pre- and postganglionic neurons*. *Acta Neuropathol*, 2007. **113**(4): p. 421-9.
129. Braak, H., 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**(1): p. 67-72.
130. Probst, A., A. Bloch, and M. Tolnay, *New insights into the pathology of Parkinson's disease: does the peripheral autonomic system become central?* *Eur J Neurol*, 2008. **15 Suppl 1**: p. 1-4.
131. Yoshida, M., *Multiple system atrophy: alpha-synuclein and neuronal degeneration*. *Neuropathology*, 2007. **27**(5): p. 484-93.
132. Poewe, W. and G. Wenning, *The differential diagnosis of Parkinson's disease*. *Eur J Neurol*, 2002. **9 Suppl 3**: p. 23-30.
133. Jost, W.H., *Autonomic dysfunctions in idiopathic Parkinson's disease*. *J Neurol*, 2003. **250 Suppl 1**: p. 128-30.
134. Visser, M., et al., *Assessment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease: the SCOPA-AUT*. *Mov Disord*, 2004. **19**(11): p. 1306-12.
135. Verbaan, D., et al., *Patient-reported autonomic symptoms in Parkinson disease*. *Neurology*, 2007. **69**(4): p. 333-41.
136. Papapetropoulos, S., A.A. Argyriou, and E. Chroni, *No correlation between the clinical severity of autonomic symptoms (SCOPA-AUT) and electrophysiological test abnormalities in advanced Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2006. **21**(3): p. 430-1.
137. Goldstein, D.S., et al., *Cardiac sympathetic denervation preceding motor signs in Parkinson disease*. *Clin Auton Res*, 2007. **17**(2): p. 118-21.
138. Litvan, I. and Y. Agid, *Atypical Parkinsonian disorders : clinical and research aspects*. *Current clinical neurology*. 2005, Totowa, N.J.: Humana Press. xix, 512.
139. Hilz, M.J. and M. Dutsch, *Quantitative studies of autonomic function*. *Muscle Nerve*, 2006. **33**(1): p. 6-20.
140. Goldstein, D.S., *Dysautonomia in Parkinson's disease: neurocardiological abnormalities*. *Lancet Neurol*, 2003. **2**(11): p. 669-76.

141. Orimo, S., et al., *(123)I-metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in Parkinson's disease*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1999. **67**(2): p. 189-94.
142. Sharabi, Y., et al., *Neurotransmitter specificity of sympathetic denervation in Parkinson's disease*. Neurology, 2003. **60**(6): p. 1036-9.
143. Senard, J.M., et al., *Effects of yohimbine on plasma catecholamine levels in orthostatic hypotension related to Parkinson disease or multiple system atrophy*. Clin Neuropharmacol, 1993. **16**(1): p. 70-6.
144. Orimo, S., et al., *Sympathetic cardiac denervation in Parkinson's disease and pure autonomic failure but not in multiple system atrophy*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2002. **73**(6): p. 776-7.
145. Orimo, S., et al., *[123I] meta-iodobenzylguanidine myocardial scintigraphy differentiates corticobasal degeneration from Parkinson's disease*. Intern Med, 2003. **42**(1): p. 127-8.
146. Orimo, S., et al., *Preserved cardiac sympathetic nerve accounts for normal cardiac uptake of MIBG in PARK2*. Mov Disord, 2005. **20**(10): p. 1350-3.
147. Riley, D.E. and T.C. Chelimsky, *Autonomic nervous system testing may not distinguish multiple system atrophy from Parkinson's disease*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003. **74**(1): p. 56-60.
148. Oka, H., et al., *Characteristics of orthostatic hypotension in Parkinson's disease*. Brain, 2007. **130**(Pt 9): p. 2425-32.
149. Orimo, S., et al., *Degeneration of cardiac sympathetic nerve begins in the early disease process of Parkinson's disease*. Brain Pathol, 2007. **17**(1): p. 24-30.
150. Orimo, S., et al., *Axonal alpha-synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease*. Brain, 2008. **131**(Pt 3): p. 642-50.
151. Dabby, R., et al., *Skin biopsy for assessment of autonomic denervation in Parkinson's disease*. J Neural Transm, 2006. **113**(9): p. 1169-76.
152. Rossi, A., et al., *Skin biopsy: a new diagnostic tool for autonomic dysfunctions in Parkinson's disease?* Lancet Neurol, 2007. **6**(10): p. 848-9; author reply 849.
153. Minguez-Castellanos, A., et al., *Do alpha-synuclein aggregates in autonomic plexuses predate Lewy body disorders?: a cohort study*. Neurology, 2007. **68**(23): p. 2012-8.
154. Sangrajang, S., et al., *Estramustine resistance correlates with tau over-expression in human prostatic carcinoma cells*. Int J Cancer, 1998. **77**(4): p. 626-31.
155. Pfeiffer, R.F., *Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease*. Lancet Neurol, 2003. **2**(2): p. 107-16.
156. Edwards, L.L., et al., *Gastrointestinal symptoms in Parkinson's disease*. Mov Disord, 1991. **6**(2): p. 151-6.
157. Edwards, L.L., E.M. Quigley, and R.F. Pfeiffer, *Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease: frequency and pathophysiology*. Neurology, 1992. **42**(4): p. 726-32.
158. Longstreth, G.F., et al., *Functional bowel disorders*. Gastroenterology, 2006. **130**(5): p. 1480-91.
159. Kaye, J., et al., *Excess burden of constipation in Parkinson's disease: a pilot study*. Mov Disord, 2006. **21**(8): p. 1270-3.
160. Bassotti, G., et al., *Manometric investigation of anorectal function in early and late stage Parkinson's disease*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2000. **68**(6): p. 768-70.
161. Sakakibara, R., et al., *Colonic transit time and rectoanal videomanometry in Parkinson's disease*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003. **74**(2): p. 268-72.
162. Abbott, R.D., et al., *Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease*. Neurology, 2001. **57**(3): p. 456-62.
163. Ali, G.N., et al., *Mechanisms of oral-pharyngeal dysphagia in patients with Parkinson's disease*. Gastroenterology, 1996. **110**(2): p. 383-92.
164. Born, L.J., et al., *Cricopharyngeal dysfunction in Parkinson's disease: role in dysphagia and response to myotomy*. Mov Disord, 1996. **11**(1): p. 53-8.

165. Stocchi, F., et al., *Anorectal function in multiple system atrophy and Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2000. **15**(1): p. 71-6.
166. Bassotti, G., et al., *Esophageal manometric abnormalities in Parkinson's disease*. *Dysphagia*, 1998. **13**(1): p. 28-31.
167. Castell, J.A., et al., *Manometric abnormalities of the oesophagus in patients with Parkinson's disease*. *Neurogastroenterol Motil*, 2001. **13**(4): p. 361-4.
168. Johnston, B.T., et al., *Repetitive proximal esophageal contractions: a new manometric finding and a possible further link between Parkinson's disease and achalasia*. *Dysphagia*, 2001. **16**(3): p. 186-9.
169. Hermanowicz, N., *Fatal gastroparesis in a patient with Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2008. **23**(1): p. 152-3.
170. Soykan, I., et al., *Demography, clinical characteristics, psychological and abuse profiles, treatment, and long-term follow-up of patients with gastroparesis*. *Dig Dis Sci*, 1998. **43**(11): p. 2398-404.
171. Soykan, I., et al., *Gastric myoelectrical activity in patients with Parkinson's disease: evidence of a primary gastric abnormality*. *Dig Dis Sci*, 1999. **44**(5): p. 927-31.
172. Ashraf, W., et al., *Constipation in Parkinson's disease: objective assessment and response to psyllium*. *Mov Disord*, 1997. **12**(6): p. 946-51.
173. Marinella, M.A., *Acute colonic pseudo-obstruction complicated by cecal perforation in a patient with Parkinson's disease*. *South Med J*, 1997. **90**(10): p. 1023-6.
174. Rosenthal, M.J. and C.E. Marshall, *Sigmoid volvulus in association with parkinsonism. Report of four cases*. *J Am Geriatr Soc*, 1987. **35**(7): p. 683-4.
175. Ueki, A. and M. Otsuka, *Life style risks of Parkinson's disease: association between decreased water intake and constipation*. *J Neurol*, 2004. **251 Suppl 7**: p. vii18-23.
176. Palace, J., V.A. Chandiramani, and C.J. Fowler, *Value of sphincter electromyography in the diagnosis of multiple system atrophy*. *Muscle Nerve*, 1997. **20**(11): p. 1396-403.
177. Qualman, S.J., et al., *Esophageal Lewy bodies associated with ganglion cell loss in achalasia. Similarity to Parkinson's disease*. *Gastroenterology*, 1984. **87**(4): p. 848-56.
178. Goldblum, J.R., et al., *Achalasia. A morphologic study of 42 resected specimens*. *Am J Surg Pathol*, 1994. **18**(4): p. 327-37.
179. Kupsky, W.J., et al., *Parkinson's disease and megacolon: concentric hyaline inclusions (Lewy bodies) in enteric ganglion cells*. *Neurology*, 1987. **37**(7): p. 1253-5.
180. Wakabayashi, K., [*Parkinson's disease: the distribution of Lewy bodies in the peripheral autonomic nervous system*]. *No To Shinkei*, 1989. **41**(10): p. 965-71.
181. Wakabayashi, K., et al., *Lewy bodies in the visceral autonomic nervous system in Parkinson's disease*. *Adv Neurol*, 1993. **60**: p. 609-12.
182. Wakabayashi, K., et al., *Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses*. *Acta Neuropathol*, 1988. **76**(3): p. 217-221.
183. Wakabayashi, K., et al., *Lewy bodies in the enteric nervous system in Parkinson's disease*. *Arch Histol Cytol*, 1989. **52 Suppl**: p. 191-4.
184. Wakabayashi, K., et al., *Parkinson's disease: an immunohistochemical study of Lewy body-containing neurons in the enteric nervous system*. *Acta Neuropathol*, 1990. **79**(6): p. 581-3.
185. Devoto, P., et al., *Evidence for co-release of noradrenaline and dopamine from noradrenergic neurons in the cerebral cortex*. *Mol Psychiatry*, 2001. **6**(6): p. 657-64.
186. Hughes, A.J., S.E. Daniel, and A.J. Lees, *Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease*. *Neurology*, 2001. **57**(8): p. 1497-9.
187. ANAES, *Indications for lower gastrointestinal endoscopy (excluding population screening). Clinical practice guidelines*. 2004, French National Agency for Accreditation and Evaluation in Healthcare.
188. Neunlist, M., et al., *Changes in chemical coding of myenteric neurones in ulcerative colitis*. *Gut*, 2003. **52**(1): p. 84-90.

189. Meijering, E., et al., *Design and validation of a tool for neurite tracing and analysis in fluorescence microscopy images*. Cytometry A, 2004. **58**(2): p. 167-76.
190. Schneider, J., et al., *Neurotransmitter coding of enteric neurones in the submucous plexus is changed in non-inflamed rectum of patients with Crohn's disease*. Neurogastroenterol Motil, 2001. **13**(3): p. 255-64.
191. Dafnis, G., et al., *Complications of diagnostic and therapeutic colonoscopy within a defined population in Sweden*. Gastrointest Endosc, 2001. **54**(3): p. 302-9.
192. Rajan, E., et al., *Endoscopic "no hole" full-thickness biopsy of the stomach to detect myenteric ganglia*. Gastrointest Endosc, 2008.
193. Stadelmann, C., et al., *Activation of caspase-3 in single neurons and autophagic granules of granulovacuolar degeneration in Alzheimer's disease. Evidence for apoptotic cell death*. Am J Pathol, 1999. **155**(5): p. 1459-66.
194. Regeur, L., et al., *No global neocortical nerve cell loss in brains from patients with senile dementia of Alzheimer's type*. Neurobiol Aging, 1994. **15**(3): p. 347-52.
195. Jellinger, K.A., *Age-associated prevalence and risk factors of Lewy body pathology in a general population*. Acta Neuropathol, 2003. **106**(4): p. 383-4.
196. Jenner, P., *Oxidative stress in Parkinson's disease*. Ann Neurol, 2003. **53 Suppl 3**: p. S26-36; discussion S36-8.
197. Chevalier, J., et al., *Activity-dependent regulation of tyrosine hydroxylase expression in the enteric nervous system*. J Physiol, 2008. **586**(7): p. 1963-75.
198. Phillips, R.J., et al., *Alpha-synuclein-immunopositive myenteric neurons and vagal preganglionic terminals: Autonomic pathway implicated in Parkinson's disease?* Neuroscience, 2008.

	Sympathique	Parasympathique
Œil - Iris (muscle radial) - Iris (muscle circulaire) - Muscle ciliaire	Contracte (α_1) Relâche (β)	Contracte (M3) Contracte (M3)
Cœur - Nœud sinusal - Contractilité	Accélère (β_1, β_2) Augmente (β_1, β_2)	Ralentit (M2) Diminue (M2)
Vaisseaux sanguins - Peau, vaisseaux splanchniques - Muscles squelettiques - Endothélium	Contracte (α) Relâche (β_2)/contracte (α) Relâche (M3)	Libère de l'EDRF (M3)
Muscle lisse bronchiolaire	Relâche (β_2)	Contracte (M3)
Tractus gastrointestinal - Muscle lisse (parois) - Muscle lisse (sphincters) - Sécrétion - Plexus myentérique	Relâche (α_2, β_2) Contracte (α_1)	Contracte (M3) Relâche (M3) Augmente (M3) Active (M1)
Muscle lisse génito-urinaire - Paroi vésicale - Sphincter	Relâche (β_2) Contracte (α_1)	Contracte (M3) Relâche (M3)
Peau - Muscle lisse pilomoteur - Glandes sudoripares	Contracte (α) Augmente (M, α)	
Fonctions métaboliques - Foie - Adipocytes - Rein	Néoglucogénèse, glycogénolyse (β_2, α) Lipolyse (β_3) Libération de rénine (β_1)	
Terminaisons autonomes - Sympathiques - Parasympathiques	Diminue la libération d'acétylcholine (α)	Diminue la libération de noradrénaline (M)

Tableau 1. Effets de la stimulation des récepteurs sympathiques et parasympathiques (d'après Katzung)

A.

Inhibition présynaptique	Potentiel post-synaptique excitateur	Potentiel post-synaptique inhibiteur
ACh 5-HT Histamine Noradrénaline NPY Dopamine ?	ACh 5-HT VIP Histamine CCK, CGRP, PACAP Interleukines et TNF α	Noradrénaline 5-HT Adénosine, ATP CCK, somatostatine, opioïdes Dopamine ?

B.

Stimulation	Inhibition
ACh Adénosine 5-HT Histamine Neurokinine A, SP CCK, GRP, motiline, bombésine, opioïdes, TRH PGE ₂	NO VIP somatostatine GABA CGRP NPY Galanine, glucagon, neurotensine, PACAP, PHI, PYY, sécrétine Dopamine

5-HT, sérotonine ; GRP, gastrin releasing polypeptide; NO, nitric oxide; PGE₂, prostaglandine E₂; TRH, thyrotropin-releasing hormone; CGRP, calcitonin gene-regulated peptide; GABA, gamma butyric acid; NPY, neuropeptide Y; PACAP, pituitary adenylate cyclase activating polypeptide; PHI, peptide histidine isoleucine; PYY, peptide YY; SP, substance P ; VIP, vasoactive intestinal polypeptide.

Tableau 2. Principaux neurotransmetteurs et substances neurohumorales
(d'après Hansen)

(A) Principaux neurotransmetteurs prouvés du système nerveux entérique classés selon leur action électrophysiologique. **(B)** Principales substances neurohumorales, neurotransmetteurs établis ou non, classées selon leur action physiologique sur la motricité du tube digestif.

Catégorie	Maladie	Phénotype
Neuropathies entériques communes	Diabète Amylose	Association à des signes de dysautonomie et à une neuropathie périphérique facilitant le diagnostic Formes familiales
Neuropathies digestives familiales	Neuropathie viscérale familiale	Entité discutée, pas de gène identifié Dysphagie, POIC, pupilles aréactives, neuropathie périphérique Inclusions éosinophiles dans les ganglions myentériques
	MNGIE	Maladie mitochondriale Dysphagie, ophtalmoplégie progressive externe, POIC, neuropathie périphérique, leucoencéphalopathie Fibres rouges déchiquetées
	Syndrome triple A (ou syndrome d'Allgrove)	Alacrymie, achalasia et insuffisance surrénalienne périphérique
	Myopathie viscérale familiale	Pas à proprement parler une neuropathie Dysphagie, POIC, troubles urinaires
	Maladie à inclusions intranucléaires neuronales	Dysphagie, POIC, ataxie, ophtalmoplégie, crises oculogyres, fléchissement cognitif
	Maladie de Hirschprung	Aganglionose distale (rectum et sigmoïde en général) Contraction tonique du segment distal Sporadique ou plus souvent familial ; polygénique (RET, endothéline-3, Sox-10...)
Neuropathies entériques auto-immunes	Maladie des anticorps anti-sous unité $\alpha 3$ du récepteur nicotinique ganglionnaire	Dysmotilité gastrointestinale globale Réponse à la pyridostigmine et aux immunoglobulines polyvalentes
	Syndrome des anti-Hu	Neuropathie sensitive, syndrome cérébelleux Dysautonomie Paranéoplasique +++
	Myasthénie, neuromyotonie...	Dysmotilité gastro-intestinale au second plan
Neuropathies entériques indéterminées (dégénératives ?)	Achalasia	Perte des neurones inhibiteurs (NOS, VIP, SOM)
	Dysplasie neuronale intestinale	Hypoplasie de l'innervation extrinsèque avec diarrhée motrice (type A) ou hyperganglionnose (type B)

MNGIE : *mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy* ; POIC : *pseudo-obstruction intestinale chronique*

Tableau 3. Principales neuropathies entériques

	Age±écart type	Nombre	Sexe
Témoins sains	61,0±6,5	5	1 M / 4 F
Témoins constipés	51,7±4,7	3	0 M / 3 F
Patients parkinsoniens	62,8±6,9	5	3 M / 2 F

Tableau 4. Caractéristiques des patients

Système nerveux sympathique

Système nerveux parasympathique

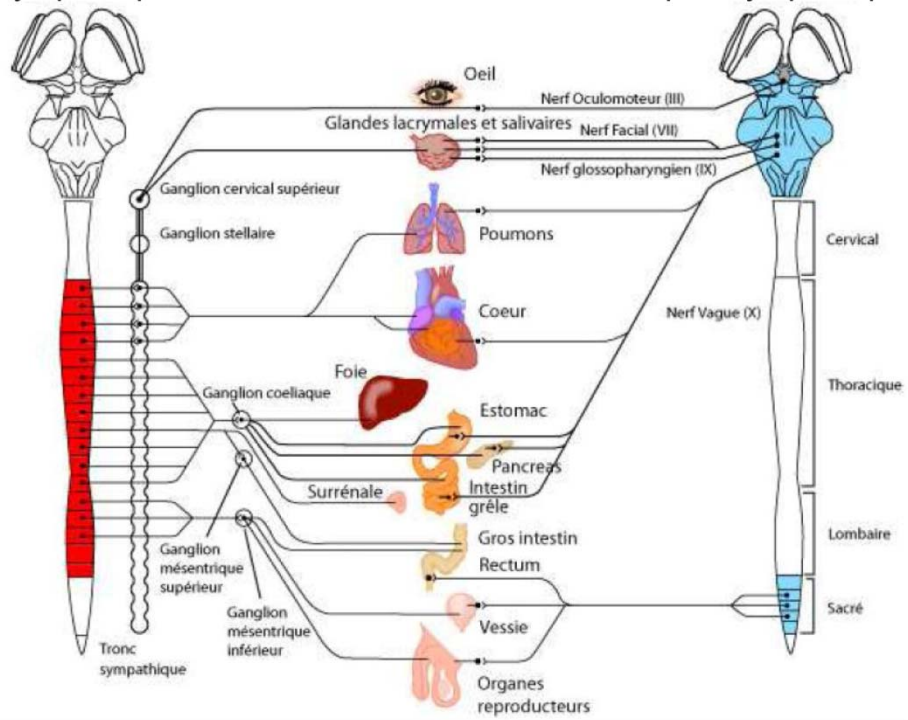


Figure 1. Organisation des systèmes sympathique et parasympathique

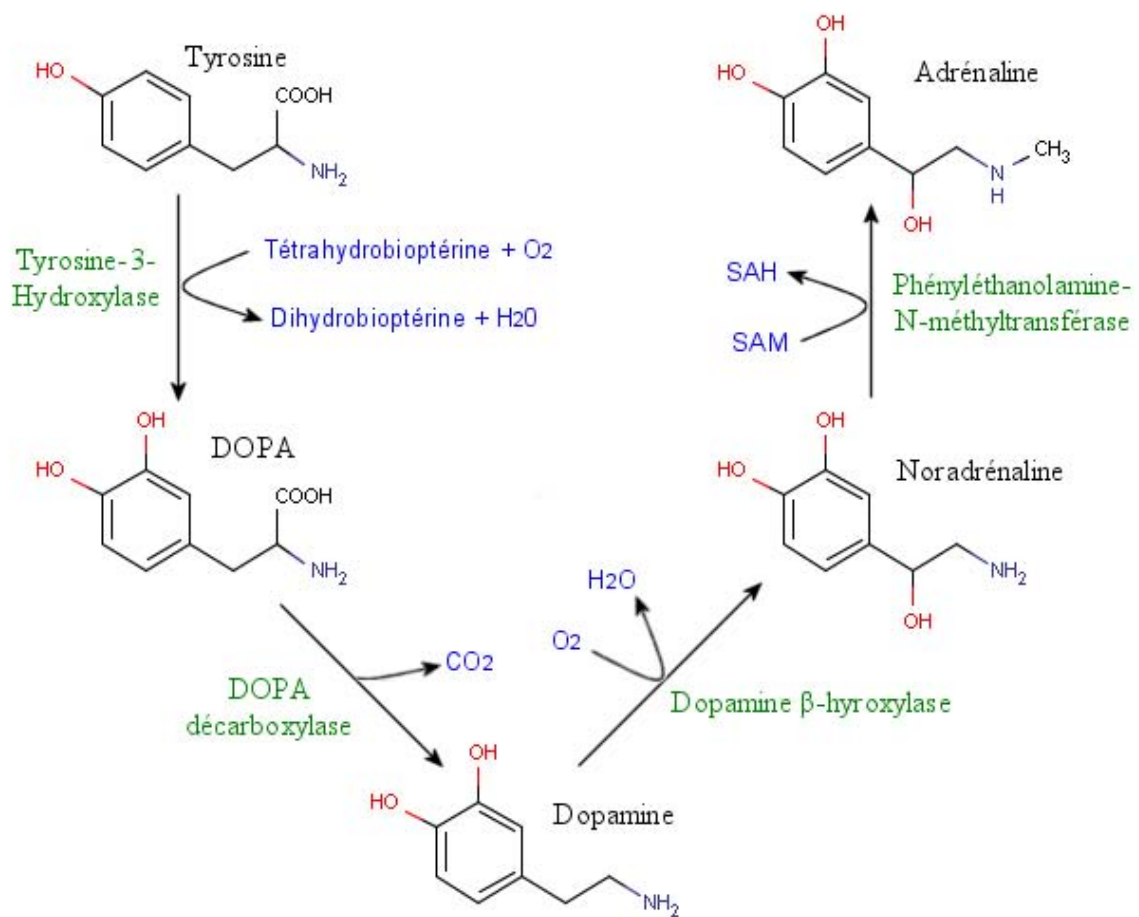


Figure 2. Synthèse des catécholamines

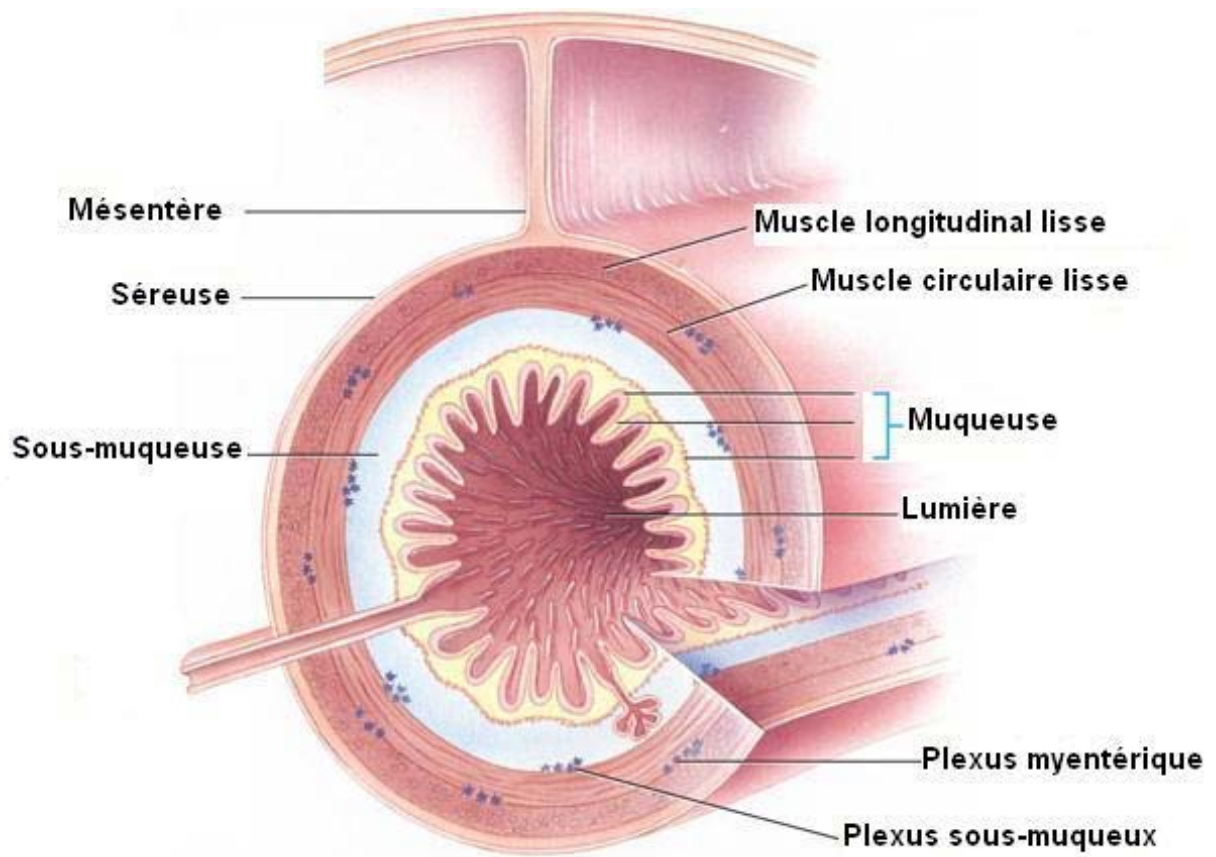


Figure 3. Situation du système nerveux entérique

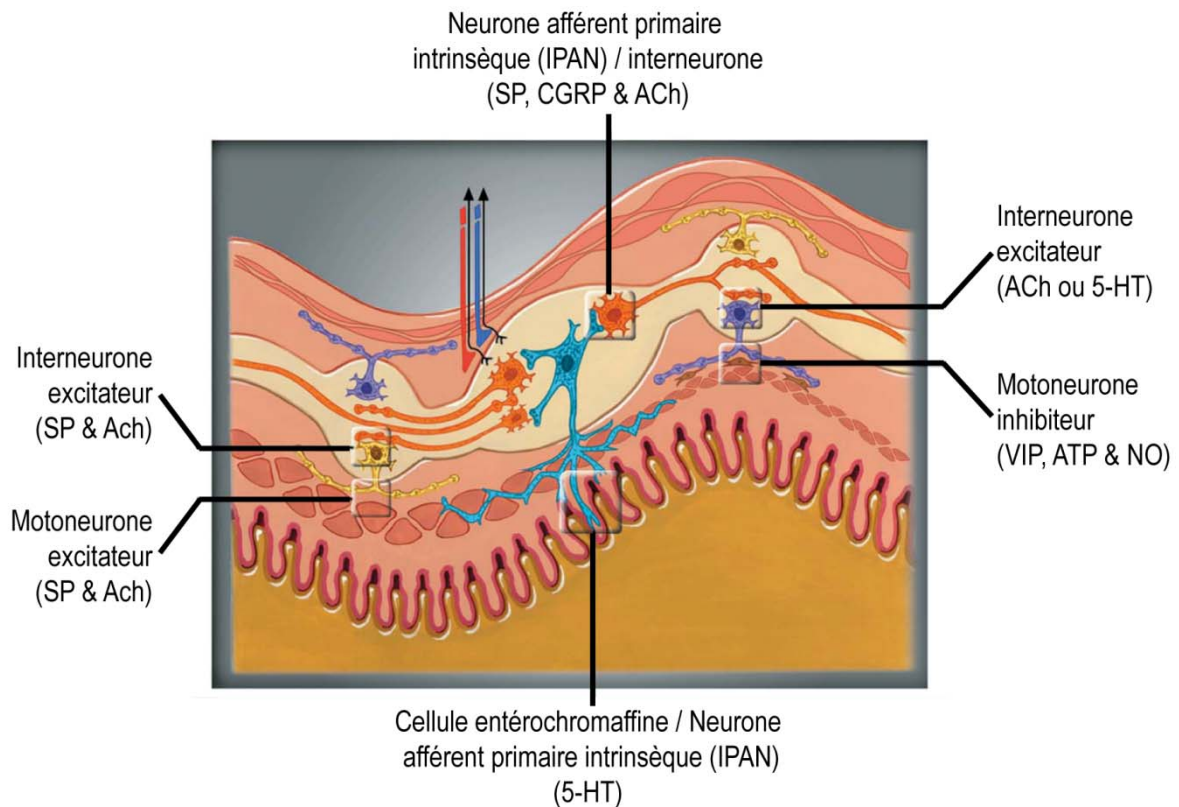


Figure 4. Le réflexe péristaltique (d'après Hansen)

Après stimulation muqueuse, la sérotonine (5-HT) est libérée par les cellules entérochromaffines et stimule les terminaisons des neurones afférents primaires intrinsèques (IPANs) (via les récepteurs 5-HT_{1P} et 5-HT_4). Ces neurones sensoriels utilisent la substance P (SP), l'acétylcholine (ACh), le glutamate et le CGRP (*calcitonin gene-related peptide*) comme neurotransmetteurs pour stimuler les interneurons. Les interneurons excitateurs (ACh, SP) projettent en direction orale sur les motoneurons excitateurs. Les interneurons inhibiteurs ont un phénotype neurochimique différent (5-HT et ACh) ; ils projettent en direction anale sur les motoneurons inhibiteurs.

Les motoneurons excitateurs libèrent ACh et SP dans le muscle. Les motoneurons inhibiteurs libèrent NO, VIP et ATP dans le muscle. Les efférences sympathiques libèrent la noradrénaline, mais également somatostatine et neuropeptide 1. Les efférences parasympathiques libèrent de l'ACh.

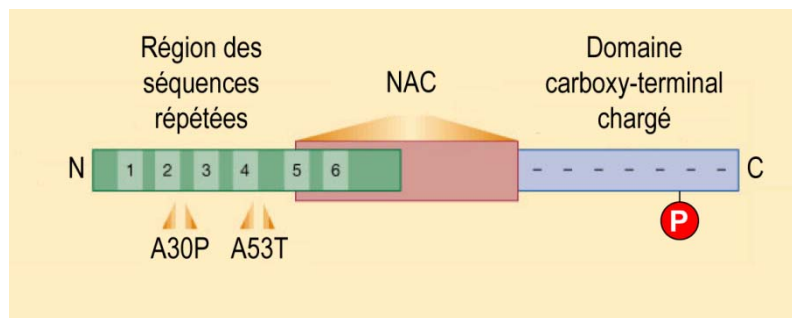


Figure 5. Structure de l' α -synucléine

Le domaine putatif de fixation aux lipides est constitué par un motif imparfaitement répété, représenté par les chiffres 1 à 6. Le domaine NAC (*non-amyloid component*) doit son nom au fait que cette portion tronquée de l' α -synucléine a été pour la première fois isolée dans les plaques séniles de la maladie d'Alzheimer. Les deux mutations les plus courantes associées à des maladies de Parkinson génétiques sont indiquées, de même que le site de phosphorylation sur sérine 129.

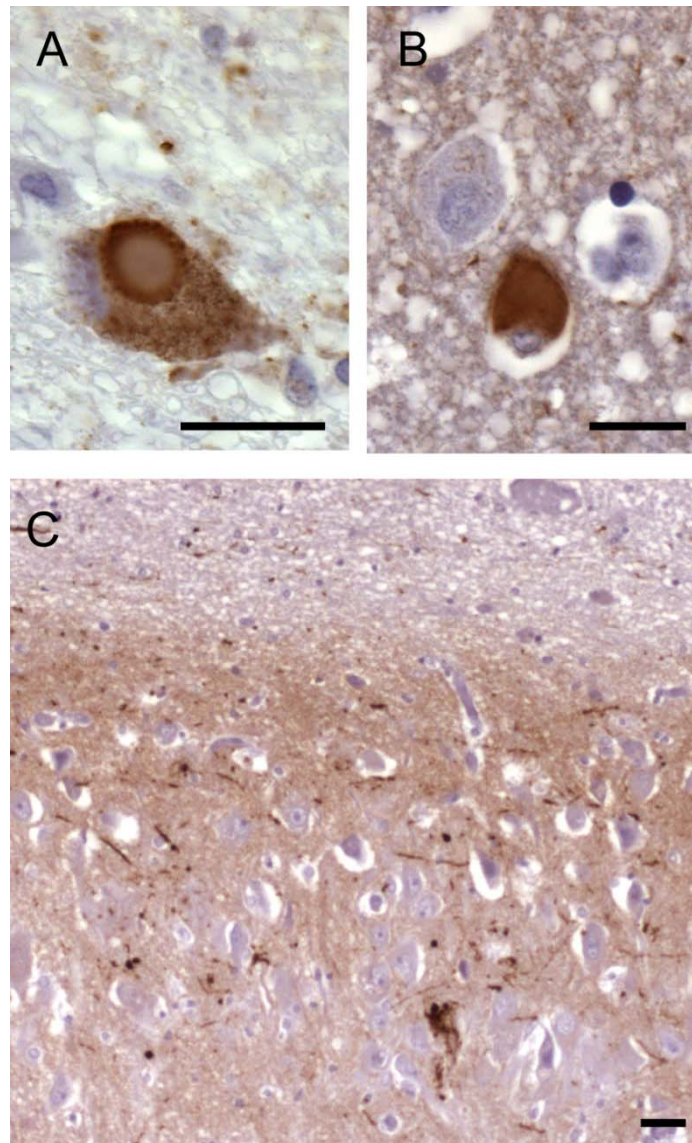
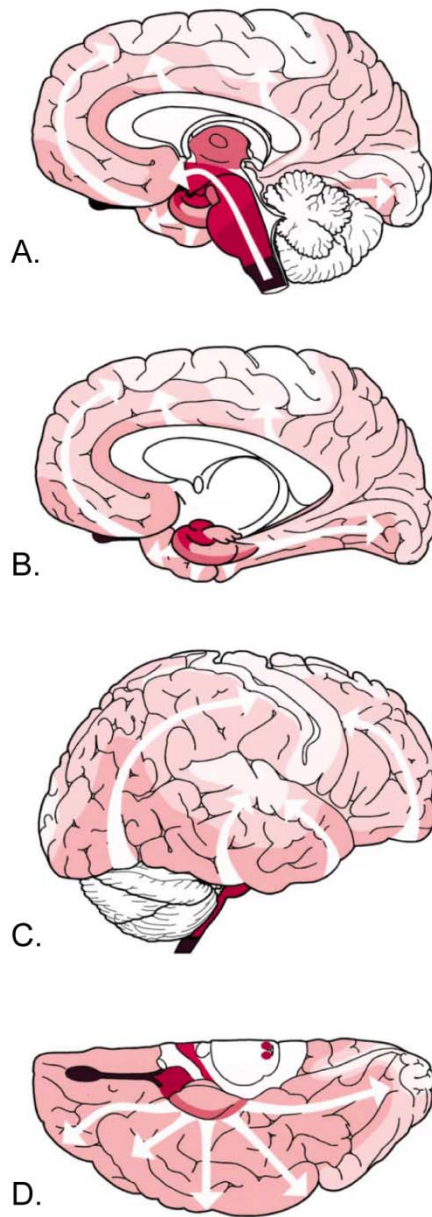


Figure 6. Lésions centrales de la maladie de Parkinson

Immunomarquage de l' α -synucléine (Syn-1) sur coupe de mésencéphale **(A)**, d'isocortex temporal **(B)** et d'hippocampe **(C)**. (détails). **A.** Corps de Lewy du tronc cérébral. **B.** Corps de Lewy cortical. **C.** Cortex hippocampique à la jonction CA2-CA3, montrant un marquage diffus physiologique de l' α -synucléine, et la présence d'une abondante pathologie neuritique (prolongements de Lewy). Echelle 40 μ m.



E.

	ndv	lco	sn	mcx	aap	aau
1						
2						
3						
4						
5						
6						

Les lésions surviennent initialement dans le noyau dorsal du vague (ndv) (**A, C**) et fréquemment (**A, D**) dans le noyau olfactif antérieur. Les lésions du tronc cérébral adoptent ensuite une course ascendante vers des régions moins vulnérables: locus coeruleus (lco) au stade 2, substantia nigra (sn) au stade 3 (**A**). Les lésions envahissent ensuite le cortex, commençant par le mésocortex temporal antéromédial (mcx) au stade 4 (**B**). Le néocortex est touché à son tour, à débiter par les aires associatives polymodales et le cortex préfrontal (aap) (**C, D**). Enfin les aires associatives unimodales, sensorielles et motrices (aau) terminent l'évolution. Le dégradé de couleurs représente l'évolution temporelle.

E: diagramme simplifié représentant l'expansion topographique. Le dégradé représente la sévérité de l'atteinte.

Figure 7. Progression temporo-spatiale des inclusions d' α -synucléine dans l'encéphale (d'après Braak)

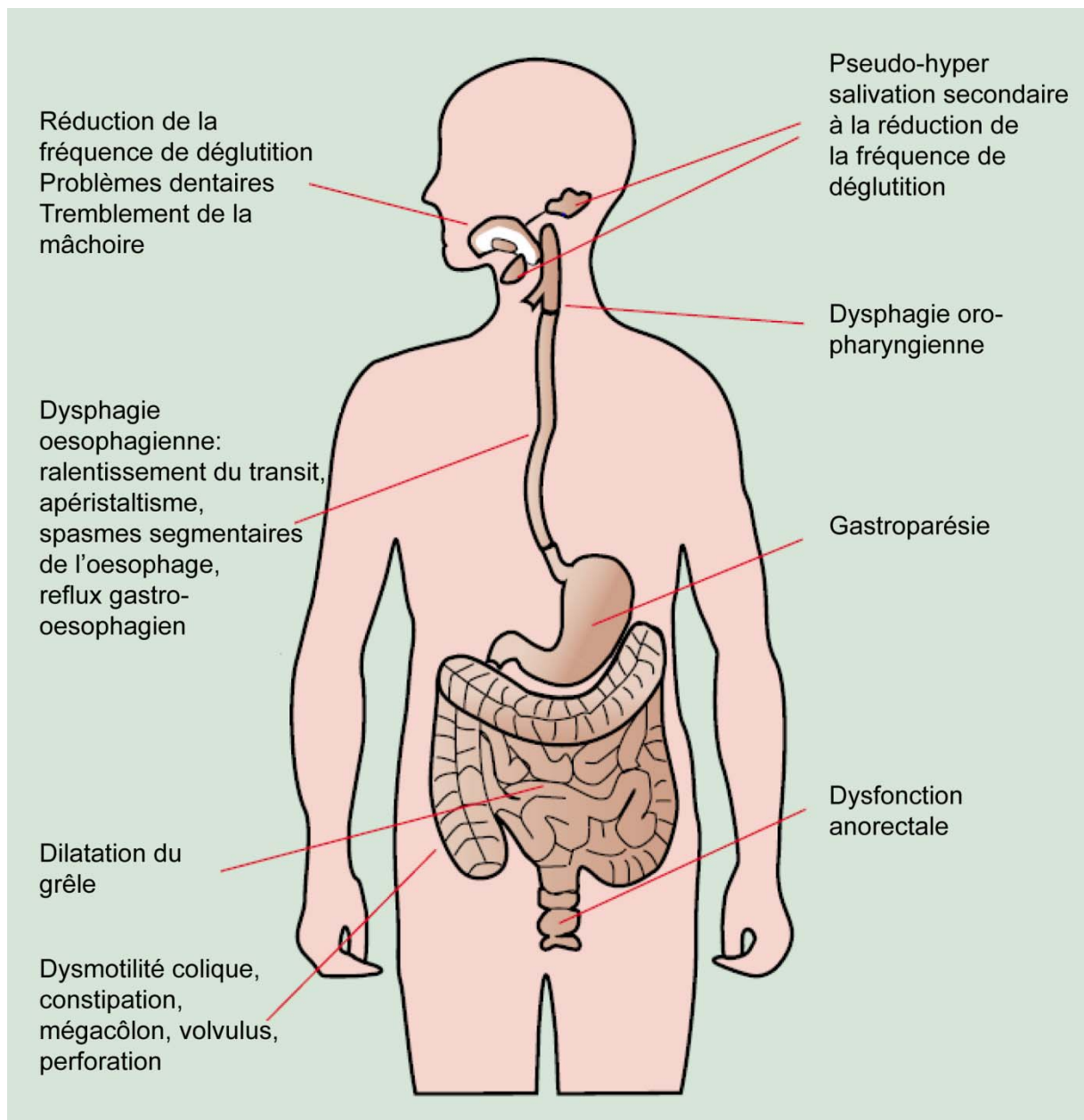


Figure 8. Spectre des manifestations gastrointestinales dans la maladie de Parkinson (d'après Pfeiffer)

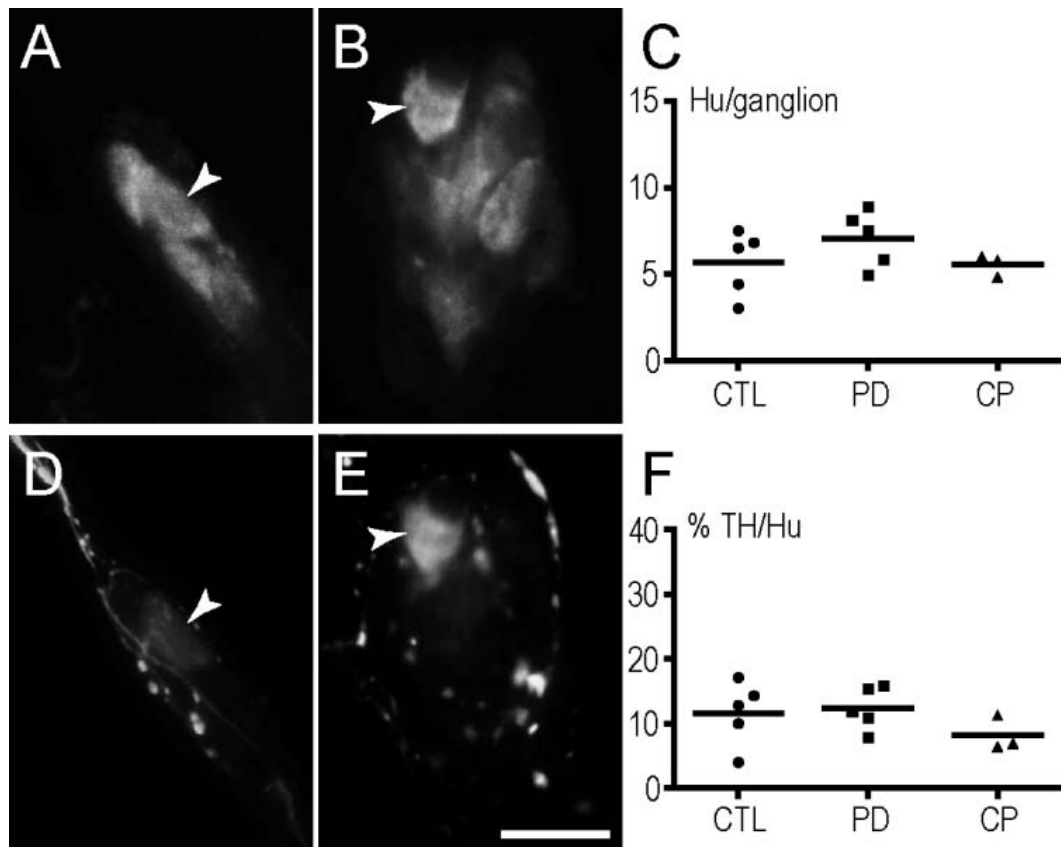


Figure 9. Dans le côlon, le nombre de neurones sous-muqueux et le phénotype dopaminergique ne sont pas modifiés chez les patients parkinsoniens

Les neurones sous-muqueux immunoréactifs pour Hu C/D sont dénombrés dans des biopsies coliques de témoins (A), de patients parkinsoniens (B) et de témoins constipés. Aucune variation du nombre de neurones sous-muqueux par ganglion n'est observée dans les trois conditions (C).

Un double immunomarquage dirigé contre Hu (AB) et TH (DE) montre que quelques neurones sont immunoréactifs pour TH (têtes de flèche). La proportion de neurones positifs pour la TH ne varie pas significativement dans les trois conditions.

Cercles, carrés et triangles représentent témoins sains, patients parkinsoniens et témoins constipés. Les barres horizontales représentent la moyenne. Echelle 20 μ m.

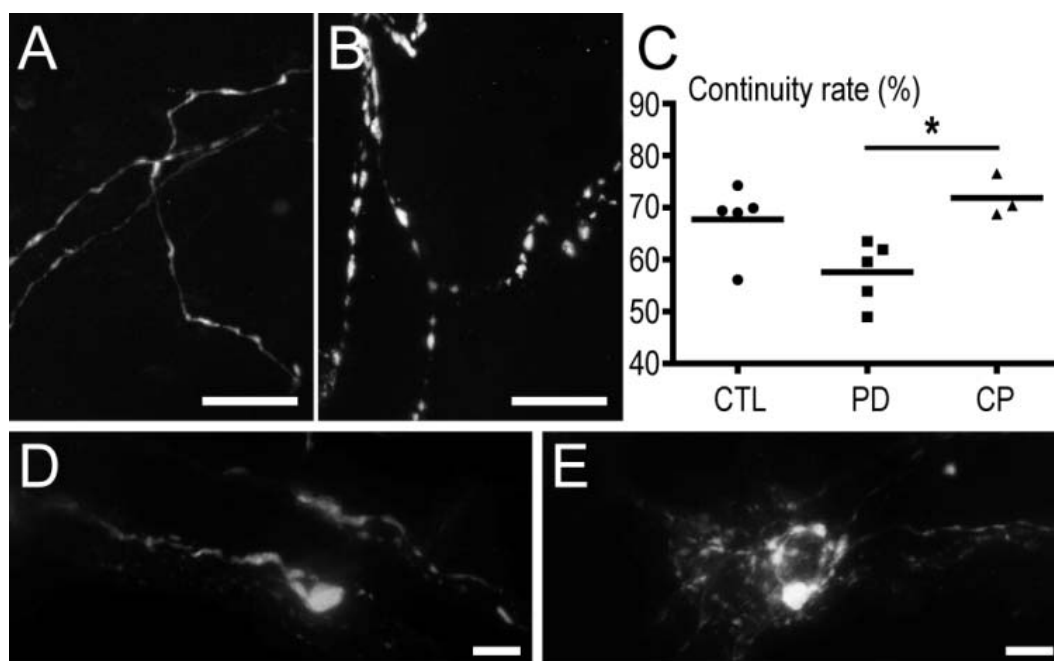


Figure 10. Les prolongements immunoréactifs pour la tyrosine hydroxylase du plexus sous-muqueux colique présentent un aspect dystrophique chez les patients atteints de la maladie de Parkinson

L'immunomarquage de la tyrosine hydroxylase (TH) révèle que les prolongements TH ont un aspect plus variqueux et moins continu chez les patients parkinsoniens (**B**) comparés aux témoins sains (**A**) ou constipés. Le taux de continuité, défini pour chaque fibre comme la proportion de sa longueur présentant une immunoréactivité supérieure à 50% de la fluorescence moyenne de la fibre, diminue significativement chez les patients parkinsoniens comparés aux témoins constipés ($p=0,011$) ; il tend à diminuer mais n'atteint pas le seuil de significativité ($p=0,056$) quand les parkinsoniens sont comparés aux témoins sains (**C**).

Par ailleurs des agrégats positifs pour la TH sont présents dans les fibres interganglionnaires et dans les ganglions. Ces structures dystrophiques sont électivement présentes chez les parkinsoniens. Cercles, carrés et triangles représentent témoins sains, patients parkinsoniens et témoins constipés. Les barres horizontales représentent la moyenne. Echelle 40 μm .

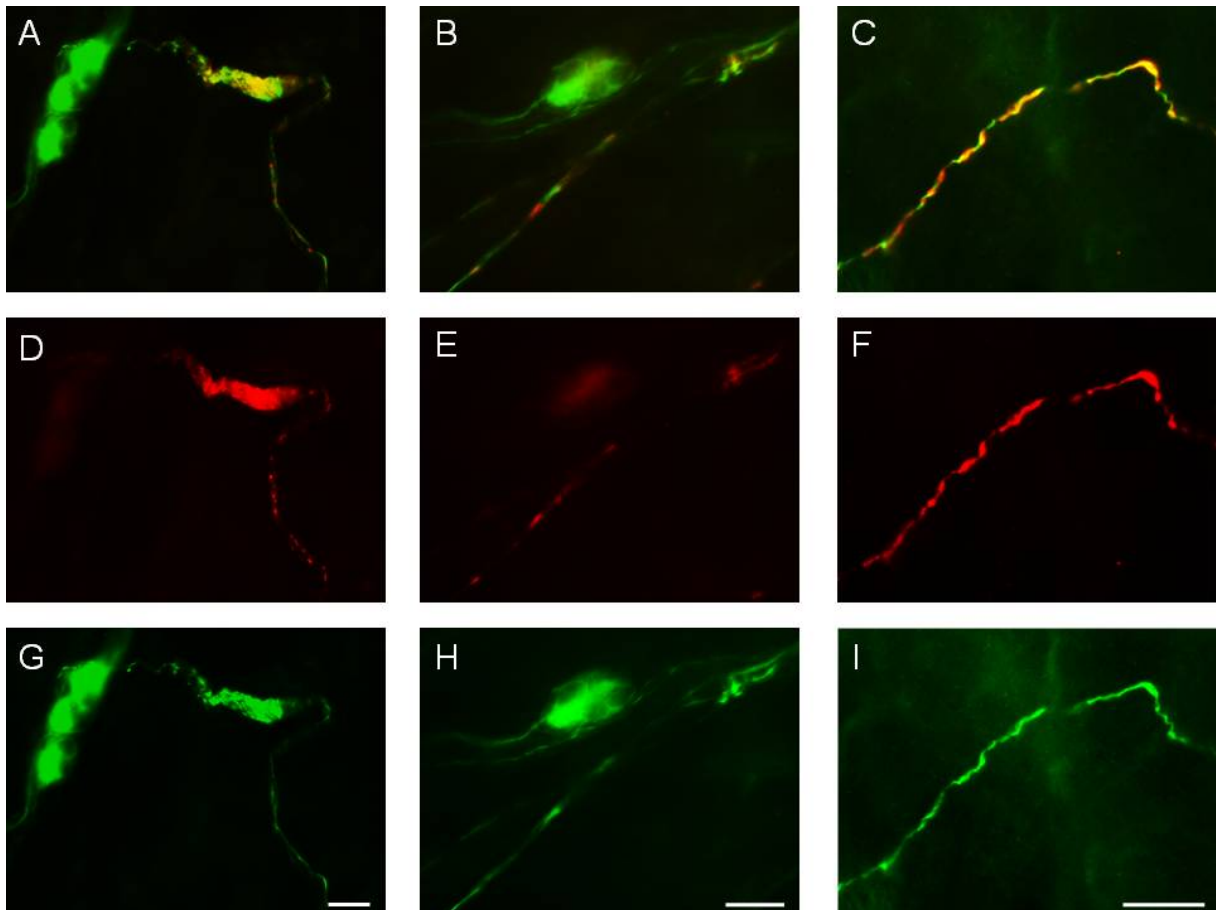


Figure 11. Prolongements immunoréactifs pour l' α -synucléine phosphorylée dans le plexus sous muqueux colique chez trois patients parkinsoniens

Un double immunomarquage des neurofilaments (NF) (**G-I**) et de l' α -synucléine phosphorylée (**D-F**) révèle que certains prolongements immunoréactifs pour NF sont également marqués par l'anti-phosphosynucléine (**A-C**) chez la majorité (4/5) des patients parkinsoniens mais chez aucun témoin.

Les prolongements marqués présentent parfois un aspect franchement dystrophique (**ADG**) rappelant les prolongements de Lewy du système nerveux central. A noter une faible immunoréactivité du soma (**E**) pour l' α -synucléine phosphorylée, présente chez les témoins comme chez les patients. Echelle 30 μ m.

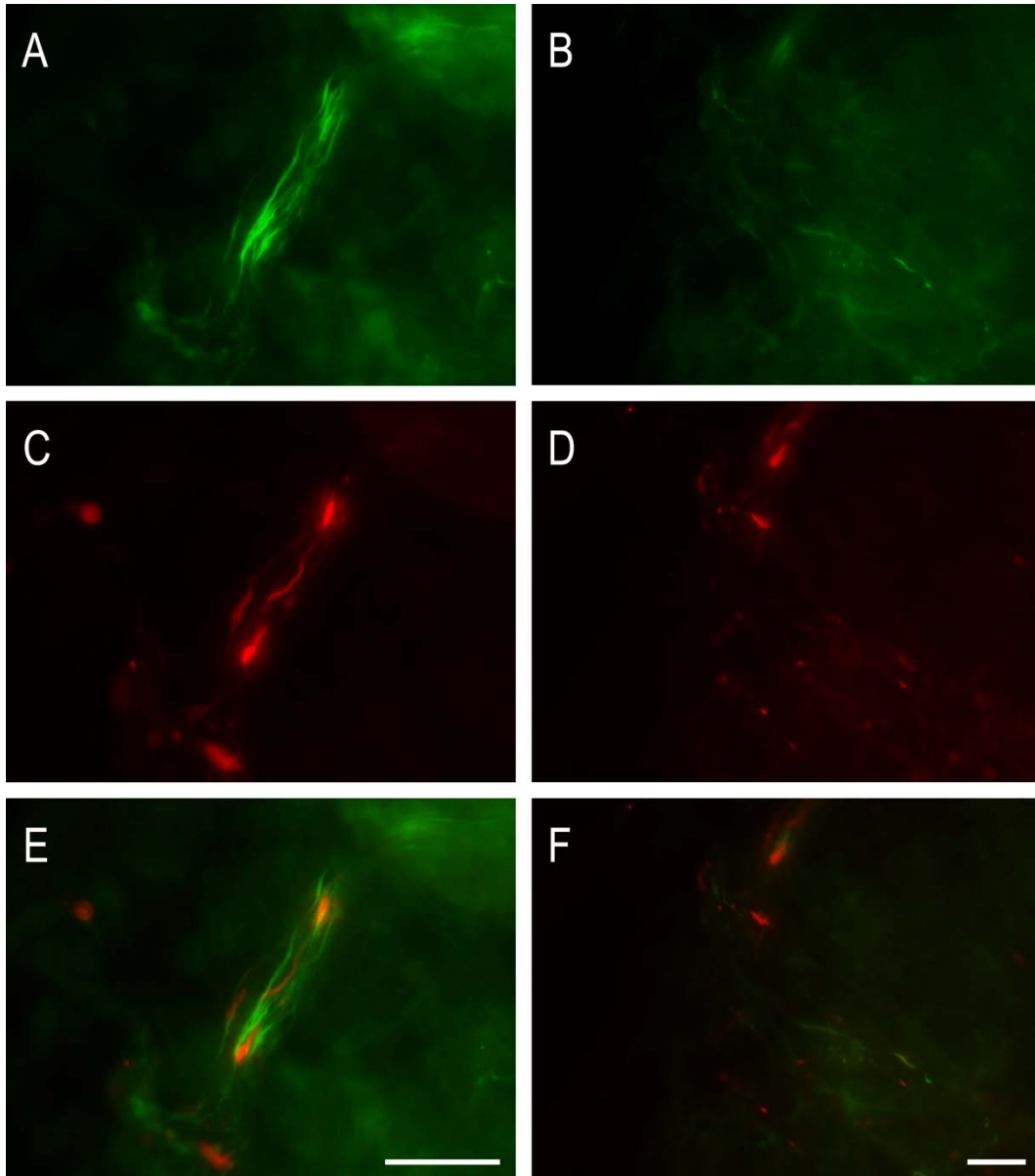


Figure 12. Prolongements immunoréactifs pour l' α -synucléine phosphorylée dans le plexus sous muqueux antral chez un patient parkinsonien

Un double immunomarquage des neurofilaments (NF) (**AB**) et de l' α -synucléine phosphorylée (**CD**) révèle que certains prolongements immunoréactifs pour NF sont également marqués par l'anti-phosphosynucléine (**EF**) dans un prélèvement antral chez un patient parkinsonien.

Echelle 30 μ m.

NOM : Lebouvier

PRENOM : Thibaud

Titre de Thèse : Système nerveux entérique et maladie de Parkinson

Résumé

Les études neuropathologiques récentes suggèrent que les lésions dégénératives de la maladie de Parkinson touchent le système nerveux autonome de façon précoce, dans son contingent central (centres végétatifs de la moelle et du tronc cérébral) comme dans son contingent périphérique (ganglions végétatifs et plexus intrinsèques). En outre, ce processus évoluerait de façon centripète, débutant par l'atteinte post-ganglionnaire. Ces éléments pointent les plexus intrinsèques comme origine potentielle de la maladie.

Les plexus intrinsèques du tractus digestif constituent le système nerveux entérique. Des arguments histologiques, physiologiques, cliniques et épidémiologiques suggèrent l'atteinte précoce de ce système complexe dans la maladie de Parkinson. Les troubles digestifs sont les plus fréquentes des manifestations non-motrices de la maladie, et l'atteinte nerveuse entérique pourrait en rendre partiellement compte.

Nous présentons une caractérisation des lésions du système nerveux entérique chez cinq patients atteints de la maladie de Parkinson et chez huit témoins. La technique que nous avons développée permet d'appréhender de façon précise le plexus de Meissner sur des biopsies endoscopiques standards. Des prolongements de Lewy, lésions caractéristiques de la maladie de Parkinson, sont visualisés chez quatre des cinq patients parkinsoniens au niveau colique, rectal ou gastrique et sont absents chez les contrôles. Ces résultats ouvrent la voie à de potentielles applications diagnostiques et thérapeutiques et contribuent à la compréhension de la pathogénie de la maladie de Parkinson.

Mots-clés

Maladie de Parkinson, système nerveux entérique, α -synucléine, corps de Lewy, système nerveux autonome, sympathique, noyau dorsal du vague