



HAL
open science

Interaction entre l' α -synucléine et LRRK2 dans la maladie de Parkinson : focus sur l'autophagie

Fanny Lebourg

► To cite this version:

Fanny Lebourg. Interaction entre l' α -synucléine et LRRK2 dans la maladie de Parkinson : focus sur l'autophagie. Biologie cellulaire. Université Paris-Saclay, 2021. Français. NNT : 2021UPASL062 . tel-04225612

HAL Id: tel-04225612

<https://theses.hal.science/tel-04225612>

Submitted on 3 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Interaction entre l' α -synucléine et LRRK2
dans la maladie de Parkinson :
focus sur l'autophagie**

*Interaction between α -synuclein and LRRK2
in Parkinson's Disease : a focus on autophagy*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 568, Signalisations et réseaux intégratifs en biologie (BioSigne)
Spécialité de doctorat : Science de la vie et de la santé
Unité de recherche : Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Laboratoire des Maladies
Neurodégénératives : mécanismes, thérapies, imagerie, 92265, Fontenay-aux-Roses, France.
Réfèrent : Faculté de Médecine

**Thèse présentée et soutenue à Fontenay-aux-Roses,
le 23 septembre 2021, par**

Fanny LEBOURG

Composition du Jury

Bernard MIGNOTTE Professeur des universités, Université Paris-Saclay Laboratoire de génétique et biologie cellulaire, UR4589 (Univ. Paris-Saclay)	Président
Olga CORTI Directrice de recherche, Sorbonne Université INSERM UMR 1127, CNRS UMR 7225 (Institut du Cerveau, ICM, Paris)	Rapporteuse & Examinatrice
Jean-Marc TAYMANS Maître de conférences, Université Lille 2 INSERM UMR 1172 (Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, Lille)	Rapporteur & Examineur
Marie-Claude POTIER Directrice de recherche, Sorbonne Université INSERM UMR 1127, CNRS UMR 7225 (Institut du Cerveau, ICM, Paris)	Examinatrice
Emmanuel BROUILLET Directeur de recherche, Université Paris-Saclay CNRS UMR 9199 (Institut François Jacob, MIRCen, CEA Paris-Saclay)	Directeur de thèse
Géraldine LIOT Maître de conférences, Université Paris-Saclay CNRS UMR 9199 (Institut François Jacob, MIRCen, CEA Paris-Saclay)	Co-encadrante de thèse

"La vie n'est facile pour aucun de nous. Mais quoi, il faut avoir de la persévérance, et surtout de la confiance en soi. Il faut croire que l'on est doué pour quelque chose, et que, cette chose, il faut donc l'atteindre coûte que coûte"

Marie Curie

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement les membres de mon jury pour avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse. Je tiens plus particulièrement à adresser mes remerciements à Olga Corti et Jean-Marc Taymans pour leur rôle de rapporteur. Je remercie également Bernard Mignotte et Marie-Claude Potier, également membres de mon jury de thèse. Merci pour le temps que vous m'avez accordé, votre considération pour mon travail et pour l'ensemble de vos retours qui m'ont été d'une grande aide. Un grand merci également à Emmanuel Culetto et, une nouvelle fois, à Olga Corti qui ont pu évaluer l'évolution de mon projet au cours de mes comités de suivi de thèse, et dont les encouragements m'ont portée à la suite de ma seconde année de thèse marquée par la crise sanitaire.

Je remercie également Philippe Hantraye et Romina Aron Badin qui m'ont permis de rejoindre MIRCen dès mon stage de M2. Merci également à Emmanuel Brouillet et Gilles Bonvento pour leur accueil au sein du LMN. Je remercie bien évidemment l'ensemble des personnes nous permettant de travailler dans les meilleures conditions possibles. Merci à Laurent – pour le déblocage des portes du L2 quand ma manip était en cours... – Kristel – pour ton sourire et ta bienveillance en toute circonstance - et Chrysis. Un grand merci également à Cécile, Béatrice et Marie-Laure, toujours au rendez-vous pour nos nombreuses démarches administratives. Merci également à Nicolas et Siegfried pour les dépannages informatiques et pour nous permettre un travail optimal même en télétravail. Une pensée bien évidemment pour Didier, qui m'a aidée autant qu'il a pu me faire rire. Merci à vous tous !

Emmanuel, je te remercie pour les échanges que nous avons partagés, aussi scientifiquement qu'humainement enrichissants. Merci d'avoir cru en moi dès mon premier passage à MIRCen en UE de M2, et d'avoir soutenu mon entrée dans le monde de LRRK2 pour une thèse. Merci pour ton soutien et ta compréhension envers mes difficultés. Merci également pour le regard – bien qu'extérieur mais non moins judicieux - que tu as apporté à mon avancée de thèse, et pour l'ensemble des corrections que tu as apportées à ce manuscrit qui m'ont été d'une aide inestimable. Tu manques beaucoup au labo, mais je te souhaite le meilleur dans tes nouvelles fonctions.

Géraldine, merci de m'avoir encadrée durant ces trois ans et demi à MIRCen et de m'avoir donné une seconde chance par mon stage dans le monde de *in vitro*. Merci pour la rigueur scientifique et technique que tu m'as inculquée. Merci pour ton aide invétérée dans mes manip, tout en me laissant développer mes propres idées. Merci pour les coups de pouce de changement de milieu ou autres traitements. Je ne peux évidemment que te remercier grandement pour toutes les dissections que tu as réalisées pour moi (je crois qu'à ce rythme, je serais toujours avec cette pauvre ratte en pensant que c'est la petite bête qui va manger la grosse...). Que ce soit dans mes corrections de manuscrit ou d'abstract, mes répétitions de présentation et de soutenance (et j'en passe...), merci pour tout le temps que tu m'auras consacré. Tu as toujours trouvé un petit créneau pour moi entre tes multiples casquettes de responsabilité, et je t'en remercie. Merci également de m'avoir laissée participer à des congrès, malgré cette deuxième année de thèse estampillée « Covid-19 » et marquée par l'ère de la visioconférence. Je me rappellerai longtemps de nos débats de fin de journée sur mes résultats capillotractés, à essayer de les transposer en termes de péages et d'embouteillages...

Je tiens également à remercier Camille Gardier, qui a soutenu sa thèse en novembre 2019 mais avec qui j'ai pu partager ce projet *in vitro* α -syn/LRRK2 pendant mon stage et le début de ma thèse. C'est grâce à toutes tes mises au point et tes batailles avec LRRK2 (fl vs Δ) que j'ai pu entreprendre mes manip. Merci de m'avoir formée et d'avoir répondu présente pour me filer des coups de main au L2 ou en bioch.

Ce projet de thèse n'aurait pas pu aboutir sans l'aide indéfectible de Marie-Claude et Noëlle. Merci Marie-Claude pour les constructions. J'aurai adoré travailler d'autant plus avec toi. Merci Noëlle pour les prod de lenti ainsi que pour les missions de sortie de virus du L3, aux allures de trafic illicite. Vous avez toujours répondu présente, de l'élaboration des constructions jusqu'à nous dépanner au mieux lorsque nos stocks se faisaient faibles, et tout ça dans une bienveillance qui fait chaud au cœur. Merci !

Ces années à MIRcen n'auront pas été les mêmes sans cette ambiance si chaleureuse qui règne au sein du labo. Ce labo rempli de bienveillance où l'on vous viendra toujours volontiers en aide pour un conseil de manip, un apport de proto ou autre matériel quand vous êtes déjà enfermé au L2, ou encore une épaule sur laquelle se reposer dans les méandres thésardiennes. Cette bonne humeur et ce soutien constant envers les étudiants est également ce qui marque la Team2. Merci à Alexis, Anselme, Emmanuel T-T, Gilles, Karine C et Marie-Claude pour vos conseils et remarques lors de mes présentations notamment. Je remercie plus particulièrement Marie-Claude, qui s'est toujours souciee avec compréhension de l'avancement de mes projets, mais aussi Alexis pour son soutien (et aussi pour son humour !) d'autant plus dans mes derniers mois de thèse. Je remercie également Carole dont les remarques avisées m'ont toujours été d'une grande aide dans la préparation de mes soutenances. Merci à Gwenn pour sa gentillesse et pour son aide à toute épreuve. Un immense merci également à Charlène et Noëlle, qui ont souvent su décrypter les coups durs et qui m'ont toujours accueillie les bras grands ouverts pour m'encourager. Merci à toi Noëlle pour nos nombreux échanges, et surtout pour parler de la « vraie vie » avec tant de philosophie. Je garderai toujours en moi cette lumière que tu as apportée à ma fin de thèse. Charlène, merci à toi d'avoir partagé mon langage fleuri et pour toutes nos discussions. Je te souhaite tout le meilleur et la sérénité que tu mérites. Merci également à toutes les personnes que j'ai pu croiser au L2 et avec qui j'ai pu échanger (et pour ces fabuleuses sessions de ménage) : Karine M, Maud, Maya, Medhi, Nolwen... Nolwen, merci d'autant plus pour ta gentillesse et le soutien que tu m'as apporté. Medhi, merci également pour tes conseils pour les mesures d'activité du protéasome. Je remercie également la team d'Histo – Caro, Fanny et Pauline G – pour les dépannages d'anticorps ou encore leur aide au microscope (Caro, tu m'auras sauvée plus d'une fois sur ce coup-là ! Merci de m'avoir évitée une crise de nerfs de justesse face à une caméra bien trop capricieuse, et pour l'objectif 63X qui m'a permis d'obtenir bon nombre de résultats). Je remercie également tous ceux croisés en Bioch, notamment merci à toi Maria d'avoir toujours répondu à mes questions, pour ta gentillesse et ta douceur. Merci également à Tracy, dont la sympathie n'a d'égal que sa générosité, et Luc pour tes conseils et tes bons mots.

Cette thèse n'aurait également pas eu la même saveur sans ces étudiants aussi dérangés que dérangeants, mais non moins géniaux. Au-delà des éternelles manips et quantifs interminables, cette solidarité et bienveillance entre nous me sont chères et m'ont aidée à me porter jusqu'à cette fin de thèse. Merci pour les discussions plus ou moins sérieuses, les fous-rires stupides, les remontages de moral, les bars, les crémaillères, les Secret Santa, les raclettes, les galettes, les brunchs, et j'en passe... Pourvu que cette bonne entente entre étudiants perdure longtemps, très longtemps.

Mes premières pensées vont bien évidemment à mes compagnons de batailles, joyeux membres du bureau 210C, mirceniennement reconnu comme le bureau des glandeurs mais qui restera le bureau des

moulas dans mon cœur. Vous m'avez fait une place de choix parmi vous dès mon arrivée en stage, jusqu'à vous rejoindre dans ce fameux bureau où les derniers potins du labo se mêlaient aux anecdotes perso de chacun, à nos doutes, nos rires, nos peines, nos joies... Merci à vous d'avoir été mes béquilles lorsque mes jours de thésarde étaient plus sombres...et d'avoir accepté ma musique de grognasse ! Merci à toi mon Pwawa, pour nos discussions de fin de journée qui m'ont tant manquées à ton départ, pour ton écoute et tes conseils plein de bon sens mais aussi pour nos nombreux fous-rires (les grand copains LRRK2 et L-Sérine). Charlotte, nous avons su transformer le bureau en cocotte-minute géante, quel exploit ! Merci pour ton soutien, et notamment durant ma fin de thèse (quand toi-même tu étais sous l'eau !). Vivement la prochaine pinte au PMU, Adada ou même à St-Gué, qui sait ! Océ, Guillemaud, ma Guigui. Croisée en TD de L1, qui aurait cru que je te retrouverai à un mètre de mon bureau ?! Aussi colorée dans les habits que dans le caractère, tu as été notre rayon de soleil qui a illuminé notre quotidien. Notre amitié se sera forgée au grès des péripéties mirceniennes mais aussi de nos vies contemporaines et passées. Se retrouver ensemble dans ce bureau était l'assurance de beaucoup de confidences sincères et j'ai déjà hâte de reprendre nos discussions là où nous les avons laissées, entre un périple parisien ou savoyard. Mes chères moulas, c'était un honneur de partager ces 9m² de bureau avec vous et de tenir la maison jusqu'à la fin. Mais n'ayez crainte, je laisse les clés à une moula par adoption, qui prendra dignement la succession d'ô grand chef. Pauline, mon petit Pollux, merci à toi d'avoir été mon acolyte de bureau durant ces quelques mois, d'avoir subis mes névroses de (fin de) thèse...et ma folie, surtout ! Je te souhaite tout le bonheur et la réussite que tu mérites (Positive Possum sera toujours là pour te booster et te rappeler que tu déchires !).

Mes remerciements vont également à l'ensemble des étudiants que j'ai eu la chance de côtoyer au cours de ces trois années. En premier lieu, je souhaiterai remercier les « anciens » de MIRcen : Anastasie, Audrey, Camille, Francesco, Laurène, Lucie (qui m'aura donné un sacré avant-goût de la fin de thèse !) et Pauline R. Marina, ma petite Marinus, nous sommes arrivées ensemble au labo, nous avons eu le concours ensemble...mais nous ne soutiendrons malheureusement pas ensemble ! Maintenant tu ne feras plus tes sessions bioch en fonction de ma présence en WB...mais nos sessions ragots et autres papotages continueront en dehors du labo et je te souhaite tout le bonheur du monde dans ta nouvelle belle aventure. JB, Ribé, Jay-Bay, Président : heureusement que nous avons rompu la barrière R+1/R+2 ! Peut-on dire maintenant que tu fais toi aussi parti du bureau 210C vu le temps que tu y as passé ? Merci pour ton soutien et tous les bons moments que nous avons partagés. Plein de force pour les semaines à venir et la soutenance, et pour tous tes futurs projets ! Yohann, mon petit (grand) Yoyo. Mon voisin de bar et de resto, les deux comères aux blagues douteuses. Nos « rdv rdc » pour rentrer ensemble me manqueront. Je te donne tout mon courage pour finir cette thèse et toute ma force pour définir au mieux la voie qui te fera vibrer. A vous deux, je me souviendrais longtemps de nos ((trop) grosses) pauses au bureau, remplies de réflexions plus ou moins évoluées. C'tait l'bon temps ! Mathilde, notre petite blondinette from Portugal, merci d'avoir toujours été une épaupe rassurante. Je t'envoie toute ma force pour briller dans le monde du L2 et des WB (#teambrèle), je suis sûre que tu vas gérer et surmonter les obstacles, et je serai toujours là pour te rappeler que tu en es plus que capable. Emma, merci pour ton soutien et de m'avoir plus d'une fois réconfortée, notamment lors de fins de journées plus dures que d'autres. Je te souhaite de rester autant déterminée dans ton projet et je te transmets tout mon courage pour y arriver. Suzanne, Suzette, finalement la petite stagiaire que je suis soutiendra sa thèse avant toi ! Force à toi (à nous !) pour la soutenance ! Merci également à Mélissa V, Dame Vincent, toujours là pour des bons conseils et pour ta compréhension. Merci également à Miriam, Amélie, Nathan et Tom pour votre sympathie et les bons moments que nous avons passés ensemble...et à tous les prochains !

Bon courage à vous pour la suite de votre (futur) projet de thèse ! A nous tous, je vous souhaite de nous retrouver le plus souvent possible, en souhaitant à chacun de trouver sa barque riche en bonheur et succès, tout en faisant prospérer notre amitié au-delà du paquebot mircenien.

Ces dernières années auront été marquées par des montagnes russes émotionnelles de labeur et de persévérance, et je ne serai pas arrivée jusqu'ici sans le soutien de mes proches, mais aussi de personnes que j'ai eu la chance de croiser ces dernières années. Mes pensées vont d'abord à Laurent : au-delà de t'occuper des doctorants de BioSigne, tu as toujours été une oreille attentive à mes tourments. Merci pour ta présence qui m'aura permis d'atteindre mon but. Je remercie également tous ceux qui m'ont épaulée durant mon premier stage de M2 : Cindy, Julien, Magalie, Nataly, Neiké, Olivier... Merci de m'avoir encouragée à persévérer. Je remercie également Emmanuel Moysé, qui par sa compréhension et sa générosité m'a permis de rebondir et de reprendre confiance en moi.

Ces années d'études et (surtout) de thèse n'auraient pas été les mêmes sans le soutien de mes amis et de ma famille. Tout d'abord, je remercie mes copines de galère qui sont également passées par la case « thèse » et avec qui j'ai partagé bien plus que des anecdotes sur nos vies tourmentées de thésardes : Eléonore, Juliette et Caroline, merci pour tout. Aya et Emmalaurie, mes « lab partners for ever » : qui aurait cru que notre amitié naîtrait au sein du Bureau des plaintes ? Merci de m'avoir épaulée pendant toutes ces étapes, pour les rires et les confidences... Vivement le prochain libanais ! Je remercie également très fort mes amis Amélie, Etienne, Guillaume, Laurent et Sixtine pour leur soutien sans faille et en toutes circonstances. Guillaume et Laurent, que de chemin parcouru depuis votre périple parisien ! Merci pour vos encouragements et d'avoir toujours cru en moi. Etienne et Sixtine, je ne referai pas le même discours qu'à votre mariage, alors on va faire beaucoup plus simple (et avec la feuille qui tremble beaucoup moins) : merci, pour tout. Hâte de tous vous retrouver face à la mer St-Pierroise, la campagne lilloise, les paysages nantais ou dans notre bonne vieille région parisienne.

Je remercie également mes parents pour leur soutien dans mes (loooooongues) études. Merci de supporter votre fille qui n'aura pas attendu d'être en thèse pour râler (et je pense que c'est bien parti pour durer...). Merci de m'avoir laissée naviguer ma propre barque : bien qu'elle ait pu être un peu submergée par moment, vous avez toujours été là pour vous assurer que le bateau ne coulait pas encore totalement, en ne doutant pas de mes capacités. Merci encore pour votre soutien pour l'après-thèse. Merci également à mon frère Rémi de m'avoir soutenue, et notamment durant mes péripéties de mon premier M2.

Enfin, mes derniers remerciements vont à celui que j'ai eu la chance de trouver sur mon chemin de thèse. Merci Alex pour ta compréhension, ton écoute, ta patience, ton attention...et j'en passe. Merci d'avoir pris soin de moi et de m'avoir apporté ta sérénité lorsque le poids de la thèse se faisait trop lourd. Grâce à toi, cette fin de thèse aura eu une tout autre saveur, car à côté de pages d'articles se mêlaient également des onglets d'annonces immobilières et autres meubles. Un chapitre se clôt, que cela soit dans ma vie pro mais aussi perso, et le plus beau c'est que cette dernière se déroule à tes côtés maintenant.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	1
TABLE DES FIGURES	5
TABLE DES TABLEAUX	7
TABLE DES ABRÉVIATIONS	9
INTRODUCTION	13
I. Maladie de Parkinson	13
I.1. Epidémiologie	13
I.2. Historique	13
I.3. Anatomopathologie et physiopathologie.....	15
I.3.1. Neurodégénérescence de la SNpc : impact sur le système moteur	15
I.3.2. Formation et propagation des corps de Lewy.....	17
I.4. Symptomatologie	20
I.4.1. Symptômes moteurs.....	20
I.4.2. Symptômes non-moteurs	21
I.5. Diagnostic clinique.....	21
I.6. Etiologie.....	22
I.6.1. Causes génétiques	22
I.6.1.1. Formes autosomiques dominantes	23
I.6.1.2. Formes autosomiques récessives.....	24
I.6.1.3. Facteurs de risques génétiques	24
I.6.2. Causes environnementales.....	25
I.6.3. Systèmes biologiques mis en cause	26
I.6.3.1. Fragilité de la substance noire <i>pars compacta</i>	26
I.6.3.2. La mitochondrie	28
I.6.3.3. Le réticulum endoplasmique	30
I.6.3.4. La neuroinflammation.....	30
I.7. Approches thérapeutiques.....	32
I.7.1. Approche médicamenteuse	32
I.7.2. Approche chirurgicale	33
I.7.3. Vers les thérapies de demain... ..	34
I.8. Modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson.....	35
I.8.1. Un large spectre de modèles animaux et cellulaires.....	35
I.8.1.1. Modèles animaux	35
I.8.1.2. Modèles cellulaires.....	36
I.8.1.3. Modèle émergent : les organoïdes	38
I.8.2. Techniques expérimentales d'induction de la pathologie	39
I.8.2.1. Modèles pharmacologiques.....	39
I.8.2.2. Modèles génétiques.....	41
I.8.2.3. Modèles d'étude de la propagation de l' α -syn	43
II. Alpha-synucléine	45
II.1. Génétique	45
II.2. Structure.....	46

TABLE DES MATIÈRES

II.3. Localisation	47
II.4. Régulation	49
II.4.1. Dégradation	49
II.4.2. Modifications post-traductionnelles	49
II.4.2.1. Phosphorylation	50
II.4.2.2. Troncation par protéolyse.....	51
II.4.2.3. Ubiquitination	51
II.4.2.4. Glycation	52
II.4.2.5. Nitration et oxydation	52
II.5. Fonction et rôle physiologiques	52
II.6. Implication dans la maladie de Parkinson	54
II.6.1. Agrégation et nucléation de l'alpha-synucléine	55
II.6.2. Propagation de l'alpha-synucléine.....	56
II.7. Stratégies thérapeutiques	58
III. LRRK2	60
III.1. Génétique	60
III.2. Structure	61
III.3. Localisation	63
III.4. Régulation	65
III.4.1. Modifications post-traductionnelles	65
III.4.1.1. Phosphorylation.....	65
III.4.1.2 Ubiquitination.....	66
III.4.2. Régulations intrinsèques.....	66
III.5. Fonctions physiologiques	67
III.6. Implication dans la maladie de Parkinson	68
III.7. Stratégies thérapeutiques	68
IV. Interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2	70
IV.1. Effet de LRRK2 sur l'alpha-synucléine.....	71
IV.1.1. Rôle de LRRK2 sur la toxicité de l'alpha-synucléine	71
IV.1.2 Rôle de LRRK2 sur l'agrégation de l'alpha-synucléine	71
IV.1.3. Rôle de LRRK2 sur la propagation de l'alpha-synucléine.....	72
IV.2. Mécanismes possibles d'interaction.....	73
IV.2.1. La neuroinflammation	73
IV.2.2. La mitochondrie	74
IV.2.3. La transmission synaptique	75
V. Maladie de Parkinson et autophagie	77
V.1. Autophagie	77
V.1.1. Définition et historique.....	77
V.1.2. Différents types d'autophagie	77
V.1.3. Régulation et mécanismes moléculaires	78
V.1.3.1. Induction et initiation.....	79
V.1.3.2. Elongation et maturation.....	80
V.1.3.3. Fusion et dégradation	80
V.1.4. L'autophagie sélective	82
V.1.5. Lien avec le protéasome	82

V.1.6. Spécificités de l'autophagie dans les neurones.....	83
V.1.7. Physiopathologie	85
V.2. Maladie de Parkinson et autophagie	86
V.3. Alpha-synucléine et autophagie	88
V.3.1. Dégradation de l'alpha-synucléine par autophagie	88
V.3.2. Blocage de l'autophagie par l'alpha-synucléine	89
V.4. LRRK2 et autophagie	90
V.4.1. Dégradation de LRRK2 par autophagie	90
V.4.2. Régulation de l'autophagie par LRRK2	90
V.5. Alpha-synucléine, LRRK2 et autophagie	93
V.5.1. Effet de LRRK2 sur la dégradation par autophagie de l'alpha-synucléine.....	93
V.5.2. Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur le blocage de l'autophagie.....	93
OBJECTIF DE THÈSE.....	97
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	101
Culture primaire de neurones corticaux de rat	101
Culture primaire d'astrocytes corticaux de rat.....	101
Transduction des neurones primaires par des vecteurs lentiviraux.....	102
Traitements	103
Privation nutritive.....	103
Blocage du flux autophagique	103
Inhibition du protéasome.....	103
Inhibition de l'activité kinase de LRRK2	103
Immunoempreinte	103
Extraction protéique	103
Dosage protéique.....	104
Electrophorèse sur gel et Transfert.....	104
Immunomarquage et Révélation.....	104
Quantification.....	105
Immunofluorescence	105
Fixation des cellules	105
Immunomarquage.....	105
Marquage au LysoTracker™	105
Quantification.....	106
Estimation de la diversité de la population cellulaire présente au sein de cultures mixtes.....	106
Aire occupée par les GFP-LC3 dots	106
Analyses statistiques.....	107
RÉSULTATS	109
I. Mise au point du modèle d'étude de l'autophagie	109
I.1. Validation du modèle au sein des neurones primaires	109
I.2. Confirmation du modèle au sein d'astrocytes primaires	112
I.3. Comparaison des flux autophagiques au sein de cultures primaires neuronales pure ou mixte	114
II. Effet de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur les flux autophagiques	118
II.1. Effet de l'α-syn ^{A53T} sur les flux autophagiques	119
II.2. Effet de LRRK2 sur les flux autophagiques	121

II.3. Effet combiné de l'α-syn ^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques.....	124
III. Effet de LRRK2 sur la phosphorylation de l'alpha-synucléine dans les neurones.....	129
III.1. L'α-syn ^{A53T} humaine peut être phosphorylée sur la Ser129 au sein de neurones corticaux primaires.....	129
III.2. La phosphorylation de l'α-syn ^{A53T} est dépendante de l'activité kinase de LRRK2.....	129
III.3. La phosphorylation de l'α-syn ^{A53T} est dépendante de l'autophagie et du protéasome.....	130
IV. Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur la coopération entre l'autophagie et le protéasome	135
IV.1. Effet de l'α-syn ^{A53T} et LRRK2 sur le protéasome, en réponse au blocage du flux autophagique	135
IV.2. Effet de l'α-syn ^{A53T} et LRRK2 sur l'autophagie, en réponse au blocage du protéasome.....	136
DISCUSSION	139
I. Modèle d'étude de l'autophagie au sein de neurones primaires : un modèle à parfaire ?..	139
I.1. Culture primaire de neurones corticaux de rat : avantages et limites.....	139
I.2. De la difficulté à identifier le meilleur modèle d'étude de l'autophagie neuronale.....	140
I.3. La variation d'expression de LC3 : le meilleur paramètre d'étude de l'autophagie ?.....	141
II. Interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2 dans les flux autophagiques : une analyse à complexifier	143
II.1. L'alpha-synucléine : véritable bloqueur de l'autophagie ?	143
II.2. LRRK2 et flux autophagique : nécessité d'un environnement propice à l'exercice de son rôle potentiellement délétère ?.....	144
II.3. LRRK2 pourrait prévenir le blocage du flux autophagique favorisée par l'α-synucléine : pour un réel bénéfice ?	146
III. Effet de LRRK2 sur la phosphorylation de l'alpha-synucléine dans les neurones.....	148
III.1. LRRK2 favorise la phosphorylation de l'alpha-synucléine, en lien avec son activité kinase....	148
III.2. La phosphorylation de l'alpha-synucléine apparait dépendante de l'autophagie et du protéasome.....	149
CONCLUSION	153
PERSPECTIVES	157
Poursuivre l'analyse de l'impact de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur les flux autophagiques	157
TFEB, une autre clé dans l'interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2 dans l'autophagie ?	157
Analyser l'effet de LRRK2 au sein des astrocytes.....	158
Etudier <i>in vivo</i> l'effet de l'alpha-synucléine et LRRK2 dans les processus autophagiques	159
BIBLIOGRAPHIE	163

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Historique de la maladie de Parkinson	14
Figure 2 : Voies de régulation des ganglions de la base, en condition physiologique ou pathologique dans le cas de la maladie de Parkinson	16
Figure 3 : Principales caractéristiques neuropathologiques de la maladie de Parkinson	17
Figure 4 : Les stades de Braak.....	19
Figure 5 : Evolution des symptômes cliniques en lien avec la progression de la maladie de Parkinson	20
Figure 6 : Le stress oxydatif dans la substance noire pars compacta	27
Figure 7 : Dysfonctions mitochondriales dans la maladie de Parkinson.....	29
Figure 8 : Médication actuelle pour traiter la maladie de Parkinson	33
Figure 9 : Possibilités et défis associés aux modèles expérimentaux pour le développement de thérapies pour la maladie de Parkinson	38
Figure 10 : Modèles expérimentaux par induction pharmacologique de la maladie de Parkinson	40
Figure 11 : Structure de l'alpha-synucléine	46
Figure 12 : Localisation de l'expression de l'alpha-synucléine chez l'Homme.....	48
Figure 13 : Modifications post-traductionnelles majeures de l'alpha-synucléine	50
Figure 14 : Rôle de l'alpha-synucléine à la synapse.....	53
Figure 15 : Modèle d'agrégation de l'alpha-synucléine.....	55
Figure 16 : Modèle de propagation de l'alpha-synucléine.	57
Figure 17 : Ciblage thérapeutique de la toxicité de l'alpha-synucléine	58
Figure 18 : Structure de LRRK2.....	62
Figure 19 : Localisation de l'expression de LRRK2 chez l'Homme	64
Figure 20 : Sites de phosphorylation de LRRK2.....	65
Figure 21 : Mécanismes possibles d'interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2 dans la maladie de Parkinson.....	74
Figure 22 : Trois grands types d'autophagie chez le mammifère.	78
Figure 23 : Mécanismes moléculaires de la macroautophagie	81
Figure 24 : Modélisation de l'autophagie neuronale en conditions homéostatiques ou pathogéniques	84
Figure 25 : Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 dans le blocage de l'autophagie.....	95
Figure 26 : Δ LRRK2 ^{G2019S} favorise les effets neurotoxiques de l'alpha-syn ^{A53T}	97
Figure 27 : Evaluation de l'effet inhibiteur des flux autophagiques de la Bafilomycine A1	109
Figure 28 : Mise au point du modèle d'étude de l'autophagie dans les neurones primaires.....	111
Figure 29 : Validation du modèle d'étude de l'autophagie au sein d'astrocytes primaires.....	113
Figure 30 : Estimation des populations cellulaires présentes au sein de cultures primaires pures ou mixtes de neurones.....	115
Figure 31 : Comparaison des flux autophagiques au sein de cultures mixtes ou pures de neurones primaires.....	117
Figure 32 : Modèle de co-expression de l'alpha-syn et LRRK2 au sein de neurones primaires.....	118
Figure 33 : Effet de l'expression de l'alpha-syn ^{A53T} sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes.....	119
Figure 34 : Effet de l'expression de l'alpha-syn ^{A53T} sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures.....	120

TABLE DES FIGURES

Figure 35 : Effet de l'expression de LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes.....	122
Figure 36 : Effet de l'expression de LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures	123
Figure 37 : Effet combiné de l'expression de l' α -syn ^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes	125
Figure 38 : Effet de l'expression combinée de l' α -syn ^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures.....	127
Figure 39 : L' α -syn ^{A53T} humaine au sein de neurones corticaux primaires peut être phosphorylée sur la Ser129.....	129
Figure 40 : LRRK2 ^{G2019S} favorise la phosphorylation de l' α -syn sur la Ser129, de façon kinase-dépendante.....	131
Figure 41 : La phosphorylation de l' α -syn en S129 apparait dépendante de l'autophagie et du protéasome	133
Figure 42 : Effet de l' α -syn et LRRK2 sur le protéasome, en réponse au blocage du flux autophagique	135
Figure 43 : Effet de la Lactacystine au sein de neurones corticaux primaires	136
Figure 44 : Effet de l'expression de l' α -syn et LRRK2 en réponse au blocage du protéasome	137
Figure 45 : Schéma récapitulatif des résultats démontrant l'interaction fonctionnelle entre l'alpha-synucléine et LRRK2 en lien avec l'autophagie.....	154

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Génétique de la maladie de Parkinson	23
Tableau 2 : Vecteurs lentiviraux utilisés pour la transduction des neurones primaires.....	102
Tableau 3 : Liste des anticorps primaires (et de leurs anticorps secondaires associés) utilisés en immunoempreinte.....	104
Tableau 4 : Liste des anticorps primaires (et de leurs anticorps secondaires associés) utilisés en immunomarquage.....	106

TABLE DES ABRÉVIATIONS

α-syn	Alpha-synucléine
α-syn^{A53T}	Alpha-synucléine présentant la mutation A53T
3-MA	3-méthyladénine
6-OHDA	6-hydroxydopamine
AA	Acide aminé
AADC	Décarboxylase des acides aminés aromatiques
AAV	Virus adéno-associé
AIM	ATG8 family-interacting motif
AMP	Adénosine monophosphate
AMPK	Adénosine monophosphate kinase
ANK	Ankyrine
ANOVA	Analyse de la variance
AraC	Cytosine arabinofuranoside
ARM	Armadillo
ARNm	Acide ribonucléique messenger
Atg	Autophagy-related genes
ATP	Adénosine triphosphate
ATP13A2	ATPase cation transporting 13A2
ATP6V0A1	ATPase H ⁺ Transporting V0 Subunit A1
BafA1	Bafilomycine A1
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BSA	Bovine Serum Albumine
<i>C. elegans</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>
CBA	Chicken β -Actin
CH1	GTP cyclohydrolase 1
CL	Corps de Lewy
CLEAR	Coordinated Lysosomal Expression and Regulation
CMA	Autophagie permise par les chaperonnes
COMT	Catéchol-o-méthyltransférase
COR	C-terminal of ROC
CQ	Chloroquine
CSPi	Cellules souches pluripotentes induites
ΔLRRK2^{G2019S}	Fragment carboxyterminal de LRRK2 ^{G2019S}
DA	Dopamine
DAergique	Dopaminergique
DAT	Transporteur de la dopamine
DIV	Day in Vitro
DMEM	Gibco Dulbecco's Modified Eagle Medium
Drp1	Dynamamin-related protein 1

TABLE DES ABRÉVIATIONS

EBSS	Earl's Balance Salt Serum
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
ERO	Espèce réactive de l'oxygène
ESCRT	Endosomal Sorting Complexes Required for Transport
FIP200	Focal adhesion kinase family Interacting Protein of 200 kDa
GABARAP	Gamma-AminoButyric Acid Receptor-Associated Protein
GB	Ganglions de la base
Gcase	Glucosylcéramidase
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
GP	Globus Pallidus
GWAS	Genome Wide Association Study
HBSS	Hank's Balanced Salt Solution
HEK293T	Human embryonic kidney 293T
HRP	Horseradish Peroxidase
hsc	Heat shock cognate
hsp	Heat shock protein
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LAMP	Lysosomal-Associated Membrane Protein
LC3	Microtubule-associated protein Light Chain 3
LCR	Liquide céphalo-rachidien
L-Dopa	L-3,4-dihydroxyphénylalanine (ou Levodopa)
LIR	Microtubule-associated protein Light chain 3-Interacting Region
LMX	LIM Homeobox Transcription Factor
LRR	Leucine-Rich Repeat
LRRK2	Leucine-Rich Repeat Kinase 2
LRRK2^{G2019S}	LRRK2 présentant la mutation G2019S
LUHMES	Lund Human Mesencephalic
MAO	Monoamine oxydase
MAP2	Microtubule-associated protein 2
MAPK	Mitogen-activated protein Kinase
MAPKKK	Mitogen Activated Protein kinase kinase kinase
MBP	Myelin Basic Protein
MND	Maladie neurodégénérative
MP	Maladie de Parkinson
MPP+	1-méthyl-4-phényl-pyridinium
MPTP	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
mTOR	Mammalian target of rapamycin
mTORC1	Mammalian target of rapamycin complex 1
NAC	Non-amyloid β component
NF-κB	Nuclear factor kappa-B
NGS	Normal Goat Serum
NL	Neurite de Lewy
NMDA	N-méthyl-D-aspartate

NSF	N-ethylmaleimide sensitive factor
PBS	Phosphate-Buffer Saline
PBS-T	PBS 1X + Triton 0.1%
Pffs	Pre-formed fibrils (fibrilles préformées d'α-syn)
PGK	Phosphoglycerate Kinase
PI3K	Phosphoinositide 3 Kinase
PI3P	Phosphatidylinositol-3-phosphate
PINK1	Pten-Induced Kinase 1
PIK3R4	Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 4
PMSF	Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride
PNH	Primate non-humain
pS129	Ser129 phosphorylée
qPCR	Réaction de polymérisation en chaine quantitative en temps réel
RE	Réticulum endoplasmique
ROC	Ras of complex protein
ROCO	ROC et COR
SEM	Standard error mean
SN	Substance noire
SNA	Système nerveux autonome
SNARE	Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor
SNC	Système nerveux central
SNpc	Substance noire pars compacta
SNpr	Substance noire pars reticulata
SQSTM1	Sequestosome 1
ST	Striatum
SVF	Sérum de Veau Foetal
TBS	Tris-Buffered Saline
TEP	Tomographie par emission de positrons
TFEB	Transcription Factor EB
TH	Tyrosine hydroxylase
TNF	Facteur de nécrose tumoral
UBAN	Ubiquitin Binding in ABIN and NEMO
UCH-L1	Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1
ULK1	UNC-51-like autophagy activating Kinase
UPR	Unfolded Protein Respons
V-ATPase	Pompe à protons ATPase de type vacuolaire et lysosomale
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VMAT2	Vesicular monoamine transporter 2
VPS	Vacuolar Protein Sorting
VSV-G	Vesicular stomatitis virus G
VTA	Aire tegmentale ventrale
WD40	Trp-Asp-40

INTRODUCTION

I. Maladie de Parkinson

I.1. Épidémiologie

En France, plus d'un million de personnes sont affectées par une maladie neurodégénérative (MND), dont 160 000 personnes par la maladie de Parkinson (MP), ce qui en fait la seconde MND la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer (Moisan *et al.*, 2017). De plus, la MP représente la deuxième cause de handicap moteur chez la personne âgée, après les accidents vasculaires cérébraux (Moisan *et al.*, 2017). Ainsi, la MP constitue un véritable enjeu sociétal et économique mondial puisque, comme la plupart des MNDs, son incidence augmente avec le vieillissement de la population. En effet, l'âge représente le principal facteur de risque de la MP, qui se déclare le plus souvent autour de 70 ans (Moisan *et al.*, 2017). Le nombre de patients atteints de la MP s'accroît ainsi constamment en corrélation avec l'augmentation de la longévité, avec notamment 26 000 nouveaux cas par an en France en 2015 (Moisan *et al.*, 2017). Le nombre de cas a alors plus que doublé entre 1990 et 2015, bien que ce chiffre est à revoir à la hausse à cause du potentiel sous-diagnostic des sujets les plus âgés (Moisan *et al.*, 2017). De plus, cette croissance pourrait encore plus s'intensifier d'ici 2030 avec 1 personne affectée sur 120 de plus de 45 ans (Moisan *et al.*, 2017). Par ailleurs, il apparaît que les hommes ont 1,5 fois plus de risques de développer la MP que les femmes et la prévalence de la maladie serait également plus forte au sein des pays industrialisés (Kalia & Lang, 2015). Enfin, l'espérance de vie des personnes atteintes de la MP est réduite (Macleod *et al.*, 2014), notamment par le développement de comorbidités telles que des infections pulmonaires, une démence ou des chutes (Xu *et al.*, 2014).

I.2. Historique

La MP a été premièrement décrite en 1817 par le médecin londonien Sir James Parkinson (**Figure 1**). Il caractérisa ce syndrome évolutif neurologique de « paralysie agitante » par des mouvements involontaires, un tremblement de repos, des anomalies de la posture et de la marche, un affaiblissement de la puissance musculaire, une propension à se plier vers l'avant, tout en gardant les sens et l'intellect indemnes (Parkinson, 1817). Cet essai documenté est reconnu comme travail fondateur décrivant la maladie, bien que l'exposé ne se limite qu'aux atteintes motrices. Une cinquantaine d'années plus tard, Jean-Martin Charcot définit plus largement le spectre clinique de la MP, de la bradykinésie (difficulté à initier un mouvement ainsi que la perte de finesse à l'exécuter) aux tremblements de repos comme des caractéristiques des patients atteints de la MP qu'il observait (Charcot, 1872). Il permit ainsi de différencier cette maladie d'autres pathologies telles que la sclérose en plaques, et le nom de « maladie de Parkinson » est donné définitivement à cette paralysie agitante.

INTRODUCTION

En 1912, Frederic Lewy décrit au sein de cerveaux de patients atteints de la MP des structures intraneuronales particulières, découverte qu'il publia dans le manuel de neurologie de Lewandowsky (Lewandowsky, 1912). Il donnera ainsi plus tard son nom à ces inclusions protéiques pathologiques : les « corps de Lewy » (CLs) et les « neurites de Lewy » (NLs). Puis, grâce à l'analyse post-mortem de cerveaux de patients atteints de la MP, Konstantin Tretiakoff identifia en 1919 la substance noire (SN) comme principale région affectée par la MP (Trétiakoff, 1919). Cette observation fut confirmée vingt ans plus tard par Rolf Hassler, ajoutant par ailleurs que des structures liées à la SN, le striatum (ST) et le globus pallidus (GP), ne seraient pas atteintes (Hassler, 1938). Puis, Arvid Carlsson caractérisa la dopamine (DA) comme neurotransmetteur localisé dans le ST, ainsi que son rôle physiologique et l'impact de sa déplétion dans le cas de la MP (Carlsson & Waldeck, 1958). Ses travaux lui valent le Prix Nobel de Physiologie ou Médecine 2000. Quant à Ehringer et Hornykiewicz, ils observèrent la déplétion striatale de DA (Ehringer & Hornykiewicz, 1960). En 1961, l'équipe d'Adams caractérisa la dégénérescence de la voie nigrostriée comme une caractéristique anatomopathologique de la MP (Adams *et al.*, 1961). Ainsi, l'avancée des connaissances concernant les déficiences biochimiques liées à la MP a permis la mise au point de thérapies basées notamment sur l'administration de précurseur de la DA.

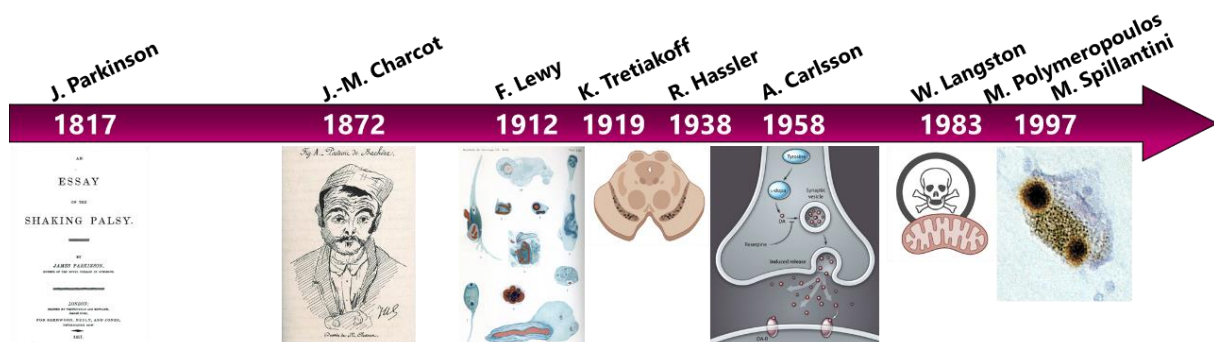


Figure 1 : Historique de la maladie de Parkinson

1817 : Première description de la « paralysie agitante » (*gallica.bnf.fr*). **1872** : Définition plus large de la pathologie, alors nommée « maladie de Parkinson » (dessin réalisé par Jean-Martin Charcot du visage inexpressif d'un patient atteint de la MP). (Walusinski, 2018). **1912** : Première description des inclusions intraneuronales, les CLs (dessins réalisées par Frederic Lewy) (Goedert *et al.*, 2013). **1919** et **1958** : Identification de la SN comme structure atteinte dans la MP, sans impact sur le ST et les GP (*biorender.com*). **1958** : Caractérisation de la DA comme neurotransmetteur en défaut dans la MP (Andersen, 2009). **1983** : Découverte de l'induction d'un parkinsonisme par administration de MPTP, neurotoxine affectant la mitochondrie (*biorender.com*). **1997** : Identification du premier gène impliqué dans la MP, *SNCA* codant pour l' α -syn et composant majeur des CLs (Goedert *et al.*, 2013).

Du côté de l'étiologie de la MP, d'une part, William Langston mis en lumière que l'administration d'un dérivé narcotique et analogue de la DA, le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP), peut induire un parkinsonisme (Langston, 1983), en endommageant la SN notamment par la production d'un métabolite, le MPP⁺ (1-Methyl-4-phenyl-pyridinium) qui induit le blocage de la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau du complexe I (NADH-cytochrome C oxido-reductase) (Poirier & Barbeau, 1985; Ramsay *et al.*, 1986) (Langston *et al.*, 1983). Cette observation a ainsi permis de faire le lien entre MP et environnement, et a notamment permis le développement de modèles animaux de la pathologie. D'autre part, dans les années 90, l'équipe de Mihael Polymeropoulos montre pour la première fois l'implication d'un gène dans le développement précoce de la MP : le gène *SNCA* codant pour l'alpha-

synucléine (α -syn) (Polymeropoulos *et al.*, 1997). Cette implication de l' α -syn dans la physiopathologie de la MP est confirmée la même année par Maria Spillantini qui caractérise cette protéine comme composant majeur des CLs (Spillantini *et al.*, 1997).

I.3. Anatomopathologie et physiopathologie

La MP est une pathologie chronique, lente et progressive caractérisée par le développement de deux principales signatures histopathologiques au sein du système nerveux central (SNC) : la dégénérescence progressive des neurones dopaminergiques (DAergiques) de la substance noire *pars compacta* (SNpc) conduisant à l'altération de la voie nigrostriée et donc à une perte importante de DA, ainsi que la présence de CLs contenant de l' α -syn.

I.3.1. Neurodégénérescence de la SNpc : impact sur le système moteur

La SN est formée d'une partie *pars reticulata* (SNpr), composée de neurones libérant le neurotransmetteur acide γ -aminobutyrique (GABA), ainsi que d'une partie *pars compacta* (SNpc), composée de neurones DAergiques. Ces derniers synthétisent comme neurotransmetteur une catécholamine, la DA, qui peut également être produite par l'aire tegmentale ventrale (VTA) et l'hypothalamus (en tant que neurohormone). La synthèse de DA est initiée par un précurseur primaire, la tyrosine, qui est converti dans le neurone par la tyrosine hydroxylase (TH) en L-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-Dopa). Cette dernière est ensuite transformée en DA par la dopa-décarboxylase (ou décarboxylase des acides aminés aromatiques, AADC). La DA est libérée par exocytose à la fente synaptique et se lie à ses récepteurs au niveau post-synaptique. Les corps cellulaires des neurones DAergiques se trouvent dans la SNpc, ils sont riches en DA et présentent des taux élevés en fer. Chez l'Homme, ces neurones sont enrichis en neuromélanine, ce qui leur donne une teinte sombre.

La MP se caractérise par une dégénérescence progressive et spécifique des neurones DAergiques de la SNpc conduisant à une forte perte de la quantité de DA produite. Ceci induit la dérégulation d'un ensemble d'aires sous-corticales, les ganglions de la base (GB) - dont la SN fait partie - qui sont impliqués dans la régulation des mouvements, comme leur automatisation ou l'annulation des mouvements involontaires. Cependant, la dégénérescence ne se limite pas à ces neurones. Il a ainsi été observé une perte de neurones cholinergiques dans le noyau pédonculopontin (Hirsch *et al.*, 1988) et une atteinte des neurones noradrénergiques dans le locus coeruleus (Gesi *et al.*, 2000).

Bien qu'ils ne constituent qu'environ 1% de l'ensemble des neurones du SNC, les neurones DAergiques jouent un rôle fondamental dans la régulation des fonctions motrices et psychologiques (Chinta & Andersen, 2005). En effet, ils apparaissent liés à trois différentes aires cérébrales. La première, la VTA, contrôle le cortex frontal impliqué notamment dans la prise de décision, ainsi que le système

INTRODUCTION

limbique (hippocampe, amygdale, septum, ST ventral) impliqué dans la régulation des émotions et la formation de la mémoire. La deuxième aire cérébrale est l'hypothalamus auquel sont connectés les neurones DAergiques et qui projette via l'éminence médiane à l'hypophyse, permettant la régulation du système nerveux autonome (SNA) et de multiples processus métaboliques. La troisième aire reliée aux neurones DAergiques de la SNpc est le ST qui est impliqué dans le contrôle moteur mais aussi le circuit de la dépendance. En temps normal, la SNpc est liée par la voie nigrostriée au ST, plus spécifiquement au putamen, qui fait ensuite relais avec les GP interne et externe. Par un jeu d'inhibition (GABA) et excitation (Glutamate), cette structure permet la régulation de l'activité du noyau sous-thalamique (STN) et du thalamus, qui stimule les aires motrices corticales et qui est donc impliqué dans le contrôle moteur (**Figure 2**). Il existe ainsi une voie directe et indirecte d'activation du ST. La première, lorsqu'elle est activée, permet l'inhibition des neurones inhibiteurs du GPi et de la SNpr, favorisant l'excitation du thalamus et des aires corticales motrices, induisant *in fine* le mouvement. Quant à elle, l'activation de la voie indirecte induit l'excitation des neurones inhibiteurs du GPi et de la SNpr, bloquant au final le mouvement. Ainsi, le circuit des GB est fonctionnel grâce à un système DAergique contrôlé. Toutefois, ce dernier se détériore progressivement dans le cas de la MP, induisant une dérégulation des voies des GB et donc l'apparition des troubles moteurs due à une plus faible stimulation du cortex moteur (Purves *et al.*, 2001).

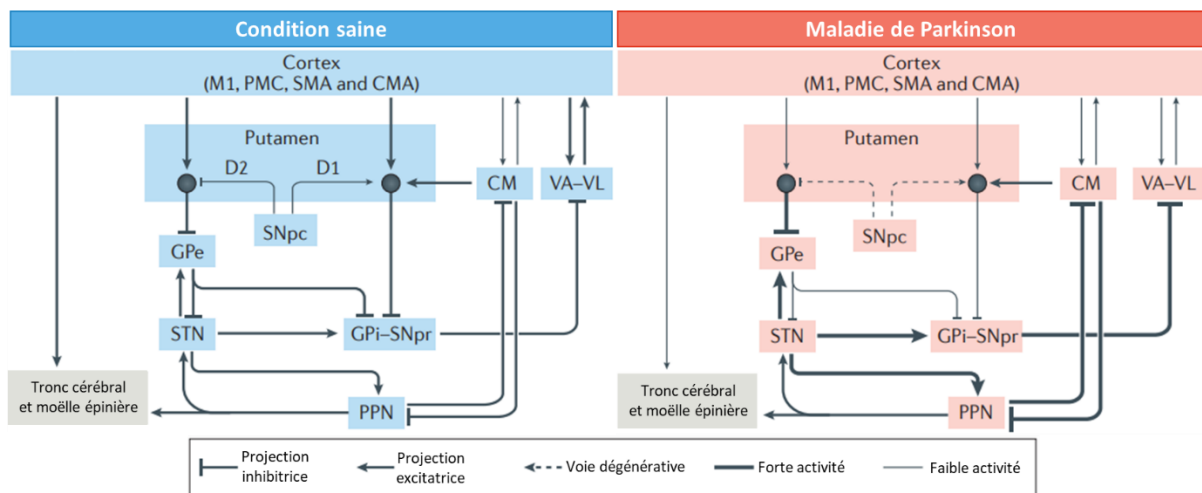


Figure 2 : Voies de régulation des ganglions de la base, en condition physiologique ou pathologique dans le cas de la maladie de Parkinson (Adaptée de Przedborski, 2017)

Chez le patient sain, les neurones DAergiques de la SNpc activent les neurones du ST (putamen) de la voie directe, et inhibent ceux de la voie indirecte des GB. Une fois activée par le cortex et le ST, la voie directe inhibe le GP interne. Bien qu'elle soit inhibée à faible mesure par la SNpc, la voie indirecte est activée par le cortex et inhibe le GP externe, qui réprime à son tour le noyau subthalamique et le GP interne. Ceci induit une forte diminution de l'inhibition du thalamus, permettant *in fine* l'activation du cortex. Ainsi, une augmentation de l'activité de la SNpc a conduit à l'initiation d'activité motrice. Dans le cas de la MP, la dégénérescence de la SNpc induit une diminution de l'activation de la voie directe et de l'inhibition de la voie indirecte. Ce déséquilibre favorise l'inhibition du GP externe, qui n'inhibe quasiment plus le noyau subthalamique ni le GP interne. L'inhibition du thalamus par le GP interne est ainsi bien plus importante, donnant lieu à une activation d'autant plus faible du cortex moteur. Ainsi, la perte des neurones DAergiques de la SNpc induit une diminution de l'activité motrice.

I.3.2. Formation et propagation des corps de Lewy

Une des singularités communes aux MNDs se trouve dans l'agrégation de protéines mal-conformées. Ainsi, une des caractéristiques de la MP réside dans la présence d'inclusions intracytoplasmiques, présentes dans le soma (les CLs) ou dans les projections neuronales (les NLs), mais peuvent aussi être retrouvées sporadiquement dans l'espace extracellulaire (Roy & Wolman, 1969) (**Figure 3**). Ainsi, ils représentent un critère diagnostique post-mortem et sont aussi retrouvés dans un ensemble de pathologies que sont les démences à CLs (Schulz-Schaeffer, 2010). Bien que leur formation reste encore mal connue, ces corps correspondent à des agrégations protéiques, notamment de l' α -syn insoluble, agrégée et/ou mal-conformée, mais aussi de neurofilaments, d'ubiquitine ou encore de divers débris cellulaires (Mahul-Mellier *et al.*, 2020). Toutefois, leur composition apparaît hétérogène : il a notamment été montré une disparité dans leur proportion en α -syn, estimé à 31% dans les CLs corticaux contre 64% dans la SNpc (Sakamoto *et al.*, 2002). De façon intéressante, il a aussi été montré, au sein des CLs, la présence de protéines dont les gènes sont impliqués dans des formes familiales de la MP, telles que Parkin, PINK1 (Pten-Induced Kinase 1), UCH-L1 (Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1) (Wakabayashi *et al.*, 2007) ou encore LRRK2 (Leucine-Rich Repeat Kinase 2) (Zimprich *et al.*, 2004).

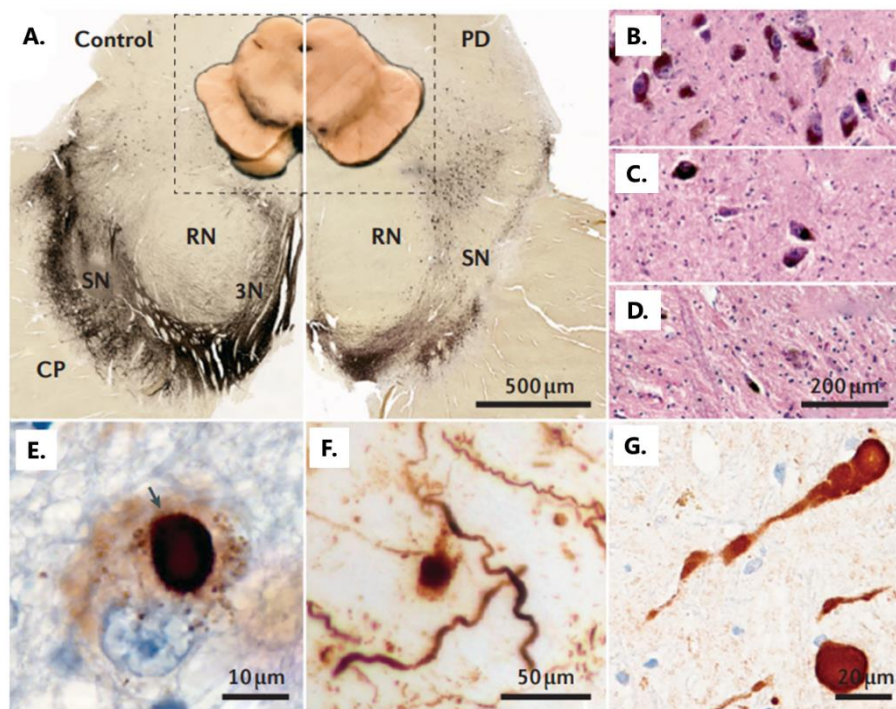


Figure 3 : Principales caractéristiques neuropathologiques de la maladie de Parkinson (Adaptée de (Poewe *et al.*, 2017))

A. Visualisation macroscopique d'une section transversale du mésencéphale par marquage de la TH. La MP (à droite) se caractérise par une dépigmentation de la SN, comparé à un patient contrôle (à gauche), liée à la neurodégénérescence des cellules DAergiques contenant de la neuromélanine. **B. C. D.** Visualisation microscopique de la région ventrale de la SN par marquage à l'hématoxyline/éosine, chez un patient sain (**B**), et des patients atteints de forme modérée (**C**) ou sévère (**D**) de la MP. **E. F. G.** Visualisation microscopique par marquage de l' α -syn de CLs, inclusions sphériques et intracytoplasmiques (**E**), également observées dans les prolongements des neurones, les NLs, mais aussi plus sporadiquement dans le milieu extracellulaire (**F, G**).

INTRODUCTION

Les CLs s'accumulent au sein des neurones mais sont aussi retrouvés en dehors du SNC, notamment dans la moëlle épinière, le plexus cardiaque ou encore les glandes salivaires (Braak *et al.*, 2004; Del Tredici *et al.*, 2010; Iwanaga *et al.*, 1999). De plus, Braak et son équipe furent les premiers à observer la présence précoce de ces agrégats intraneuronaux dans les plexus nerveux intestinaux de patients atteints de la MP, qui précéderaient la propagation au sein du SNC par le biais du nerf vague (Braak *et al.*, 2003). De plus, la perte neuronale est observée de façon très précoce au sein du SNA. C'est par cette observation que s'est basée l'hypothèse selon laquelle la MP pourrait prendre pour origine le système nerveux entérique et se propager jusqu'aux structures cérébrales via le nerf vague. Depuis, cette hypothèse a pu être confirmée par différentes équipes (Kim *et al.*, 2019 ; Luk *et al.*, 2012 ; C. Peng *et al.*, 2018 ; Watts *et al.*, 2013), et notamment par des vagotomies (Svensson *et al.*, 2015) et appendectomies (Killinger *et al.*, 2018 ; Mendes *et al.*, 2015) qui ont permis de réduire le risque de développer la MP. En outre, il apparaît que les neurones à longs axones non-myélinisés – tels ceux au sein du SNC appartenant à la SNpc, au locus coeruleus, au noyau du Raphé, aux noyaux pédonculopontins ou encore du noyau basal de Meynert (Sulzer & Surmeier, 2013) - semblent les plus vulnérables à la formation de CLs (Falkenburger *et al.*, 2016). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'ils sont soumis à une exposition constante au stress oxydant de par leur fort besoin énergétique nécessaire à leurs impulsions, ce qui n'est pas le cas des neurones dont les axones sont protégés par une gaine de myéline (Bartzokis *et al.*, 2003). De plus, il apparaît que certaines populations neuronales soient plus susceptibles à former des agrégats d' α -syn, notamment les neurones DAergiques, noradrénergiques, glutamatergiques et cholinergiques mais très peu les GABAergiques (Gómez-Tortosa *et al.*, 2000 ; Seidel *et al.*, 2015 ; Spillantini *et al.*, 1998 ; Tredici & Braak, 2013 ; Wakabayashi *et al.*, 2007). Toutefois, les populations neuronales ne peuvent pas être uniquement classées selon leur neurotransmetteur, puisque par exemple les neurones DAergiques de la SNpc apparaissent plus vulnérables que ceux de la VTA (Braak *et al.*, 2004). De plus, aucune étude n'a montré que tous les neurones connectés aux régions impactées par la MP et les CLs allaient eux aussi développer la pathologie (Henderson *et al.*, 2018 ; Sorrentino *et al.*, 2017). Ainsi, cette plus forte susceptibilité pourrait s'expliquer, d'une part, par le niveau d'expression de l' α -syn dans ces neurones (Erskine *et al.*, 2018 ; Taguchi *et al.*, 2016). D'autre part, elle pourrait s'expliquer par la plus faible présence de machinerie moléculaire participant à la dégradation de l' α -syn pathologique (Cao *et al.*, 2017).

L'ensemble de ces observations concernant la propagation des CLs a permis l'établissement de six stades d'évolution de la pathologie, les stades de Braak, en fonction de la progression centripète de propagation des CLs au sein du SNC (Braak *et al.*, 2003) (**Figure 4**). Les deux premiers stades d'évolution pourraient correspondre à la phase prodromale de la MP, durant laquelle le patient ne présente pas de symptômes cliniques bien que certaines affections se développent, notamment olfactives en lien avec la présence de CLs dans les bulbes associés. Puis, les CLs gagnent des structures cérébrales plus internes, notamment la SN, l'amygdale et le noyau sub-thalamique, possiblement en lien avec l'initiation des troubles moteurs du patient. Enfin, les CLs se propagent jusqu'au cortex, en corrélation avec le développement des troubles cognitifs du patient. L'ensemble de ces éléments montrent ainsi une nouvelle fois que la MP est une pathologie dynamique et généralisée. A l'heure actuelle, cette hypothèse de propagation stéréotypique des CLs reste toujours un élément central de la recherche sur la

physiopathologie de la MP. Elle a ainsi pu être démontrée en 2008 par la présence de CLs au sein de neurones mésencéphaliques fœtaux greffés dans des cerveaux de patients atteints la MP (Kordower *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2008). De plus, l'injection de broyats d'homogénats protéiques de CLs, issus de la SNpc de patients atteints de la MP, au sein de la SNpc de souris et de macaques induit la neurodégénérescence de cette structure (Recasens *et al.*, 2014).

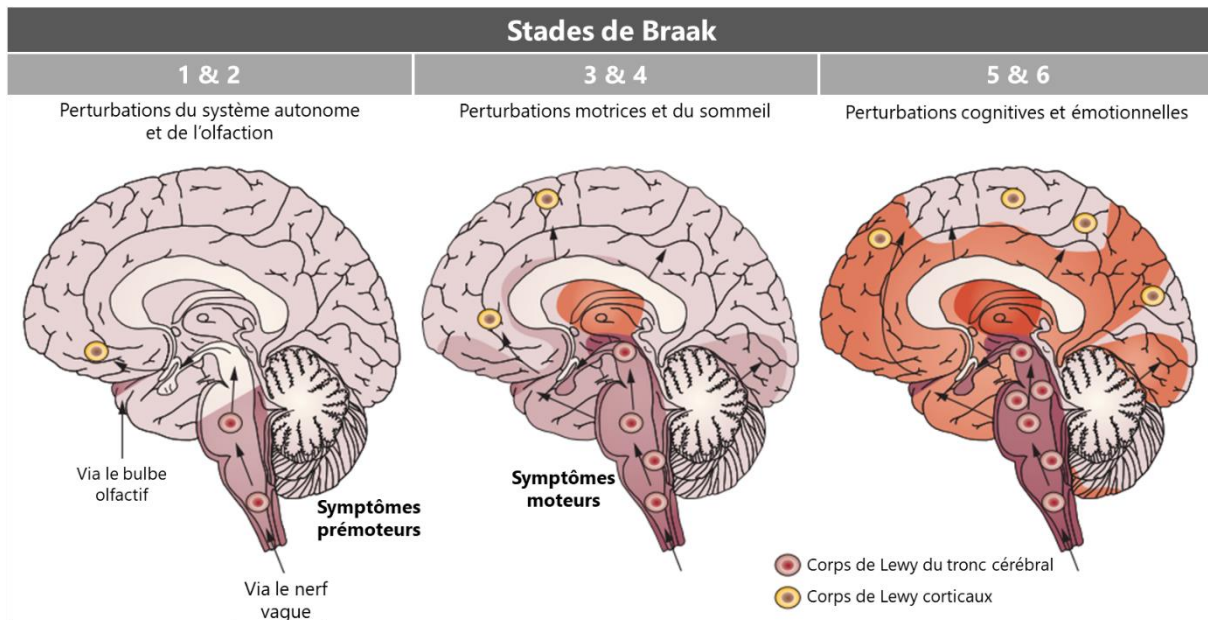


Figure 4 : Les stades de Braak (Adaptée de Halliday *et al.*, 2011)

La répartition des CLs évolue avec la progression de la maladie. Dans un premier temps (stades 1 et 2 de Braak), les CLs apparaissent dans les noyaux inférieurs du tronc cérébral, ainsi que dans les bulbes olfactifs. Les premiers symptômes apparaissent lors de la propagation caudale des CLs jusqu'à la SNpc et les aires néocorticales (stades 3 et 4) et jusqu'à l'émergence de troubles cognitifs durant les phases tardives de la maladie (stades 5 et 6).

Cependant, le rôle délétère de ces CLs reste débattu. Notamment, la présence de CLs au sein de la SNpc ne semble pas être corrélée avec la perte neuronale dans cette même structure, contrairement aux bulbes olfactifs ou au cortex (Iacono *et al.*, 2015). Ainsi, l'expansion des CLs n'apparaît pas directement liée à la mort neuronale et donc au développement des symptômes cliniques (Parkkinen *et al.*, 2005). De plus, certains patients peuvent présenter des signes cliniques clés de la pathologie, une baisse de synthèse de DA, une dégénérescence des neurones DA dans la SNpc, en absence de CLs détectables. Par ailleurs, il semble que le développement de CLs soit lié aux symptômes non-moteurs de la MP comme les troubles cognitifs (Kalia & Lang, 2015). En outre, il semblerait que la présence corticale de CLs soit corrélée au développement du déficit cognitif et notamment de démence (Selikhova *et al.*, 2009). Enfin, à défaut des CLs, il se pourrait que de plus petits agrégats de protéines mal-conformées, telle que l' α -syn oligomérique, soient plus toxiques pour les neurones (Schulz-Schaeffer, 2012).

I.4. Symptomatologie

La MP est une maladie chronique dont le début est insidieux et la phase prodromale dure probablement de nombreuses années avant l'apparition des tous premiers symptômes cliniques. Durant cette période, le cerveau va compenser la perte en DA par plasticité, permettant au patient de rester asymptomatique. Les premiers symptômes moteurs surviennent entre 45 et 65 ans mais peuvent se présenter dès 40 ans pour certaines formes précoces de la pathologie. Il a d'ailleurs été estimé que les premiers symptômes moteurs apparaissent lorsqu'environ 50 à 70% des neurones DAergiques de la SNpc ont dégénéré et lorsque le taux de DA dans le ST est déplété de 80% environ (Kordower *et al.*, 2013 ; Miller & O'Callaghan, 2015). Ainsi, les symptômes observés chez les patients atteints de la MP peuvent concorder avec l'évolution des zones cérébrales affectées (**Figure 5**).

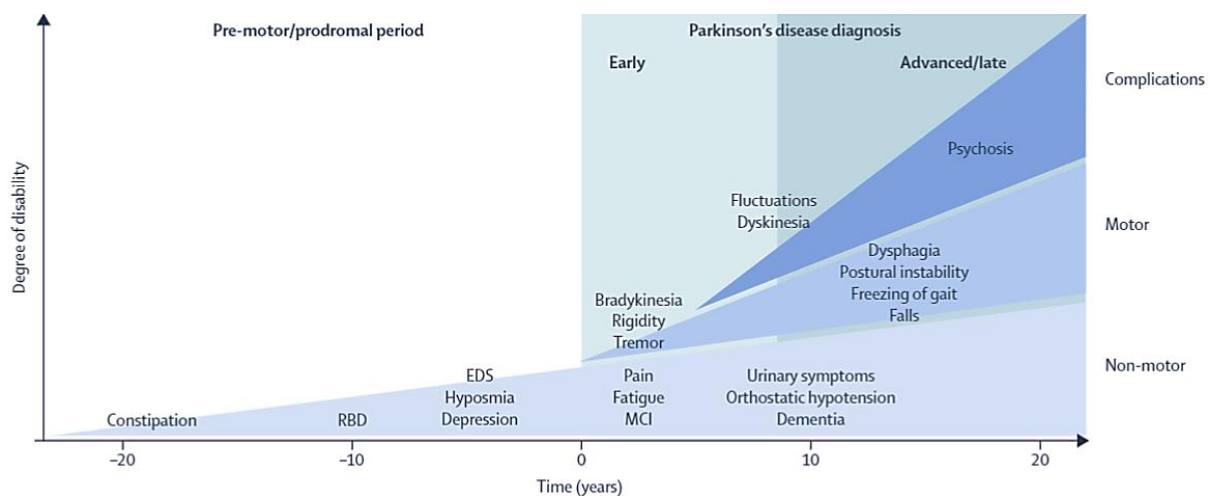


Figure 5 : Evolution des symptômes cliniques en lien avec la progression de la maladie de Parkinson (Kalia & Lang, 2015).

Le diagnostic de la MP s'établit par l'apparition des premiers symptômes moteurs (temps 0). Toutefois, il peut se passer jusqu'à 20 ans avant que soit posé le diagnostic. Cette phase prodromale se caractérise par un ensemble de symptômes non-moteurs, tels qu'une constipation, des troubles du sommeil ou encore une dépression. Avec la progression de la maladie, le patient développe de plus en plus de troubles à la fois moteurs et non-moteurs, engendrant un handicap de plus en plus impactant. (EDS=excessive daytime sleepiness. MCI=mild cognitive impairment. RBD=REM sleep behaviour disorder)

I.4.1. Symptômes moteurs

Classiquement, la MP se caractérise par la triade parkinsonienne : un tremblement de repos, une difficulté à initier et coordonner les mouvements (akinésie) ainsi qu'une raideur et douleur unilatérale musculaire (hypertonie) modifiant la posture et la démarche. Ces caractéristiques apparaissent de façon progressive, unilatérale ou asymétrique. De plus, le développement de ces symptômes moteurs reste hétérogène selon le patient (Kalia & Lang, 2015). D'un côté, il existe aussi des formes incomplètes ne présentant pas l'ensemble des aspects de cette triade (Bloem *et al.*, 2021). D'un autre côté, il existe d'autres pathologies dont les premiers symptômes corrélient fortement avec ceux de la MP, rendant le diagnostic difficile (Bloem *et al.*, 2021). Ces pathologies sont regroupées au sein des syndromes

parkinsoniens, tels que l'atrophie multisystématisée, la paralysie supranucléaire progressive, la dégénérescence corticobasale et la maladie à CLs. Les symptômes sont évolutifs et la maladie est alors de plus en plus invalidante pour les patients, jusqu'à l'impossibilité de marcher et la perte totale d'autonomie.

I.4.2. Symptômes non-moteurs

Bien que la MP soit généralement caractérisée par ses troubles moteurs, cette maladie est aussi liée à des perturbations neuropsychiatriques, autonomiques et cognitives en lien avec la dégénérescence d'autres populations neuronales (sérotoninergiques du noyau du Raphé, noradrénergiques du locus coeruleus, cholinergiques du noyau basal de Meynert...) (Bloem *et al.*, 2021). Bien que considérés comme secondaires, ces symptômes apparaissent jusqu'à 20 ans en amont du déploiement des dysfonctions motrices et sont donc indicateurs du développement de la MP (**Figure 5**). De ce fait, cette phase prodromale pourrait servir de fenêtre temporelle thérapeutique. Parmi ces troubles sont retrouvés une psychose, une dépression, de l'anxiété, une constipation chronique, des troubles du sommeil, de l'odorat, de la concentration, de l'élocution (Kalia & Lang, 2015; Martínez-Martín *et al.*, 2007). L'ensemble de ses symptômes, qui s'ajoutent aux troubles moteurs, dégradent considérablement la qualité de vie quotidienne et sociale du patient.

I.5. Diagnostic clinique

Le diagnostic de la MP reste à l'heure actuelle un véritable challenge. En effet, par sa complexité due à la variété de sa progression ou encore de ses causes, l'établissement d'un diagnostic clair reste difficile. La référence pour établir un diagnostic définitif réside dans l'examen post-mortem des cerveaux de patients, mettant en lumière la dégénérescence de la SNpc ainsi que la présence de CLs (Kalia & Lang, 2015). Chez le patient vivant, le diagnostic est alors clinique, basé sur l'évaluation des symptômes (notamment ceux de la triade de symptômes moteurs) et le constat neurologique. L'évaluation est ensuite confirmée par la réponse positive et prolongée au traitement à la L-Dopa (ou Levodopa, précurseur de la DA), et possiblement par des approches de médecine nucléaire (« DAT-SPECT », pour Dopamine Transporter Single Photon Emission Computed Tomography ; ou TEP, pour Tomographie à Emission de Positrons) (Brooks, 2010) et/ou d'imagerie par résonance magnétique (IRM) (Chougar *et al.*, 2020). Le traitement le plus approprié peut ainsi être prescrit et adapté suivant l'évolution de la maladie.

Il a ainsi été décrit en 1967 par Hoehn et Yahr différents stades clinique d'évolution de la pathologie (Hoehn & Yahr, 1967). Le stade I correspond aux premiers défauts unilatéraux à handicap minime. Le stade II caractérise les signes unilatéraux gênants. Le stade III distingue les signes bilatéraux modifiant la posture et l'équilibre. Le stade IV dénote un handicap plus sévère avec un début de perte d'autonomie. Finalement, le stade V désigne une perte d'autonomie totale avec notamment une marche rendue impossible. Cette échelle est toujours communément utilisée, bien qu'elle reste peu sensible.

INTRODUCTION

Aujourd'hui, le diagnostic de la MP reste difficile, d'autant plus dans les stades précoces de la pathologie et aussi puisque l'évolution de la maladie peut diverger selon le patient. A l'heure actuelle, il n'existe pas d'examen permettant la détection de biomarqueur à la fois précoce et à haute sensibilité. Il reste donc toujours difficile d'établir un diagnostic pré-clinique net des patients atteints. C'est pourquoi il est, notamment, nécessaire de découvrir de nouveaux marqueurs prédictifs de la pathologie, que cela soit en termes de phénotype comportemental, de facteur génétique, protéomique, tissulaire ou encore de biomarqueurs de neuroimagerie (Poewe *et al.*, 2017). De même, le développement de ces nouveaux biomarqueurs permettra d'établir un diagnostic plus précoce mais aussi de suivre la progression de la pathologie de manière plus optimale. Parmi ces nouveaux potentiels biomarqueurs, ont été décrit le taux plasmatique d'acide urique (Weisskopf *et al.*, 2007), l'altération du microbiote intestinal (Scheperjans, 2016) ou encore le taux d' α -syn agrégée dans des tissus périphériques comme la peau (Gibbons *et al.*, 2016).

I.6. Etiologie

Les causes de la MP restent mal comprises mais résulteraient d'une interaction complexe entre facteurs génétiques et environnementaux. La MP apparait donc multifactorielle. En outre, le vieillissement reste le facteur de risque majeur au développement de la pathologie.

I.6.1. Causes génétiques

Il est estimé que 5 à 10% des cas de MP sont familiaux, c'est-à-dire liés à une mutation héréditaire. Ce sont ainsi des formes familiales monogéniques à transmission mendélienne (Corti *et al.*, 2011). En 2018 avaient été identifiés 23 loci et 19 gènes liés et/ou induisant la MP (Deng *et al.*, 2018). Le **Tableau 1** résume les principaux gènes impliqués dans la MP. De plus, la génétique des protéines α -syn et LRRK2 sera développée plus en détails respectivement dans les parties II.1 et III.1.

Ainsi, au sein même de ces formes héréditaires de la maladie, il est à noter leur grande diversité que ce soit dans l'âge d'apparition de la pathologie, leur forme d'héritabilité ou encore la fonction de leur protéine associée. Il est également observé qu'une majorité des protéines citées ont un rôle dans l'homéostasie mitochondriale et/ou les régulations de l'autophagie, même si d'autres fonctions fondamentales à la survie cellulaire soient aussi impactées au sein de ces formes familiales de la MP. En outre, il apparait que les formes autosomales dominantes de la MP sont liées à une apparition tardive de la maladie, similairement aux formes sporadiques.

Tableau 1 : Génétique de la maladie de Parkinson (Adapté de Blauwendraat *et al.*, 2020; Corti *et al.*, 2011; Michel *et al.*, 2016; Poewe *et al.*, 2017)

Locus	Gène	Chromosome	Protéine	Année de découverte	Rôle	Mutation	Mode de transmission	Apparition de la maladie
PARK1/4	SNCA	4q22.1	α -syn	1997 (Polymeropoulos <i>et al.</i> , 1997)	Synapse, trafic intracellulaire, vésicules	A30P, E46K, H50Q, G51D, A53T, duplication / triplication	Autosomique dominant	Précoce / Tardive
PARK2	PARK2	6q25.2-27	Parkin (E3-ubiquitine ligase)	1998 (Mori <i>et al.</i> , 1998 ; Kitada <i>et al.</i> , 1998)	Mitophagie	~170 mutations	Autosomique récessif	Précoce
PARK5	UCHL1	4p14	UCHL1	1998 (Leroy <i>et al.</i> , 1998)	Système ubiquitine-protéasome	1 mutation	Autosomique dominant	Tardive
PARK6	PINK	1p36.12	PINK1 (Ser-Thr kinase)	2004 (Valente <i>et al.</i> , 2004)	Mitophagie	~50 mutations	Autosomique récessif	Juvenile / Précoce
PARK7	PARK7	1p36.23	DJ-1 (Oncogène)	2003 (Bonifati <i>et al.</i> , 2003)	Mitochondrie, défense antioxydante	~15 mutations, larges délétions	Autosomique récessif	Précoce
PARK8	LRRK2	12q12	LRRK2 (Kinase/ GTPase)	2004 (Zimprich <i>et al.</i> , 2004 ; Paisan-Ruz <i>et al.</i> , 2004)	Lysosomes, trafic intracellulaire	~7 mutations pathogéniques (dont G2019S), ~80 mutations non-sens	Autosomique dominant	Tardive
PARK9	ATP13A2	1p36.13	ATP13A2 (ATPase)	2006 (Ramirez <i>et al.</i> , 2006)	Transport de métaux et cations	~5 mutations	Autosomique récessif	Précoce
PARK17	VPS35	16q11.2	VPS35	2008 (Wider <i>et al.</i> , 2008)	Complexe rétromère, Endosomes, Golgi, lysosome, trafic intracellulaire	~5 mutations	Autosomique dominant	Tardive

I.6.1.1. Formes autosomiques dominantes

Le concept de formes familiales de la MP est apparu suite à la découverte du gène *SNCA* de l' α -syn, et notamment d'une mutation pathogène. En effet, il a pu être discriminé au sein d'une famille italienne la mutation faux-sens à transmission autosomale dominante sur l'acide aminé (AA) 53 de la protéine, d'une Alanine mutée en Thréonine (Ala53Thr ou A53T) (Polymeropoulos *et al.*, 1997). Les mutations au sein de *SNCA* induisent ainsi soit des mutations non-sens, par une substitution de nucléotide, soit une multiplication (duplication ou triplication) de son locus et donc une augmentation de l'expression de la protéine. Ceci augmente la capacité d'agrégation de l' α -syn qui en devient ainsi pathogène (Devine *et al.*, 2011). Bien que les mutations de *SNCA* soient rares, leurs découvertes ont permis de mettre en lumière l'importance de l' α -syn dans la MP et sa présence au sein des CLs et NLS (Spillantini *et al.*, 1997). Plus de détails sur la génétique de l' α -syn seront apportés en partie II.1. .

Les mutations au sein du gène *LRRK2* sont les plus fréquentes dans les formes familiales de la MP (Corti *et al.*, 2011). Son locus PARK8 a pu être identifié au sein d'une famille japonaise présentant une forme autosomale dominante de la maladie (Funayama *et al.*, 2002, 2005). Il a ainsi été mis en évidence sept mutations de *LRRK2* identifiées comme pathogéniques : N1437H, R1441G/C/H, Y1699C, G2019S et I2020T (Aasly *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2016; Healy *et al.*, 2008; Lubbe & Morris, 2014). Ces mutations sont ainsi retrouvées dans environ 4% des formes familiales de la maladie mais aussi dans environ 1% des cas sporadiques (Healy *et al.*, 2008). Identifiée en 2005 (Kachergus *et al.*, 2005), sa mutation G2019S est la plus fréquente et augmente son activité kinase, phénomène qui la rendrait potentiellement pathogène (Greggio *et al.*, 2006 ; West *et al.*, 2005). Remarquablement, cette substitution est très fréquente chez les juifs ashkénazes (Ozelius *et al.*, 2006) et chez les arabes berbères du nord de l'Afrique (Lesage *et al.*, 2006) et peut atteindre jusqu'à 30-40% des cas. En outre, les patients

présentant la mutation G2019S sont cliniquement très proches des patients sporadiques (Zimprich *et al.*, 2004). Plus de détails sur la génétique associée à LRRK2 seront apportés en partie III.1. .

I.6.1.2. Formes autosomiques récessives

Les formes récessives apparaissent liées à un développement précoce de la MP, et cliniquement proches des formes sporadiques. De façon intéressante, une grande majorité des gènes liés aux formes autosomales récessives semble impliquée dans la régulation de la mitochondrie.

Les mutations au sein du gène codant pour Parkin, E3-ubiquitine ligase intervenant dans la régulation du protéasome ainsi que dans la mitophagie, sont les plus fréquentes au sein des formes autosomales récessives de la pathologie. De manière intéressante, les patients déclarant précocement la MP (avant 45 ans) présentent ces mutations dans 50% des cas familiaux à transmission récessive et 15% des cas sporadiques (Lücking *et al.*, 2000 ; Periquet *et al.*, 2003). Ces mutations entraînent la perte de fonction de la protéine, induisant une dérégulation de l'homéostasie mitochondriale (Song *et al.*, 2016). Les patients porteurs de ces mutations sont marqués par une neurodégénérescence de la SNpc et du locus coeruleus (Corti *et al.*, 2011), sans pour autant présenter de CLs (Schneider & Alcalay, 2017).

Les mutations au sein des gènes codant pour PINK1 et DJ-1 sont peu fréquentes (1-8% et 1-2% des formes autosomiques récessives) (Singleton *et al.*, 2013). Ces mutations entraînent la dégénérescence de la SNpc ainsi que la formation de CLs (Samaranch *et al.*, 2010 ; Taipa *et al.*, 2016). De manière remarquable, les protéines codées par ces deux gènes semblent avoir des activités neuroprotectrices. D'un côté, PINK1 est une kinase localisée dans le cytoplasme et à la mitochondrie. Elle pourrait aussi avoir un rôle dans la régulation de la différenciation neuronale (Matsuda *et al.*, 2013). D'un autre côté, DJ-1 a été décrit comme intervenant dans la défense antioxydante, et pourrait être un allié utile dans la régulation de l'environnement oxydant présent dans les neurones DAergiques (Ariga *et al.*, 2013). Enfin, les mutations de ATP13A2 (ATPase cation transporting 13A2) peuvent induire le développement très précoce de la maladie, dès 20 ans (Lunati *et al.*, 2018). Toutefois, les mutations de ce gène restent principalement associées au développement du syndrome de Kufor-Rakeb, une forme atypique de parkinsonisme précoce (Corti *et al.*, 2011).

I.6.1.3. Facteurs de risques génétiques

Il apparait que le terme « forme sporadique » de la MP est une simplification. En effet, ce terme fait référence à une pathologie qui se développe de façon spontanée, sans origine ou cause connue. Toutefois, il a été décrit qu'un nombre considérable de cas de la MP est lié à des facteurs de risques génétiques, détectés par de larges études d'association pangénomiques (Genome Wide Association Study, GWAS) (Nalls *et al.*, 2019). Les premiers loci liés à la MP furent identifiés par GWAS en 2009 sur environ 14000 individus, dont 5000 individus atteints de la MP (Simon-Sanchez *et al.*, 2009). En 2019, près de 90 facteurs de risques indépendants ont pu être identifiés sur une cohorte de 37 000 patients

pour 1 – 4 millions d'individus contrôle (Nalls *et al.*, 2019). Parmi ces facteurs de risque identifiés, le plus fréquent réside dans des polymorphismes de GBA, qui code pour la glucosylcéramidase (GCase), une enzyme lysosomale dont la déficience liée à certaines mutations entraîne différentes formes de la maladie de Gaucher (Sidransky & Lopez, 2012). Ces variants sont ainsi retrouvés jusque dans 20% des patients atteints de la MP (Senkevich & Gan-Or, 2019). En outre, il existe d'autres variants génétiques (polymorphismes) contribuant à augmenter le risque de développer la MP dans les gènes codant pour l' α -syn et LRRK2 (Lill, 2016).

L'identification de ces gènes prend une part importante dans la meilleure compréhension des mécanismes responsables du développement de la MP, et ainsi permettrait de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques. De plus, leur identification a aussi permis de développer des modèles expérimentaux de la pathologie (plus de détails en partie I.8.3.2.). Néanmoins, il apparaît qu'une grande partie de ces gènes détient une pénétrance incomplète, et leurs variants ne peuvent donc pas à eux-seuls expliquer le développement de la pathologie. Ainsi, l'identification de ces facteurs de risque ne sont en rien prédictif du développement de la maladie. Cela suggère que d'autres facteurs doivent entrer en jeu pour développer la MP, notamment des facteurs liés à l'environnement.

I.6.2. Causes environnementales

Les cas sporadiques représentent ainsi 90 à 95% des cas, la pathologie se développant suivant l'exposition à un ou plusieurs facteurs environnementaux chez une personne génétiquement prédisposée mais qui ne présente cependant pas de mutation dans les gènes impliqués dans les formes familiales de la MP. Le rôle des facteurs environnementaux dans le développement de la MP avait initialement été montré par l'intoxication de toxicomanes au MPTP, sous-produit d'opioïde de synthèse, qui ont développé un parkinsonisme (Langston, 1983). Après passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE), le MPTP est converti dans les cellules gliales en 1-méthyl-4-phényl-pyridinium (MPP⁺). Ce dernier a la capacité d'entrer dans les neurones DAergiques via le DAT (Transporteur de la DA) et va ainsi inhiber le premier complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale, induisant *in fine* la dégénérescence de la SNpc (Obeso *et al.*, 2017).

Une méta-analyse a permis de mettre en lumière des facteurs de risques environnementaux qui modifient le risque de développer la MP. Parmi les facteurs augmentant ce risque, sont retrouvés l'exposition aux pesticides (vie en milieu rural, professions agricoles), les traumatismes crâniens ou encore l'utilisation de β -bloquants (Noyce *et al.*, 2012). Il est à noter que la MP fait ainsi partie des maladies professionnelles du régime agricole depuis 2012 (*source : santepubliquefrance.fr*). *A contrario*, il existerait des facteurs environnementaux protecteurs tels que la consommation de café ou d'alcool, le tabagisme ou encore l'utilisation d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens (Noyce *et al.*, 2012). D'autres études ont aussi montré que l'exposition aux solvants organiques, notamment au trichloroéthylène utilisé en industrie, augmenterait le risque de développer la MP (Goldman *et al.*, 2012). Par ailleurs, il est possible de corrélérer l'exposition à ces facteurs environnementaux avec les stades de Braak

INTRODUCTION

précédemment décrits. En effet, Braak émis l'hypothèse selon laquelle la porte d'entrée au développement de la MP se situe dans les voies digestives et/ou nasales. Ces deux voies sont notamment en lien direct avec l'environnement et le système nerveux, et pourraient ainsi favoriser le passage des toxines puis permettre l'atteinte des structures cérébrales (Chen & Ritz, 2018). Des analyses complémentaires restent toutefois nécessaires pour confirmer l'ensemble de ces associations.

Ces composantes génétiques et environnementales pourraient jouer de concert dans le développement de la MP. Notamment, des études ont mis en évidence des gènes dont la mutation pouvait moduler l'impact de facteurs environnementaux dans le développement de la MP. Ainsi, la répétition polymorphique dinucléotidique Rep1 dans le promoteur du gène *SNCA* modifie le risque de développer la MP suite à un traumatisme crânien (Goldman *et al.*, 2012). De même, il apparaît que la mutation G2019S de *LRRK2* (*LRRK2*^{G2019S}) peut augmenter la sensibilité au MPTP chez la souris (Karuppagounder *et al.*, 2016). Enfin, il a récemment été montré l'interaction entre le trichloroéthylène et *LRRK2* : ce solvant organique est en effet capable d'induire l'activité kinase de *LRRK2* et *in fine* conduire à la neurodégénérescence DAergique au sein d'un modèle murin âgé de la MP (De Miranda *et al.*, 2021). De ce fait, une meilleure compréhension de l'interaction entre facteurs génétiques et environnementaux est nécessaire dans la caractérisation des mécanismes pathogéniques de la MP, mais aussi dans l'identification de biomarqueurs et enfin dans l'établissement de thérapie personnalisée.

I.6.3. Systèmes biologiques mis en cause

Tout d'abord, les mécanismes liés à la perte spécifique des neurones DAergiques de la SNpc dans la MP restent mal compris. Cette mort neuronale peut ainsi s'expliquer par la vulnérabilité intrinsèque de la SNpc, mais aussi par la défaillance de multiples systèmes cellulaires fondamentaux. Parmi eux sont retrouvés un dérèglement des fonctions mitochondriales, une dysfonction du réticulum endoplasmique (RE), la neuroinflammation ou encore une défaillance des systèmes de dégradation cellulaire comme l'autophagie. Toutefois, le déroulement manifeste de leur implication dans la maladie reste mal compris. Il se pourrait même que la MP résulte de la combinaison de différents systèmes, de façon concomitante ou bien conséquentielle. La partie suivante constitue ainsi un résumé des principaux systèmes mis en cause dans la MP. En tant que thème majeur de ce projet de thèse, l'atteinte de l'autophagie dans la MP sera développée de façon plus conséquente en partie V.3. .

I.6.3.1. Fragilité de la substance noire *pars compacta*

La MP est ainsi caractérisée par la dégénérescence spécifique de la SNpc. Les neurones DAergiques seraient donc plus vulnérables que d'autres populations neuronales (**Figure 6**). Les mécanismes qui régissent cette vulnérabilité préférentielle ne sont pas connus. Néanmoins, plusieurs hypothèses ont été émises qui peuvent être brièvement rappelées ici. Ces neurones présentent une arborescence axonale massive, non-myélinisée et très longue (jusqu'à 4,5 mètres chez l'Homme). Un seul neurone DAergique chez l'Homme pourrait ainsi former jusqu'à 2,4 millions de synapses avec le ST.

Cette morphologie particulière nécessite ainsi un fort apport bioénergétique afin de maintenir à la fois sa structure mais aussi la fonctionnalité du neurone. De ce fait, toute perturbation de cet apport pourrait perturber l'homéostasie de ces cellules, les rendant ainsi plus fragiles (Bolam & Pissadaki, 2012). Du point de vue de leur activité, les neurones DAergiques peuvent être considérés comme des pacemakers à activité autonome et spontanée, définie par de fortes oscillations des niveaux calciques intraneuronaux. Les taux de calcium cytosolique au sein de ces neurones se doivent alors d'être finement régulés (Ghiglieri *et al.*, 2018; Surmeier *et al.*, 2017). Enfin, les toxines MPTP et 6-hydroxydopamine (6-OHDA) utilisées au sein de modèles animaux de la MP (plus de détails en partie I.8.) agissent sélectivement sur les neurones DAergiques en pénétrant ces cellules via le DAT.

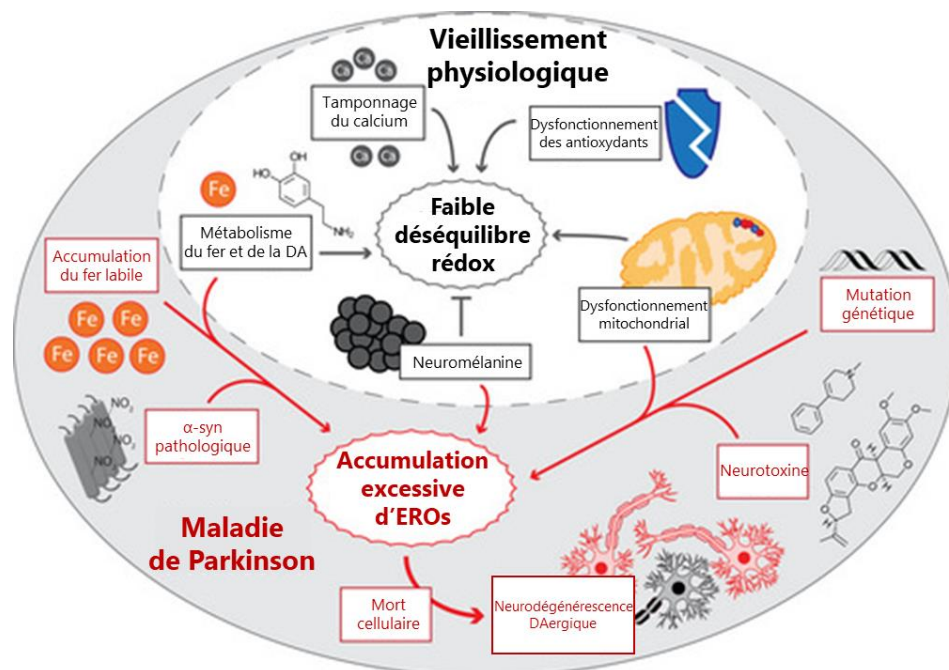


Figure 6 : Le stress oxydatif dans la substance noire *pars compacta* (Adaptée de Trist, 2019)

Chez l'individu âgé et sain, la SNpc est soumise à un environnement oxydatif. Ce stress basal est lié à de multiples facteurs, tels que le métabolisme de la DA ou la faible présence de défenses antioxydante. Cependant, la neuromélanine présente dans les neurones DAergiques permet de limiter l'impact de ce stress oxydatif. Dans le cas de la MP, la SNpc est fortement soumise au stress oxydatif, de par la superposition de stress auxquels elle est contrainte (dysfonctionnement mitochondrial, accumulation de fer labile, mort des neurones DAergiques...) La SNpc en ressort donc d'autant plus fragilisée.

La DA et ses métabolites joueraient également un rôle central dans la vulnérabilité des neurones DAergiques. En effet, ils participent à la production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) (Olney, 1990) mais aussi de dérivés azotés (comme l'oxyde d'azote NO ou le peroxyde d'azote ONOO). Les neurones DAergiques seraient donc soumis à un état basal de stress important associé à un environnement oxydatif au sein de la SNpc (Trist, 2019). La SNpc présente, chez les patients de nombreuses traces d'oxydation, que ce soit au niveau des protéines, des lipides ou encore des AA (Mor *et al.*, 2017). Notamment, la SNpc contiendrait jusqu'à deux fois plus de protéines oxydées que le ST ou le cortex frontal de patients atteints de la MP (Floor & Wetzel, 1998). La SNpc présente de plus des défenses contre le stress oxydatif qui seraient plus faibles que celles d'autres structures cérébrales, telle que le glutathion (Sian *et al.*, 1994). La SNpc détient également un taux important de fer (Moreau *et al.*, 2018),

INTRODUCTION

cofacteur enzymatique essentiel à la production de catécholamines. Ceci peut alors accentuer le stress déjà présent dans la SNpc, notamment par la génération de radicaux libres due au cycle oxydation-réduction du fer (Dickson, 2007). De plus, il apparaît que la monoamine oxydase (MOA), qui participe à la régulation de la disponibilité en DA à la fente synaptique, induit par son fonctionnement la production de peroxyde d'hydrogène qui peut réagir avec le fer libre et former, via la réaction de Fenton, des radicaux hydroxyls très réactifs (Lotharius & Brundin, 2002b). En outre, les neurones DAergiques présentent une forte concentration en neuromélanine. En premier lieu, ce pigment sombre se forme à partir de la polymérisation de différentes molécules en lien avec l'oxydation de la DA en excès, et participe à l'élimination des espèces toxiques présentes dans la cellule notamment en jouant le rôle de chélateur du fer (Sulzer & Zecca, 2000). Cependant, dans le cas de la MP, la neuromélanine ne serait plus capable de jouer ce rôle protecteur et se retrouve dégradée, favorisant ainsi le dépôt extracellulaire en fer et en conséquence la réactivité des cellules gliales environnantes (Zecca *et al.*, 2006). Finalement, de façon intéressante, il s'avère que tous les neurones DAergiques ne sont pas soumis à la dégénérescence liée à la MP. En effet, à titre d'exemple, les neurones DAergiques présents dans la VTA ne dégénèrent pas (Braak *et al.*, 2004).

Enfin, il se peut que ce stress soit aussi lié à la présence de protéines à conformation anormale, telle que l' α -syn, dont les modifications post-traductionnelles pourrait notamment favoriser la production de stress oxydant (Trojanowski & Lee, 1998). L' α -syn pourrait ainsi interagir avec la TH, en diminuant son activité (Perez *et al.*, 2002). Par ailleurs, il a aussi été montré que la DA oxydée pouvait empêcher la formation de formes fibrillaires de l' α -syn (Norris *et al.*, 2005).

I.6.3.2. La mitochondrie

La mitochondrie est un organite très souvent décrit comme centrale énergétique de la cellule, notamment par son apport en ATP (Adénosine triphosphate) via la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle représente également un élément majeur dans la régulation de multiples signalisations ou encore dans la mort cellulaire. Cet organite est ainsi un élément incontournable de la physiopathologie de la MP (Macdonald *et al.*, 2018) (**Figure 7**). D'une part, dès 1983 a été montré le lien entre la perturbation de la chaîne respiratoire mitochondriale et le développement de la MP par lésion DAergique irréversible, par injection de MPTP qui inhibe le premier complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale (Langston, 1983). De plus, une déficience de ce complexe a été observée au sein du ST (Mizuno *et al.*, 1989) et de la SNpc (Schapira *et al.*, 1990) de patients atteints de la MP. D'autre part, le rôle fondamental de la mitochondrie dans la MP a été mis en lumière par la découverte de gènes impliqués dans l'étiologie de la maladie et qui ont un lien avec l'homéostasie mitochondriale, tels que ceux codant pour Parkin, DJ-1 ou PINK1 (Dawson & Dawson, 2010).

La dérégulation de l'homéostasie mitochondriale a pu être observée au sein de neurones DAergiques de la SNpc de patients (Anglade *et al.*, 1997). Il a aussi été montré que la SNpc, déjà sujette à l'environnement oxydant résultant du métabolisme de la DA, est aussi soumise à un important stress

mitochondrial basal (Surmeier *et al.*, 2012). Toutefois, l'atteinte mitochondriale dans la MP ne semble pas se limiter à la SNpc puisqu'elle est aussi retrouvée dans d'autres régions cérébrales et même dans les cellules musculaires squelettiques ainsi que dans les plaquettes (Schapira, 2008). En outre, et d'autant plus puisque l'âge est le principal facteur de la MP, il apparaît que le vieillissement aurait un impact sur le bon fonctionnement des mitochondries. En effet, avec l'âge apparaissent de plus en plus de délétions de l'ADN mitochondrial, perturbant ainsi l'homéostasie mitochondriale et donc également la chaîne respiratoire (Wong & Krainc, 2017). L'ADN mitochondrial est d'autant plus vulnérable car il n'est pas protégé par des histones comme peut l'être l'ADN nucléaire (Richter *et al.*, 1988). Des dommages de l'ADN mitochondrial ont ainsi pu être visualisés chez des patients souffrant de formes héréditaires de la MP (Gonzalez-Hunt *et al.*, 2021). Enfin, la mitochondrie a aussi été liée aux protéines dont les gènes sont impliqués dans les formes familiales de la MP. Ainsi, il a été montré que l' α -syn peut interagir et/ou s'accumuler au sein de cet organelle et l'altérer (Martin *et al.*, 2006a ; Nakamura *et al.*, 2011). De façon intéressante, il a été observé que la délétion de l' α -syn chez la souris soumise à une administration chronique de MPTP prévient les déficiences motrices ainsi que la mort des neurones DAergiques, obtenue usuellement par ce modèle pharmacologique, suggérant que le phénotype parkinsonien résultant de la défaillance de la mitochondrie pourrait être dépendante de l' α -syn (Fornai *et al.*, 2005).

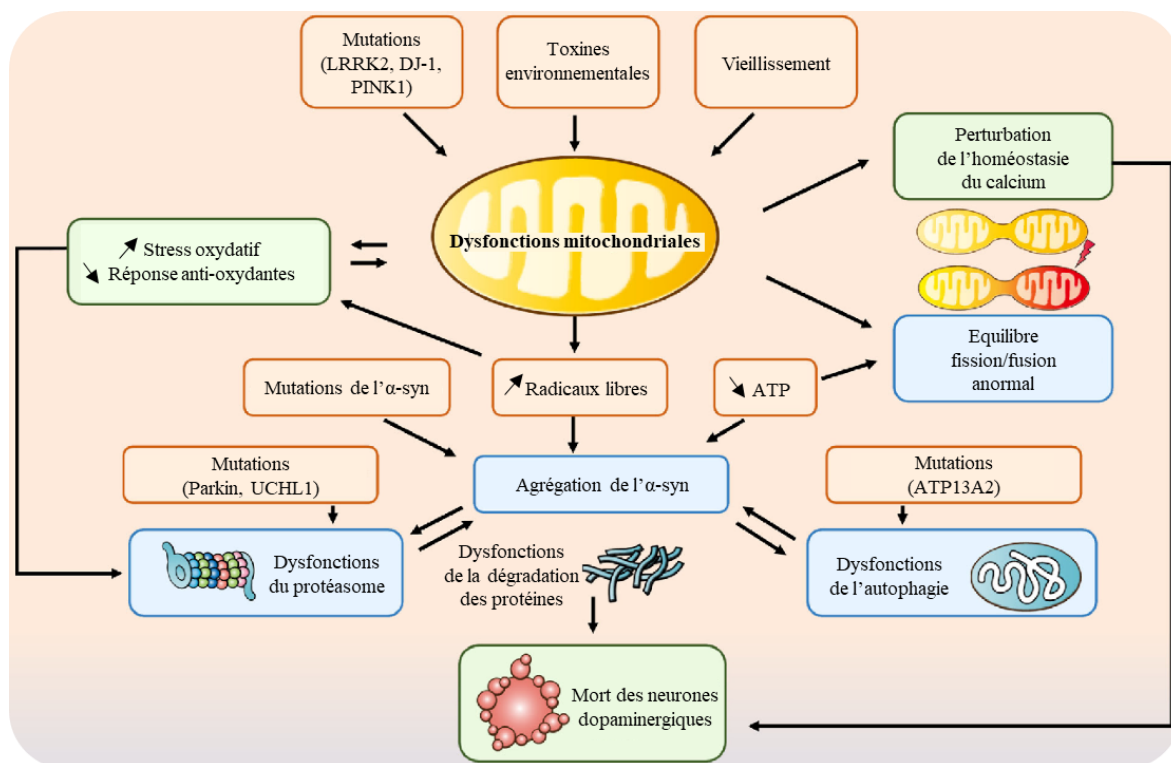


Figure 7 : Dysfonctions mitochondriales dans la maladie de Parkinson (Adaptée de Moon & Paek, 2015)

De multiples facteurs, tel que des mutations génétiques, l'exposition à des toxines environnementales ou encore le vieillissement, sont impliqués dans l'étiologie de la MP. Ainsi, des perturbations de la mitochondrie ont été identifiées dans la pathogenèse de la MP, que ce soit des fonctions métaboliques de l'organelle, une morphologie anormale ou encore une balance fission-fusion déséquilibrée. L'ensemble de ces perturbations peut engendrer la formation de stress oxydant, impactant le bon fonctionnement d'autres systèmes biologiques, tels que le protéasome et l'autophagie, induisant *in fine* la mort des neurones.

INTRODUCTION

Enfin, les dérégulations de la mitochondrie dans la MP se retrouve également dans des défauts de la mitophagie. Cette forme sélective de l'autophagie (plus de détails en partie V.1.4.) permet le recyclage des mitochondries vieillissantes et/ou endommagées afin de maintenir le pool de ces organites nécessaire au maintien de l'intégrité neuronale. D'un point de vue mécanistique, il a été montré que Parkin (Narendra *et al.*, 2008) et PINK1 (Geisler *et al.*, 2010 ; Matsuda *et al.*, 2010 ; Narendra *et al.*, 2010) jouent de concert dans la régulation de ce processus. De façon intéressante, les gènes codant pour ces deux protéines sont mis en cause dans certaines formes familiales de la MP (Corti *et al.*, 2011). De plus, il a été montré qu'à la fois l' α -syn (Shaltouki *et al.*, 2018 ; Wilkaniec *et al.*, 2021) mais aussi LRRK2 (Vilas *et al.*, 2015) favorisent le dérèglement de la mitophagie. Enfin, la mitophagie fait le lien entre deux aspects critiques de la physiopathologie de la MP : des défauts de l'autophagie (ceci sera décrit plus en détails dans la partie V.2.) ainsi que des défaillances de l'homéostasie mitochondriales.

I.6.3.3. Le réticulum endoplasmique

Le RE est un organite essentiel des cellules eucaryotes, notamment dans la synthèse des protéines (McCaffrey & Braakman, 2016). Ainsi, face à une dérégulation chronique de son homéostasie également nommé stress du RE, la cellule se révèle incapable d'induire une réponse UPR (Unfolded Protein Response) permettant d'augmenter les capacités de maturation et de repliement des protéines (Foufelle & Ferré, 2007). Une dérégulation du RE peut alors induire l'accumulation de protéines mal-conformées, telle que l' α -syn dans le cadre de la MP. Ainsi, les oligomères d' α -syn, en perturbant le trafic vésiculaire entre le RE et l'appareil de Golgi, pourrait induire une surcharge du RE et donc son dysfonctionnement (Cooper *et al.*, 2006). L' α -syn pourrait également s'accumuler au sein de la lumière du RE, de façon précoce dans l'étiologie de la MP (Colla *et al.*, 2012). De plus, l'expression de l' α -syn mutée A53T (α -syn^{A53T}) a été associée à une augmentation du stress du RE (Smith *et al.*, 2005). Enfin, il a été observé, au sein de neurones DAergiques de la SNpc de patients atteints de la MP, une forte activation de la réponse UPR (Selvaraj *et al.*, 2012). Cette activation apparait concomitante avec l'accumulation d' α -syn cytoplasmique dans ces neurones (Hoozemans *et al.*, 2007). Par ailleurs, il a été montré que des mutations de Parkin, ubiquitine ligase associée à des formes familiales de la MP, peut induire l'accumulation de ses substrats dans le RE des neurones DAergiques, favorisant le stress de cet organite et *in fine* la mort cellulaire (Imai *et al.*, 2001). Egalement, la sous-expression de Parkin induit un stress du RE en lien avec les dysfonctions mitochondriales, ce qui sous-entend le lien étroit entre ces deux organites intracellulaires (Bouman *et al.*, 2011). D'autre part, il a été montré que des neurones DAergiques dérivés de cellules souches pluripotentes induites (CSPi), dont le gène *GBA* codant pour la GCCase est muté, présentaient un important stress du RE (Fernandes *et al.*, 2016). De ce fait, la régulation fine de la réponse UPR apparait être un élément important pour contrecarrer la progression de la MP.

I.6.3.4. La neuroinflammation

La neuroinflammation représente une réaction de défense du SNC faisant intervenir le système immunitaire inné et adaptatif, notamment à la suite d'un événement perturbant l'homéostasie cérébrale.

Comme dans la plupart des MNDs, la neuroinflammation jouerait un rôle crucial dans la physiopathologie de la MP (Moehle & West, 2015), bien qu'elle ne serait pas à l'origine même de la pathologie (Ransohoff, 2016). Tout d'abord, la neuroinflammation dans la MP a été mise en évidence par analyse des taux de molécules pro-inflammatoires telles que l'interféron γ , le facteur de nécrose tumorale TNF α , l'interleukine 6 ou 1 β (Hunot *et al.*, 1999 ; McGeer *et al.*, 1988 ; Mogi *et al.*, 1994 ; 1996). Il a également été montré l'importante gliose, liée à la réactivité à la fois des astrocytes et des cellules microgliales, mais aussi l'infiltration des lymphocytes T au sein des aires cérébrales de patients affectés par la MP (Imamura *et al.*, 2003 ; McGeer *et al.*, 1988 ; Sulzer *et al.*, 2017) mais aussi au sein de modèles animaux de la maladie (Duffy *et al.*, 2018 ; Liberatore *et al.*, 1999). D'un côté, cette gliose induit la libération de nombreux facteurs neurotrophiques, mais aussi, d'un autre côté, la libération de cytokines pro-inflammatoires, de monoxyde d'azote et d'EROs (Phani *et al.*, 2012), auxquels les neurones DAergiques de la SNpc sont particulièrement sensibles. Cette neuroinflammation serait alors un évènement antérieur à la mort DAergique, et prendrait donc part à la neurodégénérescence (Duffy *et al.*, 2018 ; Maatouk *et al.*, 2018 ; Wu *et al.*, 2003). De plus, elle pourrait être plus importante dans la SNpc que dans les autres structures cérébrales car c'est dans cette région cérébrale que se trouve la plus forte densité de cellules microgliales (Yang *et al.*, 2013). Il a notamment été montré par imagerie TEP que les individus atteints de la MP présentent une forte activation microgliale au sein de leur voie nigrostriée (Lavisse *et al.*, 2021). Par ailleurs, la communication étroite entre la périphérie et le SNC sous-tend que les infections et/ou les inflammations peuvent jouer le rôle de facteur environnemental induisant ou contribuant à la pathogenèse de la MP. Cette hypothèse est notamment soutenue par des études épidémiologiques, associant notamment le développement de symptômes parkinsoniens après infection par la grippe espagnole (Ravenholt & Foege, 1982 ; Toovey *et al.*, 2011), par la tuberculose (Shen *et al.*, 2016) ou encore l'inflammation intestinale chronique (Park *et al.*, 2019). En outre, il a également été décrit que l' α -syn sous sa forme agrégée pouvait activer l'immunité innée et adaptative, dans le SNC mais aussi en périphérie (Reish & Standaert, 2015). Réciproquement, il semble aussi que la neuroinflammation elle-même peut favoriser le mauvais repliement et ainsi l'agrégation de l' α -syn (Gao *et al.*, 2008). Enfin, il a été montré qu'une approche pharmacologique immunosuppressive permettait de réduire la mort des neurones DAergiques chez un modèle rongeur de la MP (Van der Perren *et al.*, 2015). Toutefois, il est encore mal compris si cette neuroinflammation a seulement un effet délétère pour la survie des neurones DAergiques, puisque les cellules microgliales sont notamment capables de phagocyter l' α -syn (Park *et al.*, 2008). De même, la microglie activée par la surexpression de l' α -syn produit également des molécules anti-inflammatoires (Lastres-Becker *et al.*, 2012). Ces cellules montrent d'autant plus leur importance dans le cadre de la MP puisqu'il a été montré que l'ablation de la microglie augmentait l'impact du MPTP chez la souris (Yang *et al.*, 2018). Enfin, les mécanismes sous-tendant la neuroinflammation ont pu être détournés dans le développement d'immunothérapie contre l' α -syn (plus de détails en partie II.7.) (George & Brundin, 2015) .

I.7. Approches thérapeutiques

A l'heure actuelle, la majorité des traitements restent symptomatiques et ont pour but l'atténuation des stigmates moteurs et le ralentissement de la progression de la pathologie. Il n'existe pas de thérapie curative à ce jour. Ceci peut s'expliquer par la méconnaissance des mécanismes moléculaires associés à la MP, la variabilité interindividuelle dans la progression de la maladie mais aussi par ses causes multiples. Il reste ainsi primordial de mettre au point des thérapies innovantes capables de ralentir, voire d'arrêter la progression de la pathologie.

I.7.1. Approche médicamenteuse

L'objectif de l'approche médicamenteuse est avant-tout de compenser chimiquement la déficience en DA afin de rétablir la neurotransmission au sein de la voie nigrostriée. Le traitement de référence vise donc à augmenter la concentration intracérébrale en DA et/ou jouer sur l'activation des récepteurs de la DA (**Figure 8**). Ainsi, l'approche de première intention consiste en un apport exogène par administration de L-Dopa (ou Levodopa), qui peut traverser la BHE et pallier ainsi la déficience en DA (Olanow *et al.*, 2004). Ce traitement peut aussi être complété par des inhibiteurs de la monoamine oxydase de type B (MAO-B, rasagiline), enzyme responsable de la dégradation de la DA dans la fente synaptique ; ou par des inhibiteurs de la dopadécarboxylase périphérique (carbidopa) ou de la catéchol-o-méthyltransférase (COMT), en charge de la métabolisation de la L-Dopa en DA et diminuant alors la disponibilité cérébrale de la DA (Bloem *et al.*, 2021). La compensation en DA peut aussi être permise par apport d'agonistes DAergiques tels que l'apomorphine (Bloem *et al.*, 2021). Ces traitements doivent être préférentiellement prescrits lorsque le patient présente un handicap léger, et adaptés suivant l'évolution de la pathologie. Ainsi, le patient répond favorablement dès les premières prises à une dose adaptée, et voit ses symptômes moteurs se dissiper. Si ce n'est pas le cas, le diagnostic de MP peut être remis en cause.

Toutefois, ces traitements n'agissent ni sur la neurodégénérescence ni sur l'intégralité des symptômes non-moteurs (Chaudhuri & Schapira, 2009). De même, il reste difficile d'atténuer complètement les tremblements du patient, contrairement à la bradykinésie et la rigidité musculaire. Le traitement DAergique doit alors être complété par des anticholinergiques (Kalia & Lang, 2015). En outre, ces traitements médicamenteux ne sont valides que pour une petite dizaine d'années, période nommée communément « lune de miel ». Après cela, les patients, notamment ceux traités avec de la L-Dopa, doivent augmenter la fréquence de leur prise de médicament et développent des mouvements involontaires difficilement contrôlables (Dauer, 2003). Cette dyskinésie serait en partie due à la stimulation pulsatile du ST, en lien avec la concentration oscillante de DA. Par ailleurs, la concentration striatale en DA est normalement maintenue à une valeur relativement constante, ce qui n'est plus le cas dans le cas de la MP puisqu'en absence de terminaisons nigrostriatales cette concentration dépend de la disponibilité périphérique en L-Dopa. Une des pistes envisagées afin de maintenir un apport constant en L-Dopa réside dans son administration continue par implantation d'une pompe directement dans le

duodénum (Olanow *et al.*, 2014). Néanmoins, les patients en phase tardive de la MP ne répondent quasiment plus à la L-Dopa. L'accroissement de leurs symptômes peut notamment s'expliquer par le dysfonctionnement d'autres voies de neurotransmission (Kalia *et al.*, 2013). Il a notamment été montré que la démence des patients atteints de la MP, développée à un stade avancé de la pathologie, mais aussi les défauts de postures étaient en corrélation avec la défaillance des structures cholinergiques (Yarnall *et al.*, 2011). Enfin, ces traitements peuvent également induire d'autres effets indésirables (nausée, somnolence diurne, œdème, impulsivité, hallucinations...), notamment via la prise d'agonistes de la DA (Kalia & Lang, 2015). L'ensemble de ces réactions peut, à long-terme, être bien plus invalidant que les symptômes de MP en eux-mêmes.

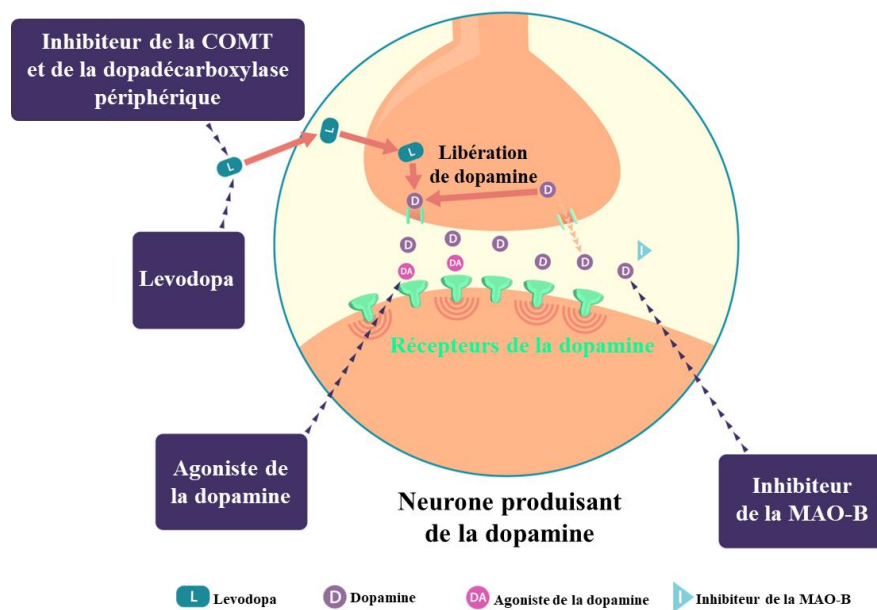


Figure 8 : Médication actuelle pour traiter la maladie de Parkinson (parkinsonsdisease.net)

I.7.2. Approche chirurgicale

Il existe une autre approche thérapeutique, qui est notamment propice chez ces patients ne répondant plus, ou mal, à la L-Dopa : la stimulation cérébrale profonde. Cette technique de neurochirurgie interventionnelle repose sur l'implantation d'électrodes dans les zones mal-afférentées (le noyau subthalamique, le GP et le thalamus) afin d'y émettre des impulsions électriques. Les mouvements involontaires sont ainsi réduits, ainsi que les tremblements des patients implantés (Kalia *et al.*, 2013). Il a aussi été montré que certains symptômes non-moteurs, tels que les troubles du sommeil pouvaient être atténués par cette approche chirurgicale (Fasano *et al.*, 2012). A cause de son caractère invasif, cette approche thérapeutique reste toutefois réservée aux patients soumis à un handicap modéré voire important et 10 – 13 ans après le diagnostic clinique de la MP (Kalia *et al.*, 2013). Toutefois, il a été décrit que l'intervention précoce chez des patients diagnostiqués depuis moins de 8 ans et souffrant de fluctuations motrices depuis moins de 3 ans leur avait permis d'améliorer considérablement leur qualité de vie, avec des bénéfices supérieurs qu'avec un traitement médicamenteux classique (Schuepbach *et al.*, 2013).

I.7.3. Vers les thérapies de demain...

Il apparaît nécessaire d'améliorer l'efficacité des traitements, afin de restreindre les symptômes tout en ralentissant la progression de la pathologie et limiter les effets indésirables liés notamment à la prise chronique de L-Dopa. Ces dernières années ont vu l'émergence de deux nouvelles approches majeures dans le but de restaurer les lésions liées à la MP, à la fois d'un point de vue structural mais aussi neurochimique : la thérapie génique et la transplantation de cellules. Le succès de leur développement pourrait alors représenter une réelle avancée thérapeutique dans la prise en charge des patients.

La stratégie par thérapie génique consiste à introduire du matériel génétique dans des cellules pour compenser l'expression d'un ou plusieurs gènes déficitaires. Dans le cas de la MP, ces stratégies se sont basées sur l'injection localisée de vecteurs viraux permettant l'expression de facteurs de croissance ou d'enzymes participant à la biosynthèse de la DA. D'un côté, la neurturine, appartenant à la famille des facteurs neurotrophes de la glie et identifiés comme protecteurs envers les neurones DAergiques (Kordower *et al.*, 2013), a été injecté à l'aide d'un virus adéno-associé (AAV) directement dans le putamen et/ou la SNpc de patient afin d'améliorer leurs symptômes, bien que l'effet neuroprotecteur se révéla limité (Bartus & Johnson, 2017). Néanmoins, cette approche par neuroprotection nécessite un dépistage le plus précoce possible, durant la phase prodromale de la MP, ce qui n'est à l'heure actuelle pas envisageable. D'un autre côté, d'autres essais cliniques se basent sur l'injection dans le ST de vecteurs viraux permettant l'expression de la TH, de co-facteurs essentiels à la synthèse de la DA ainsi que de la dopadécarboxylase, afin d'y permettre une synthèse et libération locale et continue de DA (Björklund *et al.*, 2009; Palfi *et al.*, 2014). Un suivi à long terme des patients ayant reçu une infusion intra-striatale de Prosavin (Palfi *et al.*, 2014) – un vecteur viral équivalent permettant l'expression d'enzymes essentielles à la production de DA, l'AADC, la TH ainsi que CH1 (GTP-cyclohydrolase 11) - est en cours et prévue jusqu'en 2022. Toutefois, les patients pourront bénéficier de cette approche seulement s'ils présentent une réponse adéquate à la L-Dopa ainsi qu'un début d'handicap moteur.

D'autre part, l'approche par transplantation de cellules, également dénommée thérapie cellulaire, consiste à greffer des cellules souches provenant du patient lui-même ou d'un donneur, dans un tissu donné afin d'y restaurer sa fonction. En premier lieu, dans le début des années 2000, la greffe de neurones DAergiques immatures issus de fœtus s'est révélée infructueuse, avec un moindre bénéfice clinique et même le développement de dyskinésie chez certains patients (Hagell *et al.*, 2002 ; Lindvall & Hagell, 2002 ; Olanow *et al.*, 2003). En outre, l'utilisation de ce type de cellules demeure difficile, notamment par leur faible accessibilité mais aussi par les questions éthiques qu'elle soulève. La recherche s'est alors tournée vers l'emploi de cellules souches, que ce soit des cellules souches embryonnaires humaines ou bien des CSPi humaines. Ces cellules peuvent se différencier homogènement en neurones fonctionnels afin de compenser la neurodégénérescence, notamment dans le cas de la MP en les reprogrammant artificiellement en neurones DAergiques. Bien que cette stratégie prometteuse ait montré ses avantages chez l'animal, cette approche est toujours en cours de mise au

point chez l'Homme, notamment en veillant à la bonne implantation des cellules et leur fonctionnalité mais aussi en prenant en compte une stratégie d'immunosuppression (Barker *et al.*, 2015 ; Osborn *et al.*, 2020 ; Takahashi, 2020)

Enfin, ces dernières années ont aussi permis l'acquisition de nouvelles connaissances concernant les mécanismes moléculaires impliqués dans la physiopathologie de la MP. Ceci a permis d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques permettant de cibler pharmacologiquement les éléments mis en cause dans la MP, notamment des thérapies visant l' α -syn (plus de détails en partie II.7.).

I.8. Modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson

Il apparaît nécessaire de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques pour, d'une part, soulager les patients atteints, et d'autre part ralentir voire interrompre la progression de la maladie. Cependant, le développement de ces thérapies passe par une meilleure compréhension de la pathogenèse de la MP, mais surtout dans la disponibilité de modèles expérimentaux permettant de tester ces nouvelles approches. Actuellement, les modèles de la MP ne reproduisent pas l'intégralité des marqueurs pathologiques. Ceci peut s'expliquer par le manque de connaissance sur l'étiologie des cas sporadiques de la MP (et donc l'impossibilité de reproduire avec exactitude cette forme la plus fréquente de la MP), mais aussi par la difficulté de développer un modèle reproduisant la maladie de façon rapide, simple et fiable. Les modèles établis représentent alors un ou des aspects de la pathologie. Il n'existe donc pas de modèle « parfait » de la MP, comme il n'en existe pour aucune autre MND (**Figure 9**).

I.8.1. Un large spectre de modèles animaux et cellulaires

I.8.1.1. Modèles animaux

Les modèles animaux sont largement utilisés dans le cadre de la recherche sur la MP. Parmi eux sont retrouvés le rongeur, le primate non-humain (PNH) ainsi que les espèces non-mammifères telles que le poisson-zèbre, le nématode *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) ou la drosophile.

Ainsi, les rongeurs, tels que la souris et le rat, apparaissent être des modèles expérimentaux de choix, notamment par leur facilité d'hébergement et la multiplicité de souches de souris transgéniques. De plus, tout comme chez l'Homme, la dégénérescence des neurones DAergiques induit aussi des déficits moteurs chez ces animaux et sont communément mesurés par différents tests comportementaux (Chia *et al.*, 2020). Il est aussi possible d'observer certains symptômes non-moteurs tels que la dépression (Can *et al.*, 2012) ou la compulsivité (Taylor *et al.*, 2010).

Quant à eux, les PNH sont d'autant plus utilisés lors d'études pré-cliniques (Grow *et al.*, 2016). Ils permettent en effet d'apporter de nombreuses informations mécanistiques aux plus proches de la maladie grâce à leur lien phylogénique étroit avec l'Homme (Phillips *et al.*, 2014). Le modèle primate

INTRODUCTION

présente ainsi des symptômes similaires à ceux des patients atteints de la MP, qui peuvent être mesurés par tests comportementaux - plus nombreux et spécifiques que ceux utilisés chez le rongeur - et par neuroimagerie (Chia *et al.*, 2020). Néanmoins, ce modèle présente des désavantages, que ce soit en termes de coûts mais aussi de questions éthiques. De plus, il n'existe pas de modèle PNH transgénique.

Enfin, les modèles non-mammifères sont aussi utilisés pour étudier les mécanismes moléculaires de la maladie, notamment grâce à leur cycle de vie court, leur faible coût, la facilité de leur manipulation génétique mais aussi puisque leur comportement et neuropathologie sont bien définis dans le cadre de la MP (Cooper & Van Raamsdonk, 2018). Ces modèles sont notamment fréquemment utilisés pour réaliser des criblages pharmacologiques à grande échelle. Ainsi, *C. elegans* présente un système nerveux simple et bien défini, avec exactement huit neurones DAergiques (White *et al.*, 1986). De façon intéressante, il exprime des orthologues des gènes humains codant pour LRRK2, PINK1, DJ-1 ou encore Parkin mais pas celui de l' α -syn (Martinez *et al.*, 2017). Toutefois, des modèles transgéniques exprimant l' α -syn humaine ont été développés et récapitulent certains aspects de la MP tel qu'une neurodégénérescence DAergique et des défauts de la locomotion (Gaeta *et al.*, 2019). A propos de la drosophile, elle représente aussi un bon modèle d'étude de la MP puisque sa voie de synthèse de la DA est similaire à celle chez l'Homme (Chia *et al.*, 2020). Elle peut aussi présenter une neurodégénérescence DAergique et des troubles moteurs après induction de la maladie par le pesticide paraquat (Shukla *et al.*, 2014). Enfin, le poisson zèbre détient une région DAergique semblable à la SNpc et peut présenter des déficits moteurs après induction neurotoxique de la MP (Vaz *et al.*, 2018).

Cependant, il est important de rappeler que les animaux ne développent pas spontanément la MP. De plus, d'un point de vue cellulaire, il a été estimé qu'un neurone DAergique humain pouvait former jusqu'à dix fois plus de synapses qu'un neurone de rat (Bolam & Pissadaki, 2012). Les besoins énergétiques d'une cellule DAergique humaine apparaissent donc bien plus importantes que celle du rongeur, montrant ainsi une des limites de l'utilisation de modèles animaux. Ainsi, il apparaît que chaque modèle animal détient son lot d'avantages et d'inconvénients dans l'étude de la MP et il se doit alors d'être choisi rigoureusement en adéquation avec la problématique analysée.

I.8.1.2. Modèles cellulaires

Les modèles cellulaires présentent l'avantage d'être plus facilement manipulable génétiquement et pharmacologiquement que les modèles animaux (Falkenburger *et al.*, 2016).

D'une part, la MP peut être modélisée au sein de lignées cellulaires. Parmi elles, les lignées SH-SY5Y, issues de neuroblastome, et PC12, issues de pléochromocytome de la médullosurrénale du rat, sont très largement utilisées. Ces cellules ont la particularité de produire et libérer des catécholamines et peuvent présenter après différenciation des propriétés semblables aux neurones, comme la formation de prolongements similaires à des neurites (Falkenburger *et al.*, 2016). En outre, la lignée immortalisée LUHMES (Lund Human Mesencephalic), issue de cellules mésencéphaliques humaines, est aussi

couramment utilisée et a l'avantage de présenter un phénotype DAergique, avec l'expression de marqueurs neuronaux, la présence de longs prolongements ainsi que des propriétés électrophysiologiques proches des neurones DAergiques (Schildknecht *et al.*, 2013 ; Scholz *et al.*, 2011).

D'autre part, il est également possible de modéliser la MP au sein de neurones primaires, obtenus par la dissection de cerveaux d'embryons (ou au stade post-natal précoce) de souris ou de rat. Il est ainsi possible d'obtenir des cultures primaires de neurones issus du mésencéphale, bien que seulement entre 5 et 10% de ces cellules soient DAergiques (Nair-Roberts, 2008). Bien qu'elle soit plus proche de la situation *in vivo*, il apparaît ainsi difficile d'avoir une culture DAergique totalement pure et avec un rendement suffisant. Toutefois, bien que les neurones DAergiques prennent une part intégrante dans la physiopathologie de la MP, il n'est pas incohérent de modéliser la MP dans d'autres types neuronaux. En effet, les neurones DAergiques ne sont pas les seuls à dégénérer dans la MP : d'autres neurones sont affectés, notamment dans les phases précoces de la maladie, comme les neurones noradrénergiques et cholinergiques du locus coeruleus (Espay *et al.*, 2014). De plus, pas tous les neurones DAergiques dégèrent dans la MP mais seuls ceux de la SNpc ; et, par exemple, ceux de la VTA ne dégèrent pas (Braak *et al.*, 2004). En outre, il est nécessaire de prendre en compte l'ensemble des symptômes associés à la MP, notamment les symptômes non-moteurs qui pourraient être en lien avec le dysfonctionnement d'autres populations neuronales que les DAergiques, notamment les neurones corticaux ou hippocampiques. Ainsi, les cultures primaires de neurones corticaux sont plus simples à obtenir, avec un meilleur rendement, et peuvent être un bon modèle afin d'étudier les processus moléculaires liés à la MP.

Enfin, la MP peut aussi être modélisée à l'aide de CSPi, grâce à l'avancée significative de l'équipe de Yamanaka en 2006 qui a découvert comment reprogrammer des fibroblastes en culture, en leur faisant exprimer un ensemble de gènes nécessaires à leur dédifférenciation et leur prolifération (Takahashi & Yamanaka, 2006). Ainsi, ces CSPi peuvent être issus de patients, permettant de décrypter le plus précisément les mécanismes moléculaires impliqués dans la MP. L'utilisation de ces CSPi a permis par exemple de clarifier au sein de neurones DAergiques reprogrammés l'impact de LRRK2^{G2019S} (Nguyen *et al.*, 2011) ou encore de la triplification de l' α -syn (Devine *et al.*, 2011).

Ainsi, les modèles cellulaires se révèlent être des outils très utiles pour étudier un mécanisme moléculaire et/ou cellulaire spécifique. Ils sont d'ailleurs souvent utilisés pour effectuer des criblages pharmacologiques et ainsi développer les futures thérapies de la MP (Peng *et al.*, 2013). Toutefois, l'un des défauts majeurs de ces modèles cellulaires réside dans le manque d'environnement physiologique du cerveau, avec notamment la perte de réseaux ou encore d'interaction avec d'autres cellules du SNC (Chia *et al.*, 2020). Bien qu'il soit possible d'effectuer des cultures mixtes et/ou des co-cultures de cellules différentes, il apparaît inévitable que les données obtenues *in vitro* doivent être reproduites et confirmées *in vivo*, chez l'animal. Aussi, un autre inconvénient réside dans le fait que la MP est une MND progressive et liée à l'âge, représentant ainsi un obstacle majeur pour les modèles cellulaires dans lesquels le vieillissement est très difficilement reproductible.

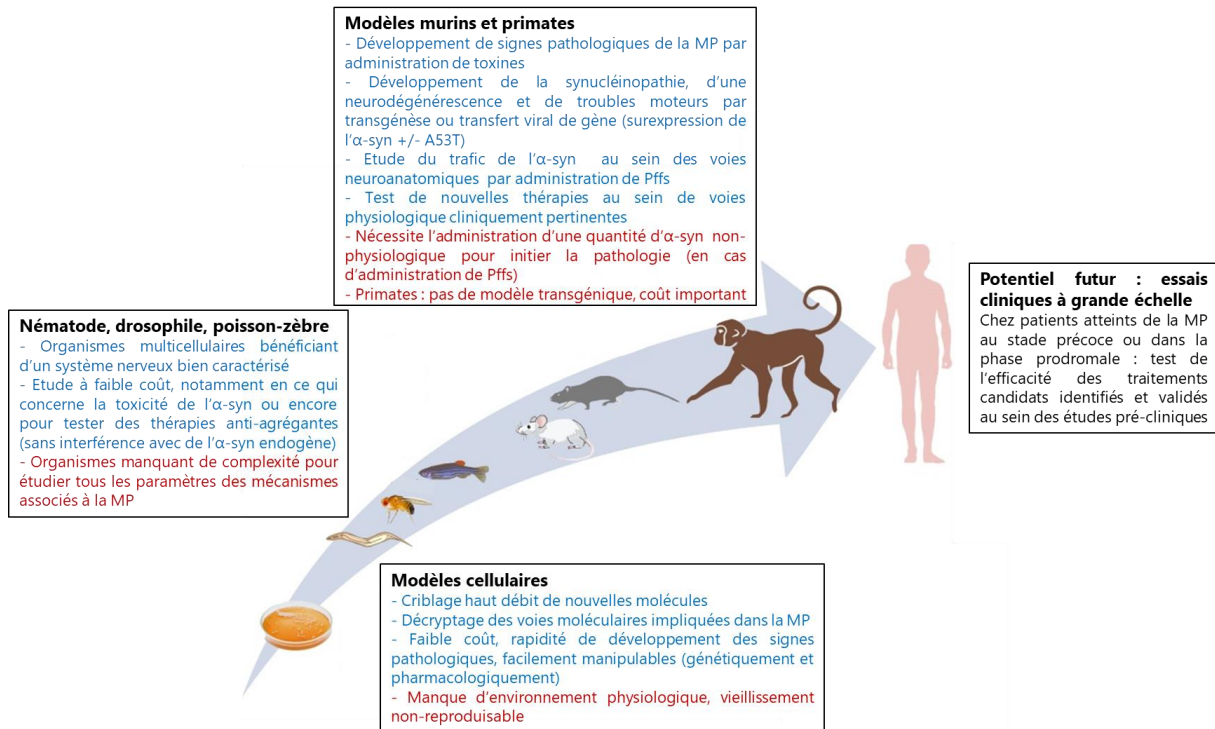


Figure 9 : Possibilités et défis associés aux modèles expérimentaux pour le développement de thérapies pour la maladie de Parkinson (Adaptée de Visanji *et al.*, 2016)

I.8.1.3. Modèle émergent : les organoïdes

Ces dernières années ont montré l'émergence de nouveaux modèles pour étudier la physiologie de la MP. Notamment, un modèle *in vitro* d'organoïdes a pu être généré, par l'utilisation de CSPi humaines (Qian *et al.*, 2018). Ces organoïdes se montrent être des modèles de choix puisqu'ils sont capables de reproduire à la fois la physiologie et l'architecture de l'*in vivo*. Ces cultures en trois dimensions ont permis la formation de réseaux de neurones, reproduisant la structure du mésencéphale. Ils sont également capables de produire de la neuromélanine, de sécréter de la DA, de former des synapses fonctionnelles et d'exhiber des profils électrophysiologiques semblables aux neurones DAergiques (Jo *et al.*, 2016). Ces organoïdes peuvent également présenter un environnement similaire à celui du cerveau âgé (Kim *et al.*, 2019 ; Kim *et al.*, 2020). De façon intéressante, il est aussi possible d'utiliser des CSPi issues de patients présentant une mutation liée à la MP, pour alors mieux décrypter leur rôle dans la physiopathologie de la MP. Ainsi, il a été montré que des organoïdes formés depuis des CSPi de patients LRRK2^{G2019S} présentaient les mêmes marqueurs pathologiques que ceux rencontrés dans les formes sporadiques de la MP et celles liées à des mutations de LRRK2 (Kim *et al.*, 2019). Plus récemment, des organoïdes issus de CSPis de patients porteurs de tripllication de SNCA a permis de récapituler les phénotypes clés liés à la synucléinopathie, notamment concernant l'accumulation progressive d' α -syn en lien avec la perte sélective des neurones DAergiques (Modamio *et al.*, 2021 ; Mohamed *et al.*, 2021). Ainsi, en présentant des caractéristiques au plus près de la physiologie chez l'Homme, ces organoïdes se révèlent être un système prometteur, à la fois dans la compréhension des

mécanismes moléculaires et cellulaires de la MP, en lien avec la progression de la maladie, mais aussi dans l'établissement de nouvelles thérapies.

I.8.2. Techniques expérimentales d'induction de la pathologie

Depuis de nombreuses années, la MP se modélise de deux façons différentes, par approche pharmacologique ou par modification génétique. Cependant, de nouveaux modèles ont émergés, notamment grâce aux meilleures connaissances des mécanismes moléculaires de la pathologie.

I.8.2.1. Modèles pharmacologiques

Depuis près d'un demi-siècle, les modèles pharmacologiques sont largement utilisés dans l'étude de la physiopathologie de la MP, notamment car ils permettent de reproduire des symptômes clés chez l'animal. Cette approche se base sur l'administration de neurotoxines et a été la première à être utilisée dans la recherche des mécanismes moléculaires de la MP, et donc de potentielles thérapies. Parmi ces neurotoxines sont retrouvées des analogues de la DA (6-OHDA, MPTP) ou encore des pesticides jouant sur le métabolisme de la mitochondrie (paraquat, roténone) (Chia *et al.*, 2020). Ces modèles permettent une neurodégénérescence rapide de la voie nigrostriée, en jouant notamment sur la mitochondrie (**Figure 10**). Toutefois, la formation de la seconde marque neuropathologique de la MP, les CLs, n'est pas observée dans ces modèles (Schober, 2004 ; Zeng *et al.*, 2018).

La 6-OHDA a ainsi été la première à être utilisée afin de mettre au point le tout premier modèle animal de la MP, permettant l'induction d'une neurodégénérescence DAergique massive et donc des troubles moteurs (Chia *et al.*, 2020). L'un des désavantages de cette molécule est qu'elle ne traverse pas la BHE, et doit donc être administrée par injection intracérébrale (Ungerstedt *et al.*, 1974). Au sein de la cellule, la 6-OHDA s'oxyde, induisant la formation d'EROs. La mitochondrie s'en retrouve ainsi impactée (inhibition du premier complexe de la chaîne respiratoire, diminution du potentiel de membrane, découplage de la phosphorylation oxydative), conduisant progressivement à la mort de la cellule. Le modèle 6-OHDA est ainsi souvent utilisé dans l'étude de molécules neuroprotectrices (Haleagrahara *et al.*, 2013 ; Jing *et al.*, 2016).

Le MPTP est sans doute la molécule la plus utilisée dans les modèles neurotoxiques de la MP. Grâce à ses propriétés lipophiles, elle peut traverser la BHE (et donc être administrée plus facilement que la 6-OHDA par exemple), et être oxydée en MPP⁺ grâce à la MAO B astrocytaire. Cette métabolisation la rend d'autant plus toxique pour les neurones DAergiques, notamment puisque le MPP⁺ dispose d'une structure très similaire à la DA et va donc être intégré à ces cellules via le DAT (Bezard *et al.*, 1999). Une fois dans la cellule, le MPP⁺ inhibe le premier complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale, réduisant la concentration intracellulaire en ATP et augmentant la production de molécules oxygénées réactives et induisant *in fine* la mort des neurones DAergiques (Sayre, 1989). Enfin, l'administration chronique de MPTP permet de récapituler un ensemble conséquent de symptômes liés à la MP,

INTRODUCTION

notamment la dégénérescence de multiples populations neuronales mais aussi la formation d'inclusions d' α -syn (Masilamoni & Smith, 2018). De ce fait, le modèle MPTP est sans doute le modèle pharmacologique le plus souvent utilisé dans l'étude de la MP, et plus particulièrement dans l'étude des dysfonctions de la mitochondrie.

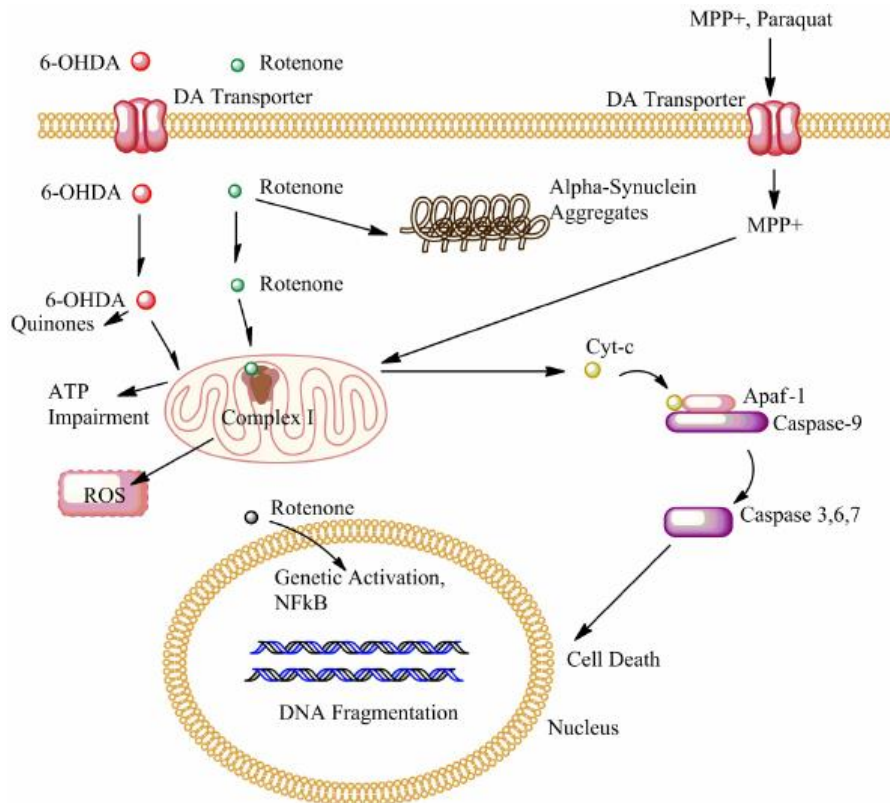


Figure 10 : Modèles expérimentaux par induction pharmacologique de la maladie de Parkinson

(Adaptée de Cabezas *et al.*, 2013)

De nombreuses molécules sont couramment utilisées au sein de modèles cellulaires et animaux de la MP, telles que les pesticides paraquat et roténone mais aussi les neurotoxines 6-OHDA et MPP⁺. Le paraquat, 6-OHDA et MPP⁺ traversent facilement la membrane cellulaire via le DAT, induisant des dommages à la mitochondrie et donc également la production d'EROs. Quant à elle, la roténone est une molécule très hydrophobe qui pénètre très facilement la membrane cellulaire pour agir notamment également sur la mitochondrie mais aussi sur l'induction de l'apoptose.

Le paraquat est un pesticide qui pourrait être un des facteurs environnementaux impliqués dans le développement de la MP (Clark *et al.*, 1966). Remarquablement, il détient une structure proche du MPP⁺, et donc par extension de la DA (Clark *et al.*, 1966). Toutefois, il n'agit pas de la même façon que le MPP⁺ : le paraquat perturbe le cycle d'oxydo-réduction du glutathion et de la thioredoxine, deux composants de la défense antioxydante qui est alors altérée (Niso-Santano *et al.*, 2010). L'effet du paraquat a été premièrement analysé sur la grenouille léopard, qui a alors présenté des troubles moteurs semblables à ceux rencontrés dans la MP : akinésie, tremblements et rigidité (Barbeau *et al.*, 1985). Il a aussi été montré que l'administration chronique de paraquat chez le rat induit une neurodégénérescence DAergique ainsi qu'une déplétion de la DA dans le ST, de façon progressive (Ossowska *et al.*, 2005). Dès lors, l'utilisation de paraquat peut être utilisée dans l'étude des premières phases de la MP.

Finalement, la roténone est un composé extrait de plante utilisée en tant que pesticide. De la même façon que le MPTP, elle est lipophile et peut traverser la BHE pour inhiber le premier complexe mitochondrial. Toutefois, contrairement au MPTP, elle n'est pas spécifique aux neurones DAergiques et peut agir sur n'importe quelle cellule (Bisbal & Sanchez, 2019). Le premier modèle d'administration de roténone a été effectué chez le rat, par injection stéréotaxique d'une très forte dose dans le télencéphale, résultant en une forte diminution de la concentration en DA dans le ST (Heikkila *et al.*, 1985). De plus, il a été montré que son administration chronique permettait d'induire la formation d'agrégats d' α -syn (Betarbet *et al.*, 2000 ; Sherer *et al.*, 2003). En outre, l'injection d'une dose modérée chez la souris permet d'éviter la mort des neurones du ST au profit de la dégénérescence de la SNpc, tout en présentant des troubles moteurs, une déplétion en DA ainsi que la présence d'inclusions dans les neurones DAergiques restants ; reproduisant au plus près les mécanismes de la MP (Inden *et al.*, 2011). Ainsi, le modèle à la roténone permet de reproduire au mieux les caractéristiques clés de la MP, et justifie alors son utilisation dans le cadre de développement de stratégies neuroprotectrices.

I.8.2.2. Modèles génétiques

La découverte de gènes impliqués dans l'étiologie de la MP a permis la mise au point de modèles génétiques de la pathologie, que cela soit par transgénèse ou bien par transduction via un vecteur viral. Ces modèles ont pour avantage de permettre l'étude de mutations de ces gènes en question, qui peuvent alors représenter des cibles thérapeutiques prometteuses. Ils peuvent aussi apporter des informations précieuses concernant les possibles interactions entre mutations génétiques mais aussi entre facteurs génétiques et environnementaux et ainsi décortiquer au mieux les mécanismes complexes de la MP. Néanmoins, tout comme pour les modèles pharmacologiques, les modèles génétiques ne permettent généralement pas l'établissement de l'ensemble des caractéristiques de la maladie, notamment la mort sélective et progressive des neurones DAergiques (Sanchez *et al.*, 2014). Ceci est alors à prendre en compte dans la mise à point d'une thérapie neuroprotectrice par exemple. Ainsi, les gènes les plus étudiés sont ceux codant pour l' α -syn, LRRK2, Parkin, DJ-1 et PINK-1 (Gasser, 2009).

Tout d'abord, le gène de l' α -syn constitue un modèle de choix dans l'étude de la MP, notamment puisqu'elle représente un des constituants inévitables des CLs. Le premier modèle de surexpression de l' α -syn mis au point en 2000 fut marqué par la formation progressive d'inclusions intraneuronales dans l'hippocampe, la SNpc et dans le néocortex qui contenaient de l' α -syn (Masliah *et al.*, 2000). Toutefois, aucune dégénérescence DAergique n'a pu être observée, n'en faisant ainsi pas un bon modèle d'étude de la MP. D'autres modèles basés sur l' α -syn ont alors été développés, mais ce n'est qu'avec un modèle double mutant A53T/A30P qu'une perte des neurites a pu être observée, associée à un déficit moteur ainsi que la présence d'agrégats intraneuronaux (Prasad *et al.*, 2011). Ainsi, l'ensemble des modèles liés à l' α -syn permettent de mieux comprendre l'impact de cette dernière dans la neurodégénérescence, bien que leur utilité dans les études de neuroprotection reste limitée.

INTRODUCTION

Des modèles basés sur les mutations de LRRK2 ont été mis au point, notamment en se basant sur ses mutations les plus fréquentes G2019S et R1441C/G (Alessi & Sammler, 2018). Néanmoins, ces modèles ne présentent pas l'ensemble des caractéristiques de la pathologie. Notamment, le modèle murin transgénique LRRK2^{R1441G} présente des troubles moteurs ainsi qu'une pathologie axonale dans le ST, sans pour autant manifester de perte DAergique ni d'agrégats d' α -syn (Li *et al.*, 2009). De plus, il a été montré que le mutant G2019S permettait d'induire la dégénérescence d'environ la moitié de la SNpc ainsi que la formation d'inclusions, contrairement à la forme sauvage de LRRK2 (LRRK2^{WT}) (Lee *et al.*, 2010). En outre, des modèles basés sur l'utilisation de vecteurs viraux ont été développés afin d'étudier l'effet de la partie carboxyterminale uniquement de LRRK2 (Cresto *et al.*, 2020 ; 2021). Enfin, l'utilisation de ces modèles a permis de mettre en lumière la fonction kinase potentiellement pathogénique de LRRK2, et ainsi développer de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur des inhibiteurs de cette fonction (plus de détails seront apportés en partie III.7.) (West, 2017).

Comme décrit précédemment, parmi les mutations autosomiques récessives, les mutations de Parkin sont celles les plus retrouvées dans le développement de formes précoces de la MP. Cependant, de nombreux modèles basés sur l'inactivation de Parkin n'ont permis de montrer qu'un faible développement de phénotype parkinsonien (Dawson & Dawson, 2010). Il a cependant été observé que des neurones primaires DAergiques délétés de Parkin présentaient une plus forte sensibilité à la roténone (Casarejos *et al.*, 2006). A l'inverse, la surexpression de Parkin chez le rongeur traité à la 6-OHDA ou au MPTP permettait de prévenir la neurodégénérescence (Bian *et al.*, 2012). Ainsi, à défaut d'être un modèle idéal dans la reproduction des phénotypes de la MP, le modèle Parkin peut être utile pour mieux comprendre le gène en lui-même, en étant une potentielle cible thérapeutique.

Des modèles transgéniques de DJ-1 ont aussi été établis. Bien que son rôle protecteur des neurones DAergiques ait pu être suggéré, son inactivation semble être uniquement associée à des déficits moteurs même en absence de neurodégénérescence DAergique (Chen *et al.*, 2005 ; Hauser *et al.*, 2015 ; Kitada *et al.*, 2009). Son utilisation pour mieux comprendre les mécanismes de la MP semble alors contrainte. Néanmoins, ce modèle reste utile dans l'étude de l'interaction entre gènes et environnement. Il a notamment été montré que des souris délétées de DJ-1 étaient plus sensibles à l'intoxication au MPTP ou la roténone et présentaient alors des troubles moteurs d'autant plus marqués, mettant en lumière le rôle neuroprotecteur de DJ-1 (Aleyasin *et al.*, 2010) .

Enfin, des modèles de PINK1 ont également été développés. Il a ainsi été montré que sa surexpression induit la croissance des neurites (Dagda *et al.*, 2014). De plus, des modèles de PINK1 mutée chez la drosophile ont présenté une dégénérescence DAergique associée à un défaut de la locomotion, en lien avec une dérégulation des fonctions mitochondriales (Park *et al.*, 2006). Cependant, l'inactivation de PINK1 chez la souris n'a pas permis d'induire de phénotype intracérébral, bien qu'induisant une plus forte sensibilité au stress oxydant (Gispert *et al.*, 2009 ; Kitada *et al.*, 2009). De même, la dégénérescence DAergique liée à l'âge n'a pu être observée que chez un modèle murin de PINK1^{G209D}, associé également

à un défaut de la locomotion (Gispert *et al.*, 2009). L'ensemble de ces données montre ainsi que l'utilisation des modèles de PINK1 reste limitée dans l'étude des mécanismes de la MP.

I.8.3.3. Modèles d'étude de la propagation de l' α -syn

La présence de corps de Lewy, contenant de l' α -syn, représente un des marqueurs physiopathologiques caractéristiques de la MP. La recherche sur l' α -syn en lien avec la MP a permis de mettre en évidence qu'elle était capable de s'agréger et se propager de cellule à cellule (plus de détails en partie II.6.1.). Il a ainsi été initié le postulat selon lequel l' α -syn extracellulaire pourrait être recapturée par des cellules et y initier le recrutement de l' α -syn endogène, formant ainsi de l' α -syn mal-conformée pathologique (Melki, 2018). Toutefois, très peu de modèles cellulaires développent d'agrégats de la protéine même par sa surexpression (Hasegawa *et al.*, 2004). Ceci peut s'expliquer par le fait que, en général, la MP est une MND à évolution lente et qui se manifeste à un âge avancé, et qui n'est donc pas modélisable dans ces cellules. C'est ainsi que des méthodes d'induction de la synucléinopathie se sont développées, à la fois dans des modèles *in vitro* et *in vivo*.

L' α -syn peut ainsi être surexprimée au sein de la levure *Escherichia coli* et ainsi être purifiée et extraite (Volpicelli-Daley *et al.*, 2014). Par un jeu d'homogénéisation et centrifugation, l' α -syn peut se replier en fibrilles riches en feuillets β , qui peuvent être soniquées afin d'obtenir des fibrilles préformées d' α -syn (Pre-formed fibrils, Pffs). Il a alors été montré que l'adjonction de Pffs au sein de cellules non-neuronales pouvaient induire une conformation incorrecte de l' α -syn endogène intracellulaire, au sein de structures similaires à des CLs (Luk *et al.*, 2009 ; Nonaka *et al.*, 2010). Ceci a aussi été montré au sein de neurones primaires (Volpicelli-Daley *et al.*, 2011), dans lesquels ces « CLs artificiels » induisent une neurodégénérescence progressive (Froula *et al.*, 2018 ; Henderson *et al.*, 2018 ; Luna *et al.*, 2018 ; Volpicelli-Daley *et al.*, 2011). De façon intéressante, ces CLs ont une composition semblable à celle des CLs retrouvés dans la MP, notamment par la présence d' α -syn phosphorylée sur la sérine 129 (S129), de la protéine réceptrice de l'autophagie p62 ou encore d'ubiquitine (Henderson *et al.*, 2017). Aussi, l' α -syn peut également être directement extraite du cerveau de patients atteints de la MP, et peut alors induire la pathologie au sein de neurones primaires (Henderson *et al.*, 2018 ; Peng *et al.*, 2018). Ces deux paradigmes expérimentaux montrent la capacité de l' α -syn pathologique à transférer sa conformation et sa potentielle toxicité à l' α -syn endogène saine. Enfin, ceci a aussi été confirmé au sein de modèles CSPi différenciés en neurones (Gribaudot *et al.*, 2019 ; Prots *et al.*, 2018)

L'utilité des Pffs a aussi été vérifié *in vivo*. Premièrement, par injection stéréotaxique de souris surexprimant l' α -syn^{A53T} humaine, les Pffs ont permis d'accélérer la formation et la propagation de la synucléinopathie (Luk *et al.*, 2012a). De même, l'injection chez des souris sauvages a induit la formation d'inclusions semblables aux CLs, qui se sont propagées au sein du cerveau selon un schéma spatiotemporel stéréotypique (Luk *et al.*, 2012b). De plus, il apparaît que ces inclusions ne sont pas éliminées par les neurones affectés et induisent *in fine* la mort de ces cellules (Osterberg *et al.*, 2015). Ainsi, l'injection de Pffs chez le rongeur a permis de récapituler plusieurs caractéristiques de la MP, de la

INTRODUCTION

mort des neurones de la SNpc à l'apparition de troubles moteurs tardifs (Koller *et al.*, 2017 ; Paumier *et al.*, 2015 ; Rey *et al.*, 2018).

L'ensemble de ces modèles *in vitro* et *in vivo* représente des outils précieux dans l'étude des mécanismes et des phénotypes de la MP, dans le but d'établir de nouvelles thérapies. Remarquablement, il apparaît que la propagation de l' α -syn chez l'animal sauvage est progressive et dépendante des régions affectées, de la même manière que ce qui est observé dans les formes sporadiques de la MP (Henderson *et al.*, 2018). Ce modèle a l'avantage de ne pas nécessiter d'intervention génétique ou pharmacologique, et peut ainsi être utilisé en vue de décrypter les facteurs de risques au développement de la MP ou encore l'efficacité d'un traitement. Toutefois, la propagation de l' α -syn dans ces modèles de synucléiopathies apparaît complexe, comme chez les patients atteints de la MP. Il est donc nécessaire de mieux caractériser les réseaux impliqués dans cette dissémination de l' α -syn pathologique.

II. Alpha-synucléine

L' α -syn fut la toute première fois identifiée chez la torpille du Pacifique (Maroteaux *et al.*, 1988). Son nom lui a ainsi été attribué en accord avec sa localisation cellulaire, à la fois au niveau des vésicules synaptiques et du noyau. L' α -syn fait ainsi partie de la famille des synucléines, comme la β -synucléine, elle aussi identifiée aux terminaisons présynaptiques (Nakajo *et al.*, 1993), et la γ -synucléine, initialement identifiée au sein de métastases de cancer du sein (Jia *et al.*, 1999). Depuis la découverte de son rôle central dans la neurodégénérescence (Polymeropoulos *et al.*, 1997), l' α -syn représente un pilier de la recherche sur la MP, notamment car elle est le composant fibrillaire majeur des CLs (Spillantini *et al.*, 1997 ; Spillantini *et al.*, 1998).

II.1. Génétique

Le gène de l' α -syn, *SNCA*, fut le premier à être identifié comme lié à la MP (Polymeropoulos *et al.*, 1997). Il se compose de six exons sur 117kb (Corti *et al.*, 2011) et présente 95% d'homologie entre l'Homme et la souris (seulement 7 AA différents les séparent).

Des mutations ponctuelles au sein du gène *SNCA* de l' α -syn ont été associées à de rares formes héréditaires dominantes de la MP. La MP peut ainsi se déclencher soit par la duplication ou triplication de *SNCA*, soit par des mutations menant ainsi à des formes autosomiques dominantes de la pathologie. A ce jour, cinq mutations ont été identifiées : A30P, A53T et E46K (les trois mutations majoritaires) ainsi que H50Q et G51D (Brucale *et al.*, 2009). Il apparaît ainsi que l'ensemble des mutations de l' α -syn identifiées comme prenant part à l'étiologie de la MP se regroupe dans le domaine aminoterminal de la protéine. Néanmoins, elles restent extrêmement rares, et la mutation A53T ne serait présente qu'au sein d'une petite vingtaine de familles sur toute la planète (Corti *et al.*, 2011). De plus, il existe des disparités dans l'impact de ces mutations sur le développement de la maladie. En effet, la mutation A30P semble liée au développement d'une forme idiopathique tardive alors que E46K est associée à un parkinsonisme précoce et sévère (Krüger *et al.*, 2001 ; Zarranz *et al.*, 2005). Enfin, les multiplications de *SNCA* représentent les variations les plus fréquentes du gène, et correspondent à 2% des formes familiales de la MP (Corti *et al.*, 2011). En outre, la sévérité de la maladie serait liée au nombre de multiplication du gène (Fuchs *et al.*, 2007).

Sa mutation la plus fréquente, A53T (α -syn^{A53T}), est une mutation faux sens autosomique qui induit une forme précoce de la MP (Polymeropoulos *et al.*, 1997). Remarquablement, les patients ayant cette mutation développent la maladie de façon hétérogène, d'une forme tardive typiquement sporadique à une forme plus précoce à progression très rapide (Corti *et al.*, 2011). Cela suggère que l'expression d' α -syn^{A53T}, ou bien sa pénétrance, peut se voir moduler par d'autres facteurs (Markopoulou *et al.*, 2008). De plus, cette mutation lui confère une structure moins ordonnée qui augmente sa capacité d'interaction avec les membranes, ainsi que sa capacité d'agrégation et donc sa toxicité (Narhi *et al.*,

INTRODUCTION

1999). Cette mutation semble avoir un rôle aussi sur le relargage de la DA, notamment par une diminution de la disponibilité en vésicules synaptiques (Lotharius & Brundin, 2002a). En termes de modèle expérimental de la MP, A53T est la mutation la plus utilisée et notamment puisqu'elle permet d'induire *in vivo* une synucléinopathie, avec une mort neuronale DAergique, l'agrégation d' α -syn ainsi qu'un phénotype moteur (Lotharius & Brundin, 2002b). De façon intéressante, la forme mutée A53T chez l'Homme apparaît être en réalité la forme sauvage chez la souris, qui n'a alors pas tendance à s'agréger (en comparaison chez l'Homme). Enfin, la mutation A53T inhibe l'exocytose des vésicules synaptiques, de la même façon que la surexpression de la forme sauvage de la protéine (Nemani *et al.*, 2010)

Finalement, il a été montré que des polymorphismes présents au sein des éléments de régulation de *SNCA* pouvaient induire une prédisposition au développement de la MP, et seraient aussi en lien avec les formes précoces de la maladie (Maraganore *et al.*, 2006). De plus, des études GWAS ont également identifié des polymorphismes au sein des régions non-codantes de *SNCA* qui représenteraient des facteurs de risque majeurs au développement de la MP (Simon-Sanchez *et al.*, 2009), et qu'un de ces polymorphismes induisait une augmentation de l'expression de l' α -syn (Soldner *et al.*, 2016).

Toutefois, malgré les évidences génétiques de l'implication de l' α -syn dans la MP, elles n'expliquent en rien si la modification de l'expression de la protéine induit la neurodégénérescence, via un défaut conformationnel induisant une nouvelle fonction « toxique », ou bien une augmentation de sa capacité à exercer sa fonction physiologique ou encore un autre mécanisme (Sulzer & Edwards, 2020).

II.2. Structure

L' α -syn est une petite protéine soluble, composée de 140 AA de 15 – 25kDa (Corti *et al.*, 2011). Cette protéine a ainsi été découpée en trois domaines distincts (**Figure 11**).

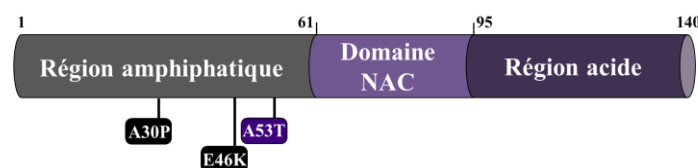


Figure 11 : Structure de l'alpha-synucléine (Adaptée de Corti *et al.*, 2011)

L' α -syn est une petite protéine de 15kDa, composée de 140 AA répartis en trois domaines distincts : une région amniotermale amphipathique (dans laquelle sont retrouvées les mutations majoritaires de *SNCA*), une région centrale hydrophobe contenant le peptide NAC, ainsi qu'une région carboxyterminale acide. Ses trois mutations majoritaires sont représentées, notamment la plus fréquente A53T.

Le premier domaine, en aminoterminal, correspond à une région amphipathique, c'est-à-dire à la fois hydrophile et hydrophobe. Ce domaine confère à l' α -syn sa capacité de liaison aux membranes phospholipidiques (Clayton & George, 1998) grâce à la séquence consensus KTKEGV, répétée entre 6 et 7 fois selon la synucléine, qui permet la formation d'une hélice α amphipathique (Clayton & George, 1998 ; Fortin *et al.*, 2004). L' α -syn développe ainsi une architecture semblable aux apolipoprotéines. Il

est également important de souligner que l' α -syn existe à la fois sous forme soluble et liée aux membranes. Sous sa forme soluble, l' α -syn apparaît déstructurée (Chandra *et al.*, 2003 ; Weinreb *et al.*, 1996). En adoptant une conformation en hélice α , son domaine aminoterminal permet à l' α -syn de se lier aux membranes lipidiques, tels que des liposomes, des gouttelettes lipidiques, des vésicules ou encore des radeaux lipidiques (Burré *et al.*, 2018). De façon intéressante, il a été décrit que l' α -syn se liait préférentiellement aux vésicules de petites tailles, d'environ 40nm, telles que les vésicules synaptiques (Davidson *et al.*, 1998 ; Kahle *et al.*, 2000). De plus, une fois liée aux membranes, l' α -syn peut s'oligomériser (Burré *et al.*, 2014). Enfin, il apparaît que l'ensemble des mutations faux-sens de l' α -syn sont présentes au sein du domaine participant à la liaison aux membranes de la protéine, bien qu'uniquement trois de ces mutations (A30P et G51D) semblent affecter cette liaison (Fares *et al.*, 2014; E. Jo *et al.*, 2002). Puis, c'est au cœur de la protéine qu'est retrouvé le peptide NAC (non-amyloid β component), région hydrophobe qui confère à l' α -syn humaine sa capacité d'agrégation, en s'assemblant en feuillets β , et à former des fibrilles (Giasson *et al.*, 2001 ; Uéda *et al.*, 1993). Enfin, la région carboxyterminale est acide et riche en glutamate, et apparaît non-structurée (Bertini *et al.*, 2007). Cette région est impliquée dans l'interaction avec d'autres protéines (Fernández *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 1999), avec des cations comme le cuivre (Paik *et al.*, 1999), le calcium (Nielsen *et al.*, 2001) ou le fer (Binolfi *et al.*, 2006) ; mais aussi dans la modulation de son interaction avec les membranes (Davidson *et al.*, 1998 ; Perrin *et al.*, 2000) ou la prévention de son agrégation (Crowther *et al.*, 1998). Enfin, le domaine carboxyterminal de l' α -syn est soumis à différentes modifications post-traductionnelles, et possède notamment de nombreux sites de phosphorylation (voir partie II.4.).

II.3. Localisation

L' α -syn est principalement retrouvée dans le cerveau, au sein des neurones du néocortex, de l'hippocampe, du thalamus, du ST ou encore du cervelet (Iwai *et al.*, 1995 ; Jakes *et al.*, 1994 ; Nakajo *et al.*, 1994). Autre que dans le SNC, l' α -syn est aussi observée en bien plus faible quantité dans le cœur, les reins, les poumons, le foie, les muscles squelettiques, les lymphocytes ou encore les érythrocytes (Burré *et al.*, 2018) (**Figure 12**). Au sein des neurones, l' α -syn est principalement retrouvée au niveau des terminaisons présynaptiques (Murphy *et al.*, 2000), dans laquelle elle apparaît extrêmement mobile (Fortin *et al.*, 2005). Cette localisation synaptique peut ainsi s'expliquer par son appétence à se lier aux vésicules synaptiques (Jensen *et al.*, 1999; Maroteaux *et al.*, 1988) et/ou à se lier à la protéine synaptique synaptobrevine-2 (Burré *et al.*, 2010 ; 2012). Remarquablement, il a été montré au sein de culture de neurones que l' α -syn était premièrement localisée au sein du soma du neurone immature jusqu'à se concentrer aux synapses avec la maturation de la cellule (Galvin *et al.*, 2001 ; Hsu *et al.*, 1998 ; Withers *et al.*, 1997). De plus, l' α -syn apparaît être une des dernières protéines présynaptiques à enrichir les terminaisons nerveuses, indiquant que cette protéine ne jouerait pas un rôle crucial dans la synaptogenèse (Withers *et al.*, 1997).

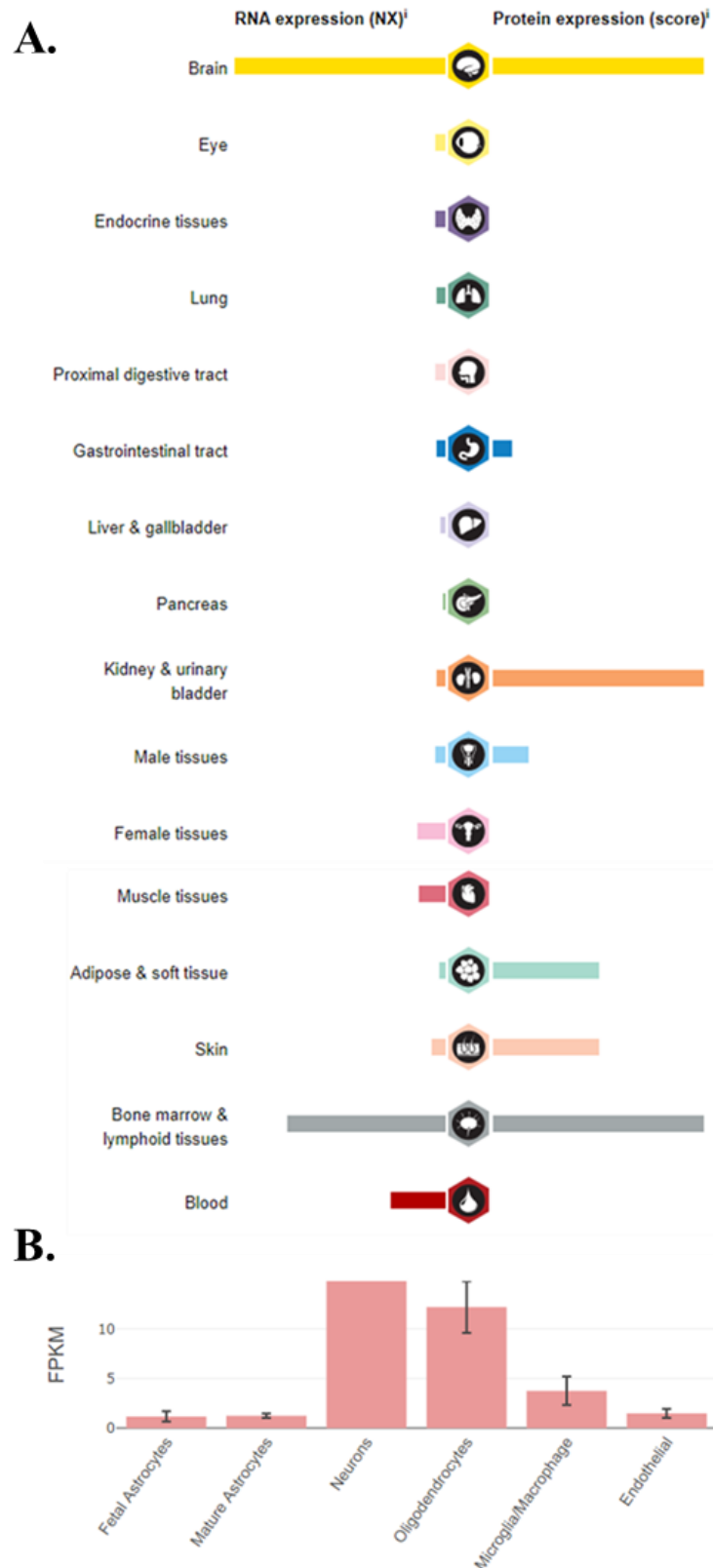


Figure 12 : Localisation de l'expression de l'alpha-synucléine chez l'Homme

A. D'un point de vue de ses transcrits, l' α -syn se retrouve majoritairement exprimée au sein du cerveau et de la moëlle épinière. D'un point de vue de ses protéines, elle est principalement retrouvée dans ces deux organes ainsi que dans les reins, la vessie, le tissu adipeux et la peau (d'après proteinatlas.org). **B.** Plus particulièrement au sein du cerveau, les transcrits de l' α -syn sont majoritairement retrouvés dans les neurones mais également dans les oligodendrocytes, et plus faiblement dans la microglie (d'après brainrnaseq.org)

Même si elle apparaît majoritairement aux terminaisons présynaptiques, l' α -syn a aussi été observée ailleurs dans les neurones, notamment à la mitochondrie (Cole *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2007 ; Nakamura *et al.*, 2008). Son rôle à la mitochondrie reste néanmoins peu clair, puisque l'invalidation de l' α -syn et, à l'inverse, sa surexpression, ont toutes deux pu être associées à des dysfonctionnements mitochondriaux (Ellis *et al.*, 2005 ; Martin *et al.*, 2006b ; Smith *et al.*, 2005 ; Stichel *et al.*, 2007). En outre, l' α -syn a aussi été localisée au noyau, lui valant une partie de son nom (Maroteaux *et al.*, 1988). Sa présence nucléaire pourrait permettre une régulation de la transcription, notamment en inhibant l'acétylation des histones (Kontopoulos *et al.*, 2006). Enfin, ils existent de nombreux partenaires de l' α -syn qui sont liés au cytosquelette. Notamment, l' α -syn liée aux membranes interagit avec la tubuline, la kinésine ou encore la dynéine (Alim *et al.*, 2002 ; Burré *et al.*, 2018). Néanmoins, il est important de rappeler que l'ensemble de ses localisations plus anecdotiques de l' α -syn a été identifié majoritairement dans des modèles de surexpression de la protéine, et donc ne reflèterait possiblement pas sa véritable présence physiologique.

Finalement, l' α -syn est aussi retrouvée dans le milieu extracellulaire. Sa détection a notamment été faite au sein du plasma sanguin et dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) (Borghini *et al.*, 2000 ; El-Agnaf *et al.*, 2003)

II.4. Régulation

II.4.1. Dégradation

Au cours du développement, l'expression de l' α -syn apparaît finement régulée. Il a ainsi été montré chez le rat que l'expression de ses transcrits s'initie au stade embryonnaire tardif, puis atteint un pic d'expression durant les premières semaines de vie pour enfin décliner progressivement même si l'expression de protéines associées reste forte chez l'adulte (Petersen *et al.*, 1999). Enfin, avec le vieillissement physiologique, le taux d' α -syn neuronale semble augmenter chez l'Homme, notamment dans la SNpc (Chu & Kordower, 2007). Bien qu'il ait été montré que l'expression de l' α -syn pouvait être augmentée par divers acteurs tels que des pesticides (Manning-Bog *et al.*, 2002), très peu de connaissances ont été acquises sur les mécanismes de régulation de son expression. Toutefois, il a été montré que l' α -syn pouvait être dégradée par divers processus, tels que le protéasome ou l'autophagie (plus de détails seront apportés en partie V.3.1.).

II.4.2. Modifications post-traductionnelles

L' α -syn peut subir de multiples régulations par modification post-traductionnelle au sein de ses 140 AA. Ces modifications ont lieu le plus souvent dans le domaine carboxyterminal, modifiant ainsi la structure de la protéine ou encore sa charge. Sa liaison aux protéines et/ou aux membranes ainsi que son hydrophobicité peuvent alors être modifiées. Parmi ces modifications sont retrouvées la

INTRODUCTION

phosphorylation, l'acétylation, l'oxydation, l'ubiquitination, la nitration ou encore la glycosylation. Seules certaines d'entre elles seront développées dans la suite de cette partie (**Figure 13**).

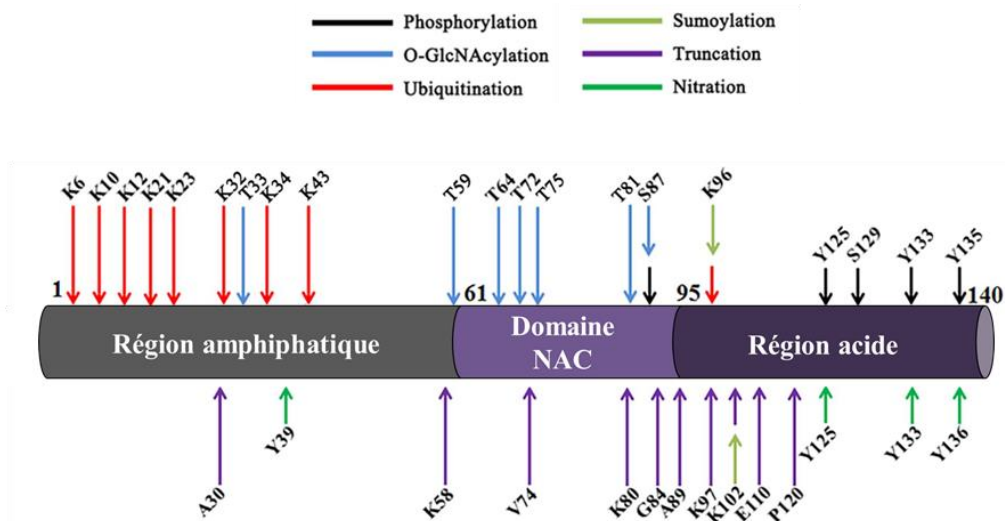


Figure 13 : Modifications post-traductionnelles majeures de l'alpha-synucléine (Adaptée de Zhang *et al.*, 2019)

II.4.2.1. Phosphorylation

Il apparaît que la phosphorylation joue un rôle majeur dans la régulation de l'alpha-syn, en modifiant sa structure, sa liaison aux membranes, son oligomérisation ou encore sa neurotoxicité (Anderson *et al.*, 2006 ; Fujiwara *et al.*, 2002). Parmi ses sites de phosphorylation, deux sérines sont les plus souvent impactées, en position 87 et 129, et permettraient pour la première d'inhiber l'agrégation de l'alpha-syn (Paleologou *et al.*, 2010 ; Waxman & Giasson, 2008) et pour l'autre de l'accentuer (Samuel *et al.*, 2016 ; Shin & Chung, 2020). De même, la phosphorylation sur les tyrosines Y125, Y133 et Y135 empêcheraient son agrégation ainsi que sa toxicité (Chen & Feany, 2005 ; Ellis *et al.*, 2001 ; Nakamura *et al.*, 2001 ; Takahashi *et al.*, 2003). En outre, la phosphorylation sur la S129 et la Y125 affectent l'interaction protéine-protéine (McFarland *et al.*, 2008).

A propos de la Ser129 phosphorylée (pS129), il a été observé une accumulation aberrante d'alpha-syn présentant cette phosphorylation au sein de sujets souffrant de la MP, de même qu'au sein de modèles animaux de synucléinopathies (Oueslati, 2016 ; Tenreiro *et al.*, 2014). Bien qu'au sein du cerveau de patients sains seule une très faible partie d'alpha-syn apparaît phosphorylée sur cette sérine (environ 4%), il a été décrit qu'environ 90% de cette alpha-syn présente de la pS129, notamment au sein des inclusions de Lewy, chez les patients atteints de la MP (Anderson *et al.*, 2006 ; Fujiwara *et al.*, 2002 ; Hasegawa *et al.*, 2004). De plus, cette phosphorylation est aussi observée (bien qu'en faible quantité) avant même l'apparition de CLs (Saito *et al.*, 2003), indiquant que cette pS129 est fortement associée à la progression de la neurodégénérescence et apparaît donc être un marqueur physiopathologique de la MP. Concernant les kinases impliquées dans la pS129, ont été identifiées la caséine kinase I et II (Okochi *et al.*, 2000 ; Waxman & Giasson, 2008), les polo-kinases PLK1-3 (Inglis *et al.*, 2009 ; Mbefo *et al.*, 2010 ;

Waxman & Giasson, 2008) ou encore certaines kinases liées aux récepteurs couplés aux protéines G (Hara *et al.*, 2013 ; Pronin *et al.*, 2000). Des études ont également montré que LRRK2 pouvait phosphoryler l' α -syn sur la S129, bien que cela reste controversé (Herzig *et al.*, 2012 ; Lin *et al.*, 2009 ; Qing *et al.*, 2009). De plus, ces kinases verraient leur activité accroître par le stress et la déphosphorylation de l' α -syn fibrillaire serait compromise par un problème d'accès des phosphatases (Waxman & Giasson, 2008). Ainsi, de nouvelles stratégies thérapeutiques pourraient se baser sur la modulation de cette phosphorylation afin de ralentir la progression de la MP, bien que des études ont également montré que l' α -syn restait toxique même lorsque sa S129 était mutée en alanine non-phosphorylable (Azeredo da Silveira *et al.*, 2009 ; Gorbatyuk *et al.*, 2008 ; Khodr *et al.*, 2012). Par ailleurs, il reste assez peu compris si la pS129 permet un gain de toxicité à l' α -syn, des études ayant notamment montré des effets inverses d'une hyperphosphorylation induite de l' α -syn sur la S129 (Buck *et al.*, 2015 ; Oueslati *et al.*, 2013 ; Sato *et al.*, 2011). Ainsi, le rôle de la pS129 reste toujours incompris aujourd'hui et pourrait être lié – entre autres – à l'interaction de l' α -syn avec les membranes (Visanji *et al.*, 2011), la formation d'inclusions pathologiques (Smith *et al.*, 2005 ; Waxman & Giasson, 2008) ou encore la localisation subcellulaire de l' α -syn (Schell *et al.*, 2009 ; Sugeno *et al.*, 2008). Néanmoins, l' α -syn peut être retrouvée agrégée sans présenter de pS129, et vice versa (Chau *et al.*, 2009 ; Chen & Feany, 2005). Toutefois, d'autres études discordantes tendent à montrer que la pS129 serait protectrice au sein de la pathogenèse de la MP, notamment en jouant sur le trafic intracellulaire (Sancenon *et al.*, 2012), la phosphorylation de la TH et ainsi la synthèse de DA (Wu *et al.*, 2011), la flexibilité de la conformation de l' α -syn (Paleologou *et al.*, 2010), la capacité de l' α -syn à se lier aux membranes ainsi que la charge électrique négative apportée par la pS129 (Kawahara *et al.*, 2012).

II.4.2.2. Troncation par protéolyse

L' α -syn peut être retrouvée clivée au niveau carboxyterminal comme en aminoterminal. Cette observation a été réalisée à la fois dans des cerveaux d'individus sains et de patients atteints de la MP (Baba *et al.*, 1998 ; Lewis *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2005). Au cœur des CLs, l' α -syn apparaît majoritairement non-tronquée, bien que des fragments carboxyterminaux y ont aussi été observés (Baba *et al.*, 1998 ; Campbell *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2005 ; Spillantini *et al.*, 1998). De plus, il a été décrit que ces versions tronquées de l' α -syn augmentaient sa capacité d'agrégation (Li *et al.*, 2005 ; Murray *et al.*, 2003 ; Rochet *et al.*, 2000). Cependant, les protéases impliquées dans ces clivages restent mal-connues. L'incidence de la calpaïne a été suggérée, notamment par sa colocalisation observée au sein des CLs (Dufty *et al.*, 2007).

II.4.2.3. Ubiquitination

L' α -syn peut aussi subir des ubiquitinations, bien que le rôle de cette modification post-traductionnelle soit relativement mal-comprise. En effet, il a été montré que l' α -syn colocalise avec l'ubiquitine au sein des CLs et des NLS (Gómez-Tortosa *et al.*, 2000; Mezey *et al.*, 1998). Il a ainsi été décrit sept sites d'ubiquitination de la protéine, dont les lysines K21 et K23 sont les plus fréquentes (Nonaka *et al.*, 2005). De plus, quatre ubiquitine ligases ont ainsi pu être identifiées comme participant

à l'ubiquitination de l' α -syn, dont Parkin et UCH-L1 dont les gènes sont liés aux formes héréditaires de la MP (Leroy *et al.*, 1998 ; Shimura *et al.*, 2001).

II.4.2.4. Glycation

La colocalisation entre l' α -syn et des produits terminaux issus de la glycation a pu être identifiée au sein de cerveaux de patients atteints de la MP (Münch *et al.*, 2000). Il a alors été proposé que la glycation de l' α -syn serait une des caractéristiques des CLs (Münch *et al.*, 2000 ; Shaikh & Nicholson, 2008). En outre, il a été montré que la glycation de l' α -syn pouvait accélérer l'agrégation de l' α -syn *in vitro*, et donc la cytotoxicité (Chen *et al.*, 2010 ; Münch *et al.*, 2000).

II.4.2.5. Nitration et oxydation

L'oxydation et la nitration ont été directement liées à la pathogenèse de la MP. Il est toutefois encore mal-compris si ces deux modifications participent à l'agrégation de l' α -syn, ou si l' α -syn se retrouve oxydée et/ou nitrée après s'être agrégée. Il existe ainsi quatre tyrosines identifiées comme site de nitration – Y39, Y125, Y133 et Y136 (Danielson *et al.*, 2009 ; Takahashi *et al.*, 2002) – qui favoriseraient l'oligomérisation de la protéine et ainsi former des agrégats (Giasson *et al.*, 2001 ; Paxinou *et al.*, 2001). Toutefois, il a aussi été montré que la nitration semblerait inhiber la formation de fibrilles d' α -syn (Hodara *et al.*, 2004 ; Yamin *et al.*, 2003), suggérant un rôle potentiellement protecteur. Enfin, la nitration semble aussi inhiber la liaison de l' α -syn aux vésicules (Hodara *et al.*, 2004).

II.5. Fonction et rôle physiologiques

Comme bon nombre d'autres protéines liées au MNDs, le rôle physiologique de l' α -syn est aujourd'hui encore mal compris. Bien que sa présence soit abondante dans l'organisme et plus particulièrement dans le SNC, il a été montré que l'inactivation de son gène chez la souris n'avait aucun effet sur la survie, le neurodéveloppement ou encore la fertilité (Abeliovich *et al.*, 2000). Néanmoins, ces souris présentent une dérégulation de la neurotransmission DAergique dans le ST, indiquant un probable rôle de l' α -syn dans la libération de la DA (Abeliovich *et al.*, 2000) une diminution du nombre de neurones DAergiques durant le développement embryonnaire (Garcia-Reitboeck *et al.*, 2013) ainsi qu'une déplétion de vésicules synaptiques, et donc une atteinte de la neurotransmission (Cabin *et al.*, 2002). A l'inverse, sa surexpression a été liée à une diminution de la libération de neurotransmetteurs en inhibant l'élimination des vésicules synaptiques (Nemani *et al.*, 2010). Au final, bon nombre d'études ont indiqué un effet toxique de la délétion de l' α -syn (Benskey *et al.*, 2018 ; Cali *et al.*, 2012 ; Gorbatyuk *et al.*, 2008 ; Tarasova *et al.*, 2018).

D'une part, grâce à sa localisation présynaptique, ses nombreux partenaires présynaptiques ainsi que son interaction avec les vésicules, le rôle de l' α -syn dans la libération des neurotransmetteurs et la plasticité synaptique apparaît inévitable (**Figure 14**). Ainsi, il a été montré que l' α -syn prenait part à la

plasticité synaptique induite par l'apprentissage du chant durant le développement juvénile du diamant mandarin (George *et al.*, 1995). En outre, l' α -syn semble jouer un rôle dans la mobilité des vésicules synaptiques mais aussi dans la régulation de leur nombre au bouton synaptique, par modulation du complexe SNARE (Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor) (Diao *et al.*, 2013 ; Scott & Roy, 2012). Néanmoins, l'effet de l' α -syn sur la neurotransmission reste mal-compris et apparaît contradictoire. Ceci peut s'expliquer par une divergence de modèles expérimentaux ou de régions cérébrales étudiées. En effet, l' α -syn (ou un orthologue) n'est par exemple retrouvée ni chez la drosophile ni chez *C. elegans*, pourtant ces organismes bénéficient d'un système de neurotransmission fonctionnel. Par ailleurs, l' α -syn jouerait un rôle spécifique au sein des neurones DAergiques, notamment dans la synthèse de la DA. En effet, elle pourrait inhiber à la fois l'expression et le fonctionnement de la TH, responsable de la biosynthèse de la DA, ainsi que du DAT, responsable de sa recapture à la fente synaptique (Kirik *et al.*, 2002 ; Masliah *et al.*, 2000 ; Sidhu *et al.*, 2004 ; Yu *et al.*, 2004), en jouant sur la phosphorylation de cette enzyme (Perez *et al.*, 2002 ; Wu *et al.*, 2011). De plus, comme décrit précédemment, l'expression de l' α -syn augmente avec l'âge dans la SNpc, en corrélation inverse avec celle de la TH (Chu & Kordower, 2007). Enfin, il a également été montré que la surexpression de l' α -syn inhibe l'activité d'un transporteur vésiculaire des monoamines, VMAT2 (Vesicular monoamine transporter 2), augmentant le niveau de DA cytosolique et perturbant ainsi son homéostasie (Guo *et al.*, 2008).

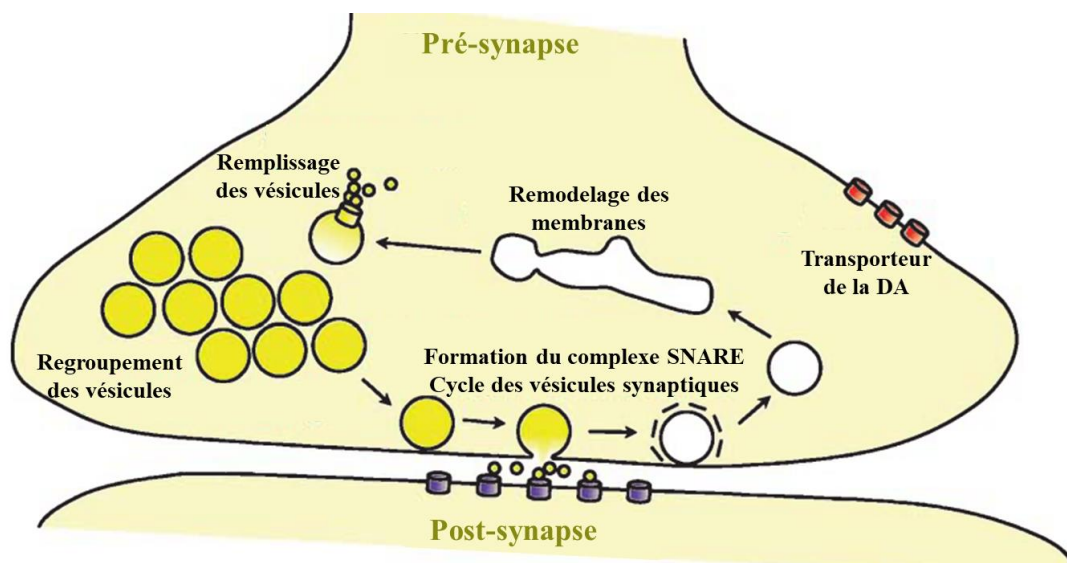


Figure 14 : Rôle de l'alpha-synucléine à la synapse (Adaptée de Burré, 2015)

Il a été reporté de nombreux rôles de l' α -syn à la synapse, notamment dans le remodelage des membranes, la modulation des transporteurs de la DA, du regroupement des vésicules de neurotransmetteurs, le maintien du pool de ces vésicules ou encore la formation du complexe SNARE nécessaire à la libération de neurotransmetteurs.

D'autre part, grâce à son domaine d'interaction aux membranes lipidiques mais aussi par la structure similaire aux apolipoprotéines qu'elle peut adopter, l' α -syn a naturellement une propension à jouer un rôle dans le transport des lipides. L' α -syn peut se lier aux acides gras (Sharon *et al.*, 2001) et pourrait ainsi participer à leur transport, bien que ceci reste débattu (Lücke *et al.*, 2006). De plus, il a été montré que l' α -syn pouvait inhiber les phospholipases, impliquées dans l'hydrolyse de la

INTRODUCTION

phosphatidylcholine (Ahn *et al.*, 2002 ; Gorbatyuk *et al.*, 2010 ; Jenco *et al.*, 1998), et pourrait ainsi jouer sur un rôle dans le remodelage des membranes lipidiques.

Finalement, l' α -syn peut trouver son rôle dans son interaction avec de nombreuses protéines. En effet, l' α -syn détient une structure similaire aux chaperonnes, notamment celles de la famille 14-3-3 (Ostrerova *et al.*, 1999). Parmi l'ensemble de ses interacteurs, on trouve la phospholipase D, impliquée dans la régulation du cytosquelette ou encore le trafic vésiculaire et membranaire, induisant l'inhibition de cette kinase (Ahn *et al.*, 2002 ; Payton *et al.*, 2004). De plus, son interaction a aussi été décrite avec Rab3, impliqué dans le transport des vésicules synaptiques (Chen *et al.*, 2013), la synaptobrevine-2 (Burré *et al.*, 2010), la tubuline (Lee *et al.*, 2006), ou encore avec DJ-1 (Visanji *et al.*, 2011). Néanmoins, la signification physiologique de ces interactions reste peu claire.

II.6. Implication dans la maladie de Parkinson

L'inactivation de *SNCA* chez la souris n'induit pas une dégénérescence proche de la MP (Gretchen-Harrison *et al.*, 2010), L'absence d' α -syn joue un rôle protecteur envers la neurotoxicité induite par le MPTP (Dauer *et al.*, 2002). Elle réduit la propagation de l'agrégation induite par les Pff. Dans le cas des mutations rares du gène *SNCA*, l' α -syn mutée ne conduirait pas à une perte mais principalement à un gain de fonction toxique dans la MP. Les duplications ou triplications du gène produisent un excès de synucléine et conduisent à la MP (Fuchs *et al.*, 2007). L'implication de l' α -syn dans les formes sporadiques de la MP serait associée une augmentation de son expression, liée notamment à un défaut de sa dégradation (Cuervo, 2004). D'autres hypothèses contribueraient également à la pathogenèse telle que la formation d'épitopes pathogéniques (Sulzer *et al.*, 2017) et/ou la production de forme mal-conformée de la protéine liées à des dérégulations de la protéostase (Melki, 2018).

En termes de pathologie, l' α -syn n'est pas uniquement liée à la MP. En effet, les pathologies liées à l' α -syn sont regroupées sous le terme de synucléinopathies. Il est ainsi retrouvé l'atrophie multisystémique, dont la progression apparaît beaucoup plus rapide que la MP notamment par la différence conformationnelle adoptée par l' α -syn pathologique (Prusiner *et al.*, 2015 ; Woerman *et al.*, 2019 ; Yamasaki *et al.*, 2019). De plus, dans cette pathologie, les inclusions d' α -syn se retrouvent majoritairement dans les cellules gliales, et plus particulièrement les oligodendrocytes et les cellules de Schwann (Wakabayashi *et al.*, 1998). Quant à elle, la démence à CLs fait aussi partie des synucléinopathies se caractérise par la formation de dépôts d' α -syn, tels ceux retrouvés dans la MP (Bendor *et al.*, 2013). Dans ces maladies, l' α -syn s'accumule, suggérant - entre autres - qu'elle a acquis une conformation anormale, toxique et possiblement liée à un défaut de repliement (Jucker & Walker, 2018). Bien que de multiples défaillances seraient en cause dans l'étiologie de la MP, l'un des plus contributeurs à la progression de la maladie réside dans l'accumulation d' α -syn jusqu'à former des agrégats (Bengoia-Vergniory *et al.*, 2017). Ainsi, l'une des stratégies développées actuellement afin de prévenir la progression de la MP cible la formation ainsi que la libération extracellulaire et la propagation de cette α -syn mal-conformée (plus de détails en partie II.7.). Enfin, l'ensemble des connaissances acquises sur

l'agrégation et la propagation de l' α -syn ont permis le développement de nouveaux modèles expérimentaux de la MP (plus de détails en partie I.8.3.3.).

II.6.1. Agrégation et nucléation de l'alpha-synucléine

En temps normal, comme décrit précédemment, l' α -syn est retrouvée le plus majoritairement sous sa forme monomérique soluble ou liée aux membranes avec une conformation di ou trimérique en hélice α . Elle peut cependant adopter des formes polymériques, insolubles, jusqu'à former des agrégats en structures variées de fibrilles (Cremades *et al.*, 2017) (**Figure 15**). De façon intéressante, il a été montré que des neurones issus de souris dont l' α -syn a été invalidée ne présentaient pas d'inclusions intracellulaires d' α -syn après exposition aux fibrilles, et ne présentaient pas non plus de dysfonctions synaptiques : il apparaît donc nécessaire de corrompre l' α -syn endogène pour former des agrégats et ainsi induire un dysfonctionnement neuronal (Masuda-Suzukake *et al.*, 2013 ; Paumier *et al.*, 2015 ; Rey *et al.*, 2018 ; Shimozawa *et al.*, 2017). C'est ainsi que s'est basé le postulat de nucléation de l' α -syn. L' α -syn agrégée en feuillet β représente ainsi un des composants majeurs des CL (Conway *et al.*, 1998 ; Greenbaum *et al.*, 2005 ; Narhi *et al.*, 1999 ; Spillantini *et al.*, 1997 ; 1998). Toutefois, des études récentes montrent que l' α -syn ne représenterait qu'une faible proportion de la composition de ces inclusions, au profit de structures membranaires, organites anormaux, vésicules... (Shahmoradian *et al.*, 2019)

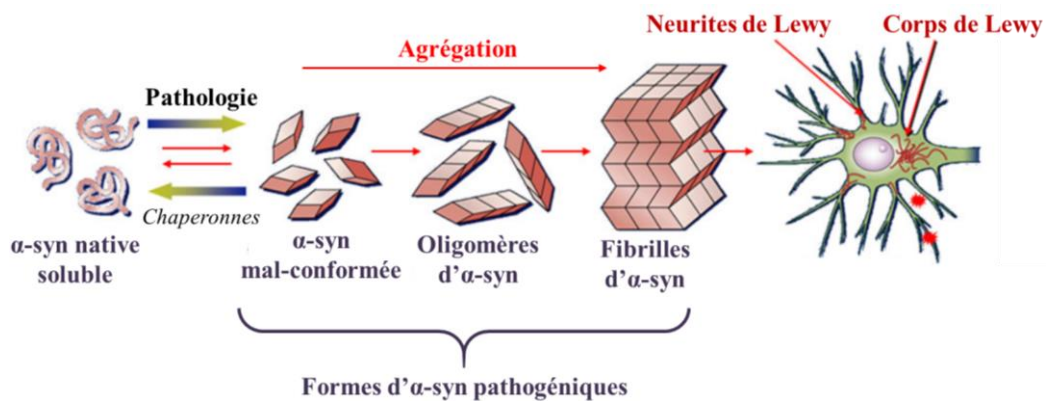


Figure 15 : Modèle d'agrégation de l'alpha-synucléine (Adaptée de Irwin *et al.*, 2013).

En condition physiologique, l' α -syn est retrouvée soluble et avec une structure en hélices aléatoires. Toutefois, en condition pathologique et notamment dans le cas de la MP, l' α -syn s'agrège en passant par différentes étapes de repliements aberrants potentiellement pathogéniques pour ainsi s'accumuler *in fine* au sein des CLs et NLs

Ainsi, comment l' α -syn endogène peut-elle être convertie en une forme pathologique fibrillaire chez l'Homme ? D'une part, il a été montré *in vitro* que l'augmentation de la concentration en α -syn favorisait la fibrillation de la protéine (Conway *et al.*, 1998). D'autre part, il a été montré que plusieurs gènes liés à la MP étaient impliqués dans les machineries de dégradation cellulaire, telles que l'autophagie, et pourraient ainsi favoriser l'expression de l' α -syn (Hijaz & Volpicelli-Daley, 2020). Aussi, il a été montré que des modifications post-traductionnelles de l' α -syn favoriseraient son agrégation (plus de détails sont apportés en partie II.4.2.), tout comme certaines de ses mutations telles que A30P et A53T (Parihar *et al.*, 2009). En outre, la propension de l' α -syn à s'agréger peut s'expliquer par une

INTRODUCTION

perturbation de sa faculté à s'associer aux membranes (Burré *et al.*, 2015 ; Galvagnion, 2017). Avant tout, il est important de rappeler que l' α -syn est capable de s'agrégier par son domaine central hydrophobe NAC. Lorsque l' α -syn est associée aux membranes, le domaine NAC peut basculer et être soit face à la membrane soit face au cytosol (Fusco *et al.*, 2014). Dans ce deuxième cas de figure, ce domaine peut recruter d'autres monomères d' α -syn et initier la formation d'agrégats, et *in fine* se dissocier de la membrane (Lv *et al.*, 2019). De plus, il a été montré que des mutations de l' α -syn (A30P et G51D) favorisait l'exposition du domaine NAC au cytosol (Ysselstein *et al.*, 2015). En outre, il s'avère que la composition lipidique des membranes auxquelles l' α -syn s'associe joue aussi un rôle dans l'agrégation de cette dernière (Fanning *et al.*, 2019 ; Galvagnion, 2017 ; Lv *et al.*, 2019).

Néanmoins, il reste à l'heure actuelle peu claire quelle forme d' α -syn reste la plus toxique. Il a notamment été décrit qu'à la fois les oligomères d' α -syn mais aussi ses fibrilles induisent une toxicité (Bousset *et al.*, 2013 ; Chen *et al.*, 2015 ; Neumann *et al.*, 2004 ; Outeiro *et al.*, 2008). en perturbant l'homéostasie des structures membranaires (Plotegher *et al.*, 2017 ; van Rooijen *et al.*, 2009) ou en inhibant la fusion des vésicules aux membranes (Choi *et al.*, 2014 ; Lai *et al.*, 2015). De plus, ces oligomères contiendraient peu de conformations amyloïdogènes, ne semblent pas capables de nucléation et leur injection dans le ST de souris sauvages induit une faible neurodégénérescence DAergique de la SNpc (Froula *et al.*, 2018). A l'inverse, les fibrilles d' α -syn détiennent une conformation amyloïdogène, sont douées de nucléation et leur injection dans le ST de souris induit une neurodégénérescence DAergique de la SNpc, associée à la formation d'inclusions et à des troubles moteurs (Froula *et al.*, 2018). De plus, ces fibres peuvent adopter elles-mêmes différentes conformations, des fibres « plates » ou en forme de ruban, qui induisent des phénotypes différents (Bousset *et al.*, 2013 ; Melki, 2015 ; Peelaerts *et al.*, 2015). Il a ainsi été montré, par injection chez la souris, que les fibres plates conduisent à une forte perte des neurones DAergiques ainsi qu'à des troubles moteurs, alors que celles en rubans induisent la formation d'inclusions d' α -syn notamment au sein des oligodendrocytes, caractéristique de l'atrophie multisystémique (Peelaerts *et al.*, 2015). Enfin, le rôle pathogénique des inclusions d' α -syn reste toujours à l'heure actuelle débattu et les fibrilles d' α -syn pourraient favoriser la séquestration des formes oligomériques toxiques de la protéine (Chen & Feany, 2005). Deux hypothèses se défendent alors, l'une évoquant que les assemblages d' α -syn (oligomères, agrégats, CLs) induisent un gain de fonction à la protéine et déclenchent des mécanismes toxiques, alors que l'autre est favorable à la perte de fonction toxique de l' α -syn une fois séquestrée au sein de structures agrégées.

II.6.2. Propagation de l'alpha-synucléine

La propagation de l' α -syn fut la première fois mise en évidence par des études post-mortem de sujets souffrant de la MP ayant bénéficié de greffes de tissus cérébraux fœtaux. Plus d'une dizaine d'années après la transplantation, les cellules greffées ont présenté des CLs contenant de l' α -syn (Kordower *et al.*, 2008 ; Kurowska *et al.*, 2011 ; Li *et al.*, 2008b). De par leur jeune âge, il n'est pas possible que ces neurones implantés aient spontanément développé des CLs, mais ils ont pu les développer par interaction avec des cellules affectées par la MP. De plus, les CLs apparaissent être une structure

enchevêtrée et de taille trop importante pour qu'ils puissent relarguer eux-mêmes des agrégats. Cette induction peut être directe ou indirecte, par recapture d' α -syn mal-conformée et/ou multimérique et/ou fibrillaire (Kurowska *et al.*, 2011 ; Tsuboi *et al.*, 2007). L'ensemble de ces données a permis d'établir le principe selon lequel l' α -syn extracellulaire pourrait être recaptée par des cellules dans lesquelles elle y initierait le recrutement de l' α -syn endogène, formant ainsi de l' α -syn mal-conformée pathologique. Ceci a notamment pu être confirmé en injectant en périphérie des fibrilles d' α -syn, conduisant à la propagation d' α -syn agrégée au sein de réseaux neuronaux jusqu'au développement de phénotypes parkinsoniens (Ayers *et al.*, 2017 ; Kim *et al.*, 2019 ; Lohmann *et al.*, 2019 ; Peelaerts *et al.*, 2015).

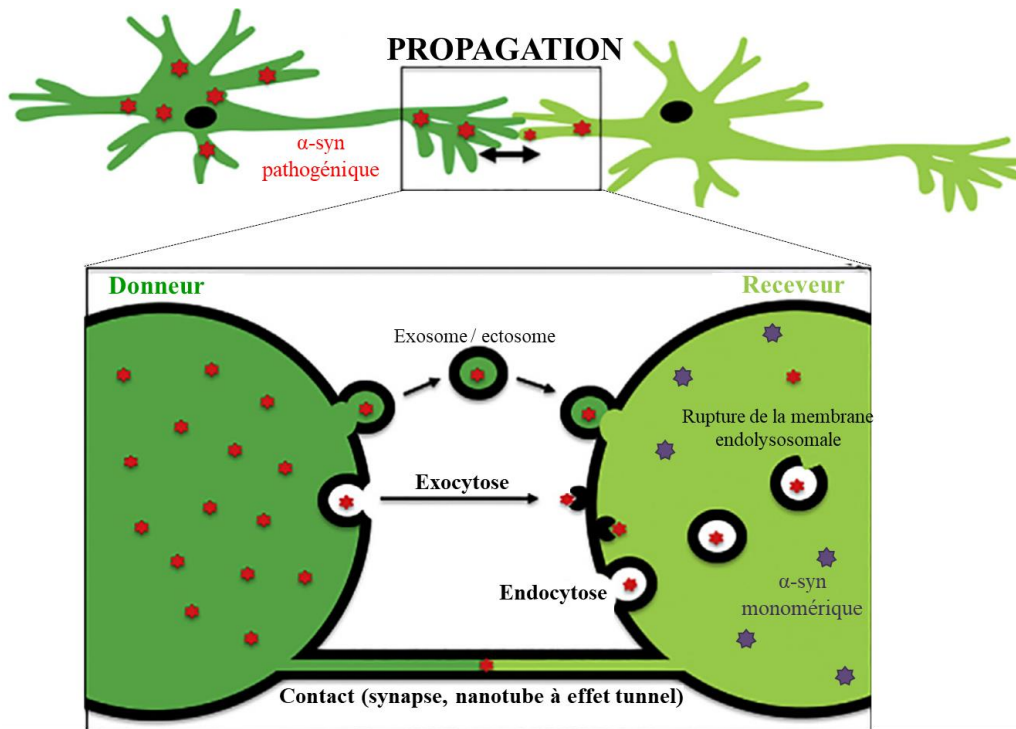


Figure 16 : Modèle de propagation de l'alpha-synucléine (Adaptée de Melki, 2018).

L' α -syn pathogénique provenant d'une cellule donneuse peut être recapturée par une cellule receveuse « naïve », entourée d'une particule membranaire (exosome, ectosome) ou bien dénuée de toute structure. La propagation peut ainsi s'effectuer via différentes voies, comme l'exocytose, l'endocytose ou encore par contact cellulaire.

Ce transfert de cellule à cellule s'effectue que l' α -syn soit sous sa forme native ou mutante (Desplats *et al.*, 2009 ; Luk *et al.*, 2012), et peut se réaliser de différentes façons (Figure 16). Tout d'abord, il a été montré que les espèces toxiques de l' α -syn s'accumulent au sein des lysosomes des neurones (Xie *et al.*, 2021). La libération par la cellule-hôte se produit alors au sein d'exosomes ou de vésicules (Danzer *et al.*, 2012 ; Emmanouilidou *et al.*, 2010 ; Ngolab *et al.*, 2017 ; Stuendl *et al.*, 2016). Cette exocytose apparaît liée au calcium, et nécessiterait donc une activité neuronale (Lee *et al.*, 2005). En outre, les fibrilles d' α -syn peuvent se fixer à la surface des cellules, notamment par interaction avec des protéoglycanes de sulfate d'héparane (Holmes *et al.*, 2013) ou la pompe sodium/potassium (Shrivastava *et al.*, 2015), et vont s'y internaliser (Karpowicz *et al.*, 2017). Le transfert vers une cellule-receveuse se produit alors par endocytose, par l'intermédiaire d'un récepteur transmembranaire (Sung *et al.*, 2001) ou encore par dissémination au sein de la synapse grâce à une translocation membranaire (Ahn *et al.*,

INTRODUCTION

2006). De plus, le transfert cellule à cellule peut se faire par l'intermédiaire d'un nanotube à effet tunnel (Abounit *et al.*, 2016 ; Rostami *et al.*, 2017). L' α -syn pathologique ainsi transmise peut continuer sa propagation et son agrégation avec de l' α -syn endogène. En outre, cette propagation peut se produire entre neurones, entre neurones et cellules gliales mais aussi entre cellules gliales (Lee *et al.*, 2010 ; Loria *et al.*, 2017 ; Rostami *et al.*, 2017 ; Terada *et al.*, 2003). Par ailleurs, il a été montré la présence d'inclusions d' α -syn dans les astrocytes, à tous les stades de la MP (Braak *et al.*, 2007 ; Terada *et al.*, 2003 ; Tu *et al.*, 1998), notamment puisque ces cellules peuvent internaliser et accumuler l' α -syn fibrillaire (Rostami *et al.*, 2017 ; 2020). L' α -syn peut aussi bien se propager sous de multiples formes, de sa forme native soluble monomérique à sa forme fibrillaire et ainsi favoriser la formation d'inclusions (Volpicelli-Daley *et al.*, 2011). Enfin, ces espèces toxiques de l' α -syn se transmettent de cellules à cellules, impactant ainsi progressivement les différentes structures cérébrales (El-Agnaf *et al.*, 2003 ; Luk *et al.*, 2009 ; Volpicelli-Daley *et al.*, 2011), à l'image de la dégénérescence progressive associée à la MP.

II.7. Stratégies thérapeutiques

Grâce aux connaissances acquises sur l'importance de l' α -syn dans le développement de la MP, notamment concernant la propagation extracellulaire de formes mal-conformées de la protéine, il a ainsi été développé de nouvelles stratégies thérapeutiques ayant pour but le ralentissement voire l'arrêt de la neurodégénérescence, basées sur le ciblage de différentes voies afin de moduler la toxicité de l' α -syn (Figure 17). Ceci représente un espoir pour de nombreux patients atteints de synucléinopathie, notamment ceux concernés par la démence à CLs dont les traitements liés à la DA ne sont pas efficaces. De plus, ces thérapies apparaissent d'autant plus prometteuses puisque les inclusions d' α -syn se formeraient avant même l'apparition de symptômes moteurs (Chu *et al.*, 2018).

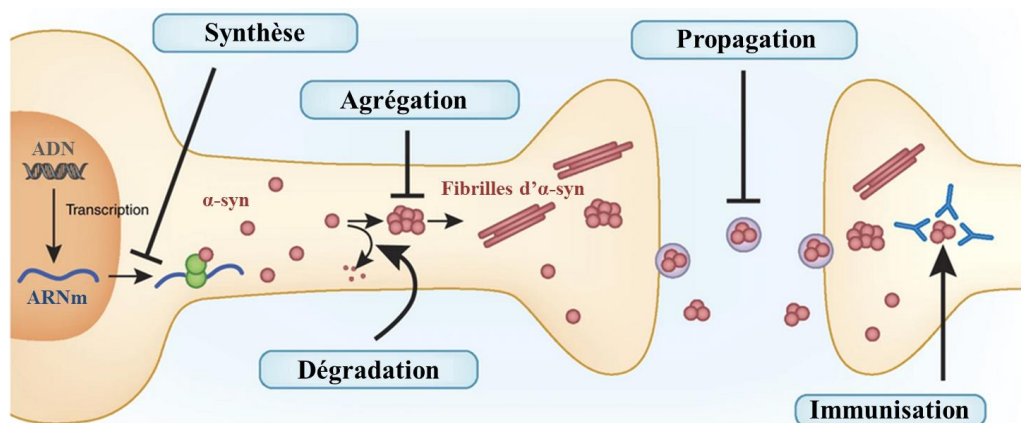


Figure 17 : Ciblage thérapeutique de la toxicité de l'alpha-synucléine (Adaptée de Wong & Krainc, 2017)

Une approche thérapeutique majeure visant la réduction (voire le blocage) de la transmission de l' α -syn se base sur l'immunothérapie, qui bénéficie de profils pharmacocinétique, de tolérance et de sécurité favorables. D'une part, une première approche par immunothérapie passive repose sur

l'administration d'anticorps de synthèse reconnaissant l' α -syn et induisant ainsi son élimination par le système immunitaire (Brys *et al.*, 2019 ; Jankovic *et al.*, 2018 ; Schenk *et al.*, 2017). Un traitement par perfusion d'anticorps monoclonaux ciblant les dépôts d' α -syn (Prasinezumab ou PRX002) a montré son efficacité en terme de diminution du taux sérique d' α -syn (Jankovic *et al.*, 2018 ; Schenk *et al.*, 2017) et est notamment entré en phase II d'étude clinique en mai 2018. Il a aussi été développé un anticorps (BIB054) ciblant spécifiquement l' α -syn sous sa forme agrégée et qui a permis chez la souris de réduire la propagation de l' α -syn ainsi que les défaillances motrices induites par l'inoculation intracérébrale de Pffs (Weihofen *et al.*, 2019). Cet anticorps est actuellement en phase II d'étude clinique. D'autre part, une seconde approche d'immunothérapie active consiste en une stimulation du système immunitaire permettant la production d'anticorps ciblant une protéine d'intérêt par injection de peptides similaires à cette dernière. Des études ont ainsi été menées par administration de peptides homologues de l' α -syn qui permettent la production d'anticorps dirigés contre cette dernière (Mandler *et al.*, 2014). Une étude clinique en phase II concernant l'AFFITOPE® PD01A est aujourd'hui en cours. Bien que les premières données récoltées chez l'Homme concernant ces stratégies thérapeutiques sont encourageantes, elles méritent d'être approfondies afin d'évaluer notamment l'impact sur l' α -syn insoluble toxique ainsi que sur le ralentissement de la neurodégénérescence des patients atteints de la MP. De plus, l'un des challenges de ces stratégies par immunothérapie réside dans la pénétrance des anticorps développés, notamment par passage de la BHE, pour atteindre suffisamment de cibles. Des nanocorps (ou « nanobodies ») ont alors été développés, exprimant les régions de reconnaissance spécifique de l'anticorps mais sous la forme d'une très petite protéine, et leur efficacité a ainsi pu être démontrée *in vitro* et *in vivo* (Zha *et al.*, 2016 ; Zhou *et al.*, 2004).

D'autres approches ont également été développées, notamment en ciblant les sites d'interaction de l' α -syn, son agrégation ou encore en induisant son élimination (Brundin *et al.*, 2017; Wrasidlo *et al.*, 2016). L'utilisation d'un peptide invalidant l' α -syn a récemment montré son potentiel thérapeutique dans deux modèles animaux de la MP, en réduisant le taux d' α -syn par dégradation protéasomale (Jin *et al.*, 2021). Toutefois, comme mentionné en partie II.6.1., il est important de discriminer les différentes formes de l' α -syn suivant leur toxicité. Ainsi, une autre approche possible pourrait se baser sur les protéines chaperonnes telle que hsp70 (heat shock protein 70) qui prendraient part à la désagrégation des fibrilles d' α -syn (Gao *et al.*, 2015 ; Klucken *et al.*, 2004). Il serait également possible de court-circuiter la formation de ces fibres, en favorisant la forme tétramérique de l' α -syn qui a été décrite comme résistante à la fibrillation (Bartels *et al.*, 2011 ; Burré *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2011). Une autre intervention possible réside dans la mise au point de molécule favorisant l'association à la membrane du domaine NAC de l' α -syn, empêchant ainsi sa faculté à former des agrégats et *in fine* à se propager (Perni *et al.*, 2017 ; Ysselstein *et al.*, 2017). Enfin, une façon originale de contrecarrer la propagation de l' α -syn est de cibler les éléments favorisant sa fixation et son internalisation au sein des cellules (Mao *et al.*, 2016).

III. LRRK2

L'étude de LRRK2 dans le contexte de la MP est fortement pertinente pour trois principales raisons. Premièrement, le gène codant pour LRRK2 peut présenter des mutations favorisant et/ou induisant la MP (Kluss *et al.*, 2019). Deuxièmement, les patients porteurs de ces mutations sont cliniquement très proches de ceux atteints de formes idiopathiques, et présentent notamment une progression des symptômes dans le temps ainsi qu'une bonne réponse au traitement à la L-Dopa (Healy *et al.*, 2008 ; Marras *et al.*, 2011 ; Somme *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2014). Ainsi, les similitudes entre la MP induite par des mutations de LRRK2 et la MP sporadique soulèvent l'importance de mieux comprendre les mécanismes sous-tendant la neurodégénérescence liée à LRRK2. Finalement, en troisième point, LRRK2 peut être la cible de nouvelles stratégies thérapeutiques, puisque son activité kinase exacerbée par certaines de ses mutations est pathogéniquement associée à la MP. A titre informatif, la protéine peut aussi être retrouvée sous le nom de « dardarine », provenant du mot basque « dardara » signifiant « tremblements », puisqu'une des premières mutations de son gène fut identifié au sein d'une famille basque (Paisán-Ruiz *et al.*, 2004). De plus, LRRK2 possède un homologue, LRRK1, qui n'est apparemment pas impliqué dans la pathogenèse de la MP (Liao & Hoang, 2018).

III.1. Génétique

Comme décrit précédemment, le gène de LRRK2 fait partie intégrante des formes autosomiques dominantes de la MP et est décrit comme le plus important en termes de prévalence (Kluss *et al.*, 2019). Son locus PARK8 a été pour la première fois identifié dans le chromosome 12 en 2002 au sein d'une famille japonaise (Funayama *et al.*, 2002), puis confirmé deux ans plus tard au sein de multiples familles européennes (Zimprich *et al.*, 2004).

Le gène codant pour LRRK2 est composé de 144kb regroupées en 51 exons (Corti *et al.*, 2011). Les différentes mutations de ce gène rapportées (Paisán-Ruiz *et al.*, 2004 ; Zimprich *et al.*, 2004) prennent une part intégrante dans les mécanismes de la MP. En effet, elles sont parmi les plus fréquentes, environ 10% de formes autosomiques dominantes de la MP (Berg *et al.*, 2005; Di Fonzo *et al.*, 2006 ; Johnson *et al.*, 2007 ; Khan *et al.*, 2005 ; Lesage *et al.*, 2009 ; Mata *et al.*, 2005 ; Pchelina *et al.*, 2008) et sont même retrouvées au sein de formes sporadiques de la pathologie (Paisán-Ruiz *et al.*, 2008). De ce fait, LRRK2 est reconnu comme la cause génétique la plus fréquente au développement de la MP. Plus de 80 variants potentiellement délétères de LRRK2 ont pu être identifiés (Nuytemans *et al.*, 2010). Dans la plus grande majorité de cas, ils apparaissent capables d'induire un gain de fonction de la protéine, notamment par augmentation de son activité (Li *et al.*, 2014). Sept mutations de LRRK2 ont pu être identifiées comme pathogéniques : N1437H, R1441G/C/H, Y1699C, G2019S et I2020T (Aasly *et al.*, 2010 ; Fan *et al.*, 2016 ; Healy *et al.*, 2008 ; Lubbe & Morris, 2014). Elles sont situées au sein de régions clés de la protéine : les domaines GTPase et kinase.

La mutation G2019S au sein du domaine kinase (Lesage *et al.*, 2005) est retrouvée à la fois dans environ 4% des formes familiales de la MP et dans environ 1% des formes sporadiques (Gilks *et al.*, 2005 ; Nichols *et al.*, 2005). De plus, cette mutation est très faiblement retrouvée dans la population en bonne santé (moins de 0,1%), ce qui fait de cette mutation un candidat inévitable dans le dépistage génétique de la MP (Buhat & Tan, 2014). Sa pénétrance apparaît toutefois faible et augmente avec l'âge (Corti *et al.*, 2011 ; Hentati *et al.*, 2014 ; Lee *et al.*, 2017). En outre, il apparaît également que l'ethnicité influence la prévalence de LRRK2^{G2019S}, puisqu'il a notamment été décrit qu'elle serait par exemple bien plus fréquente dans les pays du sud-ouest de l'Europe (Bras *et al.*, 2005 ; Di Fonzo *et al.*, 2005 ; Ferreira *et al.*, 2007 ; Infante *et al.*, 2006) contrairement aux pays du nord-est du même continent (Möller *et al.*, 2008 ; Nuytemans *et al.*, 2009 ; Pchelina *et al.*, 2008 ; Schlitter *et al.*, 2006). Également, cette mutation concernerait jusqu'à 42% des formes familiales et 34% des cas sporadiques de la MP chez certaines populations berbères d'Afrique du nord (Hulihan *et al.*, 2008 ; Lesage *et al.*, 2006), ainsi que 28% des cas familiaux et 10% des formes sporadiques chez les juifs Ashkenazes (Djaldetti *et al.*, 2008 ; Hassin-Baer *et al.*, 2009 ; Orr-Urtreger *et al.*, 2007 ; Ozelius *et al.*, 2006). En outre, parmi l'ensemble de ces mutations pathogéniques identifiées, G2019S est la seule à induire une augmentation de son activité kinase, l'effet des autres mutations étant considérés plus modéré (Greggio & Cookson, 2009). Cette activité kinase ainsi exacerbée se révèle alors délétère pour la viabilité cellulaire, et a notamment été associé à une neurotoxicité (Heo *et al.*, 2010 ; Smith *et al.*, 2006). En outre, la mutation G2019S n'affecterait pas la fonctionnalité du domaine GTPase (West *et al.*, 2007). Enfin, les patients présentant cette mutation détiennent des caractéristiques neuropathologiques mais aussi des symptômes moteurs et non-moteurs semblables à ceux retrouvés dans la forme idiopathique de la MP (Tolosa *et al.*, 2020). Il a notamment été montré par imagerie chez des patients asymptomatiques porteurs de la mutation G2019S une augmentation de l'élimination de la DA dans le ST (Sossi *et al.*, 2010), une réduction de la recapture du biomarqueur F-DOPA (Gersel Stockholm *et al.*, 2020) ou encore une réorganisation des réseaux corticostriataux (Helmich *et al.*, 2015 ; Vilas *et al.*, 2015).

Finalement, autres que ses mutations causant la MP, ont pu être identifiés (notamment par GWAS) comme facteurs de risque au développement de la MP des variants génétiques de LRRK2, tels que G2385R et R1628P, notamment au sein de populations asiatiques (Farrer *et al.*, 2007 ; Lu *et al.*, 2008 ; Zabetian *et al.*, 2009). Néanmoins, bien qu'ils puissent être relativement courants, il est important de souligner que ces variants ne sont associés qu'à un faible risque de développer la MP (Nalls *et al.*, 2014 ; Simón-Sánchez *et al.*, 2009).

III.2. Structure

LRRK2 est une protéine de 2 527 AA et est composée de multiples domaines hautement conservés chez les vertébrés (Bosgraaf & Van Haastert, 2003). Grâce à sa forte homologie de séquence, LRRK2 fait partie de la superfamille des protéines ROCO (ROC - Ras of complex protein - et COR - Cterminal of Roc), à fonction Ras/GTPases (Lesage *et al.*, 2005). LRRK2 est ainsi une protéine composée

INTRODUCTION

de multiples domaines, notamment d'un cœur catalytique à activité kinase et GTPases, ainsi que de multiples domaines d'interaction protéique (**Figure 18**).

Ainsi, la particularité de LRRK2 se trouve dans son cœur catalytique qui lui confère une double activité sérine/thréonine (Ser/Thr) kinase et GTPase (Corti *et al.*, 2011). D'un côté, LRRK2 est capable d'autophosphorylation mais aussi de phosphorylation de multiples substrats tels que les Rab-GTPases (notamment Rab8a et Rab10), la moésine, la synopatojanine 1, l'endophiline A1 ou encore la MBP (Myelin Basic Protein) (Greggio *et al.*, 2008 ; Islam *et al.*, 2016 ; Jaleel *et al.*, 2007 ; Matta *et al.*, 2012 ; Steger *et al.*, 2016 ; West *et al.*, 2005). LRRK2 peut aussi se retrouver sous forme monomérique ou dimérique, cette dernière étant la forme dite active de la protéine et nécessaire pour induire son activité kinase (Berger *et al.*, 2010 ; Greggio *et al.*, 2008 ; Sen *et al.*, 2009). Remarquablement, le domaine kinase détient des similarités avec les Ser/Thr et tyrosine kinases de la famille des MAPKKK (Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) kinase kinase), qui jouent un rôle clé dans le stress cellulaire (Chen & Wu, 2018). De plus, cette activité kinase apparait nécessaire au développement de neurotoxicité associée à LRRK2 (Greggio *et al.*, 2006 ; Smith *et al.*, 2006). De l'autre côté, le domaine ROC de LRRK2 lui confère son activité GTPase (Guo *et al.*, 2007 ; Ito *et al.*, 2007 ; West *et al.*, 2007). De plus, il apparait que le domaine GTPase interagit avec le domaine kinase, puisqu'une diminution de l'activité du premier a été associée à une augmentation de celle du deuxième (Haebig *et al.*, 2010 ; Stafa *et al.*, 2012). L'activité kinase apparait alors directement régulée par son domaine GTPase (Guo *et al.*, 2007 ; Ito *et al.*, 2007 ; Liu *et al.*, 2008 ; Smith *et al.*, 2006 ; Taymans *et al.*, 2011).

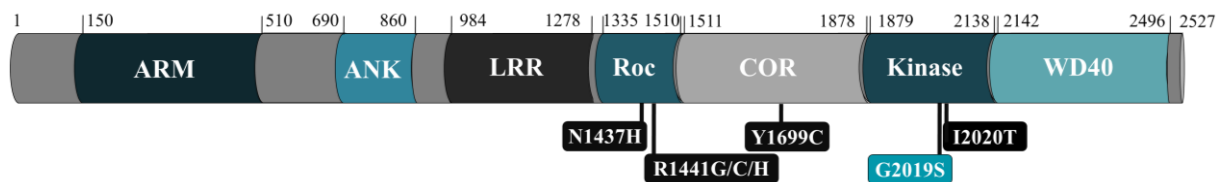


Figure 18 : Structure de LRRK2 (Adaptée de Corti *et al.*, 2011 et Tolosa *et al.*, 2020)

LRRK2 est une grande protéine de 286kDa, composée de 2727 AA répartis en de multiples domaines, notamment un domaine ROC-COR à activité GTPase ainsi qu'un domaine kinase et divers domaines d'interaction protéine-protéine. Ses mutations décrites comme pathogéniques sont représentées, notamment la plus fréquente G2019S.

Enfin, LRRK2 se compose aussi de domaines permettant son interaction avec d'autres protéines, telles que ses régions Armadillo (ARM), à répétition ankyrine (ANK), à répétition de leucine (LRR, Leucine-rich-repeat) et WD40 (Trp-Asp-40), lui permettant sans doute le rôle de protéine d'échafaudage dans l'élaboration de complexe multiprotéique (Corti *et al.*, 2011). De façon intéressante, il a été montré que les protéines contenant le motif LRR étaient impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux, tels que l'apoptose, le trafic intracellulaire, la dynamique du cytosquelette ou encore la différenciation et le développement neuronal (Kobe & Deisenhofer, 1995 ; Kobe & Kajava, 2001). De plus, WD40 est un domaine conservé prenant part à la régulation de la transcription et de l'ARNm (Acide ribonucléique messager), l'assemblage du cytosquelette ou encore la fission des mitochondries (Li & Roberts, 2001). Enfin, il a été décrit que sa partie aminotermine (1 – 1247AA) ne serait pas essentielle à la fonctionnalité

des activités kinases et GTPase de la protéine, contrairement au domaine carboxyterminal WD40 dont la délétion a été associée à une inactivation de la protéine (Greggio *et al.*, 2008 ; Jaleel *et al.*, 2007 ; Jorgensen *et al.*, 2009).

III.3. Localisation

Les études initiales sur LRRK2 avaient permis de localiser ses transcrits au sein de tous les tissus humains analysés, tel que les poumons (dont l'expression apparue jusqu'à cinq fois supérieure aux autres tissus étudiés), le cœur, le cerveau, le placenta, le foie, les muscles squelettiques, les reins ou encore le pancréas (Paisán-Ruiz *et al.*, 2004 ; Zimprich *et al.*, 2004). Puis, le développement d'anticorps ciblant LRRK2 a permis de mieux caractériser la localisation de LRRK2 au sein du cerveau de rongeur mais aussi chez l'Homme (West *et al.*, 2005). Cette protéine est ainsi retrouvée au sein du SNC mais aussi dans les poumons, les reins ou encore la rate (Mir *et al.*, 2018 ; Zimprich *et al.*, 2004) (**Figure 19**). Il est également important de noter son expression dans les cellules immunitaires telles que les lymphocytes B, les monocytes, les macrophages ou encore les neutrophiles (Dzamko, 2017). Du point de vue neuroanatomique, LRRK2 a principalement été identifiée au sein des neurones cholinergiques, DAergiques, GABAergiques et sérotoninergiques (Higashi *et al.*, 2007 ; Paisán-Ruiz *et al.*, 2004). De plus, il a été montré que LRRK2 est présente dans l'ensemble de la voie nigrostriée, avec notamment une forte expression dans le putamen mais plus faible dans la SNpc (Higashi *et al.*, 2007 ; Zimprich *et al.*, 2004). En outre, son expression apparait majoritairement neuronale, au dépend des autres cellules du SNC (Davies *et al.*, 2013). Toutefois, l'expression de LRRK2 au sein des cellules gliales pourraient être augmentée suite à un stress ou une inflammation (Lee *et al.*, 2020). Enfin, il apparait que LRRK2 s'exprime dès la naissance et accroit dès les premières semaines post-natales, en lien avec la synaptogenèse qui a lieu à la même période développementale (Giesert *et al.*, 2013 ; Higashi *et al.*, 2007 ; Mensah, 1982 ; Yamashita *et al.*, 2003).

Du point de vue intracellulaire, LRRK2 est essentiellement retrouvée dans le cytoplasme tout en étant exclue du noyau (Biskup *et al.*, 2006 ; Gomez *et al.*, 2019 ; Meixner *et al.*, 2011 ; Nichols *et al.*, 2010) et/ou associée aux membranes (Berger *et al.*, 2010 ; Biskup *et al.*, 2006). Cette protéine est aussi retrouvée aux microtubules, aux vésicules synaptiques, aux lysosomes, aux endosomes, à l'appareil de Golgi ou encore à la membrane externe de la mitochondrie (Biskup *et al.*, 2006 ; Hatano *et al.*, 2007 ; Piccoli *et al.*, 2014). De façon intéressante, la présence de LRRK2 a aussi été retrouvée au sein des CLs (Higashi *et al.*, 2007), et d'autant plus lorsque LRRK2 est mutée G2019S (Vitte *et al.*, 2010). Toutefois, d'une part, il apparait que sa localisation cellulaire est déterminée par sa propre activité catalytique, notamment par son autophosphorylation ou son hétérophosphorylation sur des substrats comme les protéines Rab qui favorisent sa localisation au Golgi par exemple (De Wit *et al.*, 2018 ; Dzamko *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2018 ; Purlyte *et al.*, 2018). Réciproquement, son activité catalytique apparait également dépendante de sa localisation : il a d'ailleurs été montré que son activité kinase était plus importante lorsque LRRK2 était liée aux membranes (De Wit *et al.*, 2018). De plus, sa localisation, notamment à la membrane, est aussi

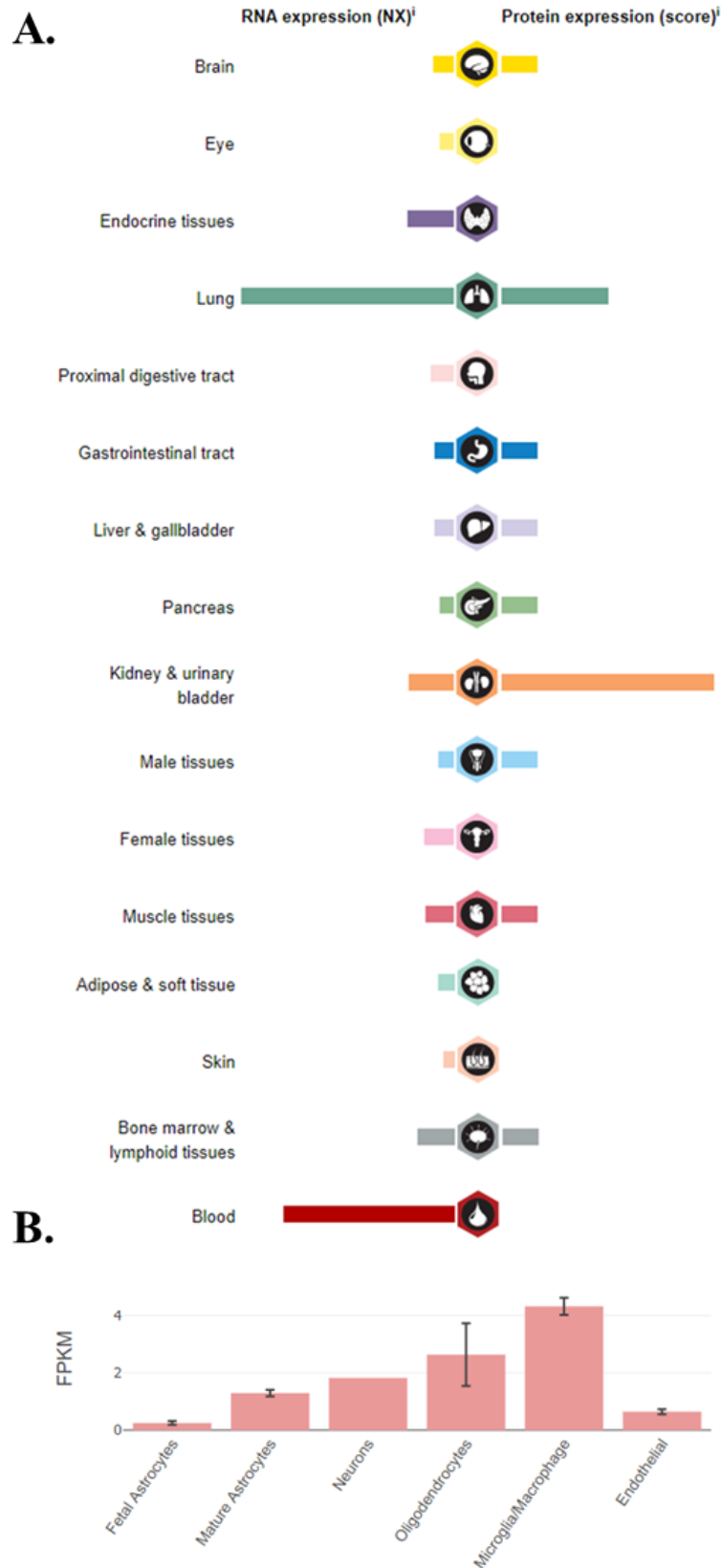


Figure 19 : Localisation de l'expression de LRRK2 chez l'Homme

A. D'un point de vue de ses transcrits, LRRK2 se retrouve majoritairement exprimée au sein des poumons et du sang. D'un point de vue protéique, elle est principalement retrouvée dans les poumons ainsi que dans les reins et la vessie (d'après proteinatlas.org). **B.** Plus particulièrement au sein du cerveau, les transcrits de LRRK2 sont majoritairement retrouvés (par ordre décroissant) dans la microglie, les oligodendrocytes, les neurones et les astrocytes matures (d'après brainnaseq.org)

gouvernée par sa propre dimérisation (Civiero *et al.*, 2012 ; Greggio *et al.*, 2008 ; Guaitoli *et al.*, 2016). D'autre part, la localisation de LRRK2 est aussi liée à son interaction avec d'autres protéines, telle que la protéine 14-3-3 qui favorise sa localisation cytoplasmique (Li *et al.*, 2011 ; Nichols *et al.*, 2010). Enfin, la localisation de LRRK2 se révèle également dépendante de ses mutations pathogéniques (Blanca Ramírez *et al.*, 2017).

III.4. Régulation

III.4.1. Modifications post-traductionnelles

III.4.1.1. Phosphorylation

Dans des conditions physiologiques, LRRK2 présente de nombreux motifs de phosphorylation, notamment sur des sérines présentes dans de multiples domaines de la protéine et plus particulièrement entre les domaines aminoterminaux ANK et LRR (Nichols, 2017). Les sites de phosphorylation de LRRK2 apparaissent ainsi essentiels dans la régulation de sa fonction et permettent la régulation de sa localisation ainsi que de ses activités enzymatiques (Athanasopoulos *et al.*, 2018). Ils sont répartis en deux groupes : les sites de phosphorylation hétérologues ainsi que les sites d'autophosphorylation (Marchand *et al.*, 2020) (**Figure 20**).

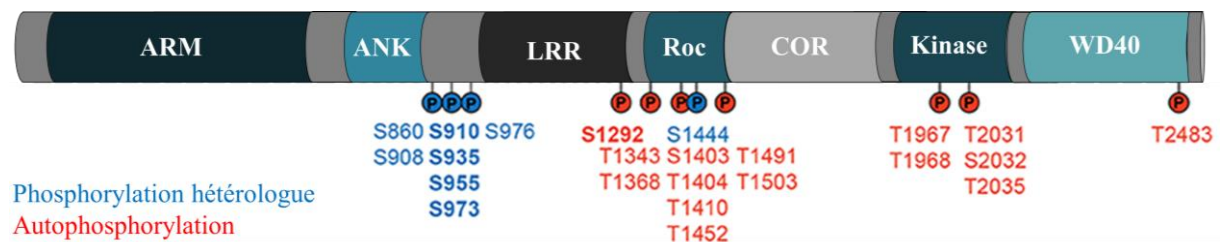


Figure 20 : Sites de phosphorylation de LRRK2 (Adaptée de Marchand *et al.*, 2020)

D'une part, les sites de phosphorylation hétérologue réguleraient à la fois la localisation mais aussi la stabilité ou encore la fonction de LRRK2 (Nichols *et al.*, 2010). Il a en effet montré que ces modifications interviendraient dans la liaison de 14-3-3 à LRRK2, qui se lie aux sérines phosphorylées 910 et 935 et, d'une part, contrôle sa localisation au sein de la cellule ; et, d'autre part, la maintient dans une conformation latente et hypoactive (Mamais *et al.*, 2014 ; Muda *et al.*, 2014). De plus, des mutations dans les domaines kinases (telle que G2019S), ROC et COR ont été associées à une diminution de ces phosphorylations (Zhao *et al.*, 2015). Cette diminution de la phosphorylation de LRRK2 a également été observée au sein de cerveaux de patients atteints de la MP (Dzamko *et al.*, 2017). En outre, l'inhibition de l'activité kinase de LRRK2 réduirait ces phosphorylations (Huang *et al.*, 2013), ce qui a aussi été associée à une localisation anormale de LRRK2 (Dzamko *et al.*, 2017) ainsi qu'à son agrégation au sein de la SNpc de patients atteints de la MP (Dzamko *et al.*, 2010). Les kinases impliquées dans ces phosphorylations sont relativement mal-identifiées, mais ont été caractérisées la protéine kinase A (Li *et*

INTRODUCTION

al., 2011 ; Muda *et al.*, 2014 ; West *et al.*, 2007), les caséines kinases (Chia *et al.*, 2014 ; West *et al.*, 2007) ou encore la protéine inhibitrice de la kinase κ B (Dzamko *et al.*, 2012). A l'inverse, il a été montré le rôle de la protéine phosphatase 1 dans la déphosphorylation de LRRK2 (Lobbestael *et al.*, 2013). Ainsi, même si les mécanismes sous-jacents restent peu clairs, une dérégulation de la phosphorylation de LRRK2 favoriserait sa pathogénicité.

D'autre part, LRRK2 se régule sous sa forme dimérique par autophosphorylation, sur des Ser/Thr principalement présentes dans ses domaines ROC et COR (Greggio *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2017). Bien que les mécanismes de cette régulation soit mal-compris, son autophosphorylation, notamment sur la S1292, serait corrélée à l'activité kinase de LRRK2 (Dzamko *et al.*, 2010 ; Guo *et al.*, 2007 ; Liu *et al.*, 2016 ; Sheng *et al.*, 2012 ; West *et al.*, 2005) mais aussi à son activité GTPase (Liu *et al.*, 2016).

III.4.1.2 Ubiquitination

L'ubiquitination de LRRK2, au sein de nombreuses lysines aminotermiales, serait liée à la régulation de sa stabilité ainsi qu'à sa dégradation (Nichols, 2017). De plus, il a été montré que LRRK2, localisée au sein des CLs, présentait une forte ubiquitination (Nucifora *et al.*, 2016). Enfin, il semblerait qu'une altération de l'ubiquitination de LRRK2 impacterait la pathogénèse de la MP, notamment via l'inhibition de voies de dégradation (Pajarillo *et al.*, 2019).

III.4.2. Régulations intrinsèques

Les mécanismes régulant les activités kinases et GTPases de LRRK2 ne sont pas complètement élucidés, mais feraient intervenir des mécanismes à la fois intra et inter-moléculaires. Premièrement, d'un point de vue intra-moléculaire, LRRK2 se dimérise au sein des cellules, et cette conformation représenterait une étape essentielle dans la régulation de ses capacités enzymatiques (notamment kinase) ainsi que sa localisation aux membranes (Berger *et al.*, 2010 ; Civiero *et al.*, 2012 ; Deyaert *et al.*, 2017 ; Greggio *et al.*, 2008 ; Guaitoli *et al.*, 2016). Cette dimérisation serait également permise grâce à son activité GTPase, en lien avec les domaines ROC et COR (Guaitoli *et al.*, 2016). Ainsi, la dimérisation de LRRK2 favoriserait l'activité kinase de cette dernière, et la fonction GTPase déterminerait la demi-vie de la forme dimérique (Berwick *et al.*, 2019). Deuxièmement, les domaines kinases et GTPases de LRRK2 seraient aussi sous l'influence de régulation inter-moléculaires. Il a notamment été montré que des mutations au sein du domaine ROC induisent une perturbation de la liaison du GTP à la protéine (et donc également une perturbation de la fonction GTPase) ainsi qu'un défaut d'autophosphorylation (Biosa *et al.*, 2013). De plus, l'autophosphorylation de ses résidus présents dans le domaine ROC semble affecter son interaction avec d'autres protéines (telles que les protéines de la famille Rab ou la protéine chaperonnes 14-3-3), en lien également avec une influence sur sa localisation cellulaire (Berger *et al.*, 2010 ; De Wit *et al.*, 2018 ; Greggio *et al.*, 2008).

III.5. Fonctions physiologiques

Depuis la découverte de son lien avec la MP en 2004 (Paisán-Ruiz *et al.*, 2004 ; Zimprich *et al.*, 2004), de nombreuses études ont été réalisées pour identifier la fonction propre de LRRK2, notamment par des approches de perte/gain de fonction de la protéine ou encore en étudiant l'effet des mutations de son gène. Tout d'abord, il apparaît que les animaux délétés du gène de LRRK2 sont viables, fertiles, avec une espérance de vie inchangée et ne présentent pas de symptômes moteurs particuliers (Pischedda & Piccoli, 2021). Toutefois, ces animaux présentent des déficiences périphériques, notamment au niveau des poumons et des reins (Herzig *et al.*, 2011). La fonction de LRRK2 est aussi à mettre en lien avec sa localisation, que cela soit au sein des neurones mais aussi des cellules immunitaires. D'une part, la découverte des protéines Rab comme substrats majoritaires de l'activité kinase de LRRK2 (Steger *et al.*, 2016) ont permis de lier cette dernière à la régulation des vésicules (notamment les vésicules synaptiques), de leur formation à leur trafic intracellulaire jusqu'à leur fusion à la membrane (Wandinger-Ness & Zerial, 2014). Ce rôle de LRRK2 dans la régulation des vésicules synaptiques est aussi appuyé par sa capacité à se lier et/ou phosphorylée des protéines telles que la synaptojanine 1, la synapsine 1 ou encore le canal calcique CaV2.1 (Pischedda & Piccoli, 2021). D'autre part, l'expression prépondérante de LRRK2 dans des cellules telles que les neutrophiles, les macrophages ou encore les monocytes supporte son rôle dans la défense intracellulaire contre les pathogènes (Liu *et al.*, 2011 ; Wallings & Tansey, 2019). Sa sous-expression a ainsi pu être liée à une défaillance de la réponse immune (Kim *et al.*, 2012 ; Wandu *et al.*, 2015). Il a d'ailleurs été montré que l'activité kinase de LRRK2 était nécessaire dans l'élimination de l'infection par la *Salmonella enterica* sérotype *Typhimurium* (Liu *et al.*, 2017 ; Shutinoski *et al.*, 2019).

Finalement, plus de vingt ans de recherche sur les fonctions de LRRK2 ont permis de caractériser son rôle dans de multiples processus cellulaires. Il a notamment été montré son rôle dans la régénération des neurites (Ramonet *et al.*, 2011 ; Winner *et al.*, 2011), la transmission synaptique (Beccano-Kelly *et al.*, 2014 ; Matikainen-Ankney *et al.*, 2016 ; Sweet *et al.*, 2015 ; Tong *et al.*, 2009), le trafic des vésicules synaptiques (Nguyen & Krainc, 2018 ; Piccoli *et al.*, 2011), la transcription et la traduction (Deshpande *et al.*, 2020 ; Nikonova *et al.*, 2012 ; Taymans *et al.*, 2015), la signalisation calcique (Bedford *et al.*, 2016 ; Korecka *et al.*, 2019 ; Schwab & Ebert, 2015), l'autophagie (Albanese *et al.*, 2019), la régulation du système endolysosomal (Arranz *et al.*, 2015 ; Belluzzi *et al.*, 2016 ; Gómez-Suaga *et al.*, 2014 ; MacLeod *et al.*, 2013 ; Matta *et al.*, 2012 ; Rivero-Ríos *et al.*, 2019, 2020 ; Shin *et al.*, 2008), la dynamique et le contrôle-qualité des mitochondries (Mortiboys *et al.*, 2010 ; Stafa *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2012) ainsi que la dynamique du cytosquelette et la stabilisation des microtubules (Parisiadou *et al.*, 2009 ; Pellegrini *et al.*, 2018). Le rôle de LRRK2 dans l'autophagie sera d'autant plus détaillé en partie V.4.

Ainsi, de par son nombre considérable d'interacteurs et de processus cellulaires dans lesquels LRRK2 intervient, définir clairement le rôle de LRRK2 est un véritable challenge. Ces voies cellulaires peuvent ainsi être catégorisées en deux groupes : celles dépendantes d'une interaction directe de LRRK2

et celles bénéficiant d'un effet à distance de la protéine par l'intermédiaire de nombreux autres partenaires. Ceci traduit une nouvelle fois toute la complexité de l'analyse du rôle de LRRK2.

III.6. Implication dans la maladie de Parkinson

Les mécanismes sous-tendant le développement de la MP restent incompris, mais résulteraient d'une interaction complexe entre facteurs environnementaux et génétiques. C'est dans ce contexte que LRRK2 représente l'une des protéines les plus pertinentes à étudier dans la pathogenèse de la MP. D'une part, bien que sa pénétrance soit faible, son gène représente la cause la plus fréquente au développement de la MP (Goldwurm *et al.*, 2007 ; Lee *et al.*, 2017). D'autre part, des facteurs environnementaux tels qu'une inflammation pourraient agir en synergie avec l'effet des mutations de LRRK2 (Kozina *et al.*, 2018). De plus, comme décrit précédemment, une des caractéristiques neuropathologiques clés de la MP réside dans la formation de CLs dans lesquels a pu être détectée la présence de LRRK2 (Greggio *et al.*, 2006 ; Guerreiro *et al.*, 2013 ; Miklossy *et al.*, 2006 ; Zhu *et al.*, 2006), suggérant ainsi son probable rôle dans la pathogenèse de la MP. De plus, la grande majorité des patients atteints de la MP porteurs de mutations de LRRK2, notamment G2019S, sont cliniquement et pathologiquement très proches des patients issus de formes sporadiques de la MP (Mehta & Sethi, 2011). Toutefois, les CLs et/ou la présence d'agrégats d' α -syn ne sont observés que dans seulement la moitié de ces cas (Agin-Liebes *et al.*, 2020 ; Kalia *et al.*, 2015 ; Pouloupoulos *et al.*, 2012 ; Rajput *et al.*, 2006 ; Ujji *et al.*, 2012 ; Zimprich *et al.*, 2004), malgré la perte de neurones DAergiques dans leur SNpc (Schneider & Alcalay, 2017). Ceci pourrait indiquer que, dans ces formes de la MP associées à des mutations de LRRK2, l'agrégation d' α -syn ne serait sans doute pas la cause même du développement des symptômes parkinsoniens et/ou de la dégénérescence DAergique (Kuhlmann & Milnerwood, 2020). Par ailleurs, les patients asymptomatiques porteurs de mutations de LRRK2 détiennent un taux d' α -syn oligomériques dans leur LCR nettement supérieur à celui de personnes saines du même âge, suggérant un rôle de LRRK2 dans les phases pré-symptomatiques de la maladie en contribuant à la formation d'oligomères d' α -syn (Aasly *et al.*, 2014). Ainsi il devient déterminant d'obtenir de nouveaux biomarqueurs pour notamment identifier les patients asymptomatiques porteurs de mutations de LRRK2 mais qui pourront développer la MP avec l'âge. Finalement, de par le grand nombre de processus cellulaires dans lesquels cette protéine est impliquée, il devient difficile de déterminer clairement le rôle de LRRK2 dans l'étiologie de la MP, dont les mécanismes sont tout aussi complexes et mal-compris. Toutefois, LRRK2 pourrait intervenir dans des systèmes décrits comme dérégulés dans la MP, notamment l'autophagie et les lysosomes, la mitochondrie ou encore le trafic vésiculaire en lien avec la dynamique du cytosquelette.

III.7. Stratégies thérapeutiques

La découverte du potentiel lien entre la fonction kinase de LRRK2 et son rôle au sein de multiples processus cellulaires, en corrélation avec sa pathogénicité, a initié le développement de petites

molécules inhibitrices ciblant cette activité (Atashrazm & Dzamko, 2016). Ces thérapies seraient non seulement bénéfiques aux patients porteurs de mutations de LRRK2, mais aussi à ceux présentant une forme idiopathique de la MP (Jeong & Lee, 2020). Notamment, l'inhibition pharmacologique de l'activité kinase de LRRK2 avaient déjà montré ses bénéfices au sein de modèles cellulaires et animaux de la MP (Daher *et al.*, 2015 ; Lee *et al.*, 2010). De façon intéressante, cette inhibition permet également de réduire l'expression de la protéine sauvage ou mutée G2019S, qui serait alors dégradée par le protéasome (Lobbestael *et al.*, 2016). Ces petites molécules utilisables à des fins cliniques ont notamment la particularité de traverser la BHE et d'être sélectives de la fonction kinase. Il a ainsi été développé des inhibiteurs de l'activité kinase de LRRK2 dit « de première classe » (sunitinib, CZC54252, TAE684, LRRK2-IN-1...) (Deng *et al.*, 2011). Bien que disposant d'un fort potentiel inhibiteur, ils se sont également révélés non-spécifiques de LRRK2 et pourraient ainsi agir sur d'autres kinases. Des inhibiteurs de « seconde classe » à meilleure sélectivité ont alors été mis au point. Parmi, eux, DNL201 (Baptista *et al.*, 2020) et DNL151, sont en cours de développement clinique ; et d'autres, MLi2 et PF-06685360, sont au stade pré-clinique (Sardi *et al.*, 2018 ; West, 2017). Néanmoins, afin de développer des thérapies les plus efficaces et sûres possibles, il est nécessaire de mieux comprendre le rôle de la fonction kinase de LRRK2 en périphérie, notamment dans les reins et les poumons au sein desquels des effets indésirables des inhibiteurs de l'activité kinase de LRRK2 ont pu être identifiés (Fuji *et al.*, 2015 ; Herzig *et al.*, 2011).

Des approches alternatives sont alors possibles en ciblant l'activité GTPase et/ou en ciblant des domaines non-enzymatiques de LRRK2 (Rudenko *et al.*, 2012) même s'il est encore peu clair si les domaines non-liés à l'activité kinase prennent part aux mécanismes de la MP (Tolosa *et al.*, 2020). Une autre alternative réside dans l'utilisation d'oligonucléotides antisens, afin de réduire l'expression de LRRK2 et ainsi bloquer son activité. L'administration de ces oligonucléotides chez un modèle murin de la MP a notamment permis de réduire l'expression de LRRK2 mais aussi les inclusions d' α -syn ainsi que la perte DAergique (Zhao *et al.*, 2017). Par ailleurs, l'injection ciblée de ces oligonucléotides pourraient éviter les potentiels effets indésirables en périphérie (Herzig *et al.*, 2011). Une étude clinique de phase I est ainsi en cours depuis août 2019 concernant l'oligonucléotide antisens à administration intrathécale BIIB094 (Biogen, 2021). Toutefois, il reste nécessaire de mieux comprendre l'effet à long terme d'une réduction de l'expression de LRRK2. Enfin, il a récemment été montré que la vitamine B12 pouvait jouer le rôle d'inhibiteur « semi-allostérique » de l'activité kinase de LRRK2. En se fixant sur un site annexe du site actif de la protéine, la vitamine B12 induit un changement conformationnel en favorisant notamment la forme monomérique de LRRK2 (Schaffner *et al.*, 2019).

IV. Interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2

De par la grande complexité sous-tendant les causes de la MP mais aussi les multiples gènes associés au développement de cette pathologie, il est pertinent de suggérer une possible interaction entre l'α-syn et LRRK2 prenant part à la pathogenèse de la MP. L'un des premiers indices suggérant une interaction entre ces deux protéines réside dans les CLs, où, d'une part, la présence de LRRK2 (Vitte *et al.*, 2010) et de l'α-syn (Spillantini *et al.*, 1998) y ont été identifiées ; et, d'autre part, LRRK2 et l'α-syn y ont été retrouvées en interaction par co-immunoprécipitation d'extraits de cerveaux d'individus souffrant de la MP (Guerreiro *et al.*, 2013). De plus, il a été décrit que des patients porteurs de mutations de LRRK2 sont atteints de synucléinopathies, suggérant l'interaction possible entre l'α-syn et LRRK2 dans des processus neurodégénératifs communs (Yang *et al.*, 2021). Toutefois, cette population ne représente qu'environ la moitié des patients atteints de la MP et porteurs d'une mutation de LRRK2. Ceci met en évidence que ces mutations ne seraient probablement pas suffisantes au développement des inclusions et CLs, et que d'autres facteurs entreraient en jeu dans le développement de la MP. Cette idée est d'autant plus renforcée par le fait qu'aucune interaction génétique n'a pu être mise en évidence entre *SNCA* et *LRRK2*, suggérant que d'autres loci génomiques et/ou facteurs de risque environnementaux peuvent interagir avec ces gènes (Biernacka *et al.*, 2011).

L'interaction possible entre ces deux protéines reste néanmoins mal-comprise. D'une part, elles pourraient interagir ensemble « physiquement ». Ceci a notamment été montré par co-immunoprécipitation au sein de lignées cellulaires humaines exprimant *LRRK2*^{WT} ou *LRRK2*^{G2019S} ainsi que l'α-syn (Guerreiro *et al.*, 2013). Cependant, leur interaction directe reste débattue (Westerlund *et al.*, 2008), et pourrait plutôt passer par l'intermédiaire d'un partenaire commun tel que 14-3-3 (Dzamko *et al.*, 2010 ; Xu *et al.*, 2002). Les protéines 14-3-3 représentent une famille de protéines chaperonnes très conservée et douée de multiples fonctions, notamment dans la survie cellulaire en inhibant des facteurs pro-apoptotiques (Yuan & Yankner, 2000) et qui représentaient 1% des protéines cérébrales (Dougherty & Morrison, 2004). Remarquablement, 14-3-3 a également été retrouvée présente au sein des CLs (Berg *et al.*, 2003 ; Kawamoto *et al.*, 2004 ; Nichols *et al.*, 2010), ce qui pourrait contraindre sa fonction pro-survie et favoriser ainsi la neurotoxicité et donc la neurodégénérescence. Par ailleurs, 14-3-3 pourrait avoir un rôle d'autant plus important dans les neurones DAergiques, puisqu'elle semble réguler l'expression mais aussi l'activité de la TH, tout comme l'α-syn (Berg *et al.*, 2003). De plus, comme cité précédemment, des modifications post-traductionnelles de LRRK2, telles que les phosphorylations des S910 et S935, se révèlent être importantes dans la liaison de 14-3-3 à LRRK2, et sont maintenues chez le mutant *LRRK2*^{G2019S} contrairement à d'autres mutations (Nichols *et al.*, 2010). L'interaction entre l'α-syn et LRRK2 pourrait donc être renforcée en cas de mutation G2019S. Finalement, d'autres protéines chaperonnes ont été décrites comme pouvant interagir à la fois avec l'α-syn mais aussi LRRK2, telles que Hsp70 et Hsp90 (O'Hara *et al.*, 2020), toutes deux également identifiées comme composants des CLs (Leverenz *et al.*, 2007 ; McLean *et al.*, 2001). D'autre part, l'α-syn et LRRK2 pourraient agir de concert dans un ou des processus cellulaires et physiologiques communs, favorisant ainsi le développement de la MP. Enfin, il est important de considérer que l'interaction entre l'α-syn et LRRK2 peut se produire au

sein même de la cellule, mais elles peuvent aussi coopérer via des mécanismes physiologiques impliquant des types cellulaires différents. En somme, une meilleure compréhension de l'interaction entre l' α -syn et LRRK2 permettra de déterminer si LRRK2 constitue une cible thérapeutique pertinente dans la MP, notamment chez les patients non-porteurs de mutations de LRRK2.

IV.1. Effet de LRRK2 sur l' α -synucléine

IV.1.1. Rôle de LRRK2 sur la toxicité de l' α -synucléine

L'impact de LRRK2 sur l' α -syn a été constaté concernant la toxicité de cette dernière, notamment par des expériences de perte de fonction de LRRK2. Ainsi, chez des rats dont la SNpc a été transduite avec de l' α -syn humaine, il a été montré que l'inactivation (KO ou pharmacologique) de LRRK2 pouvait atténuer la toxicité de l' α -syn et ainsi bloquer la neurodégénérescence DAergique (Daher *et al.*, 2014, 2015). De plus, la perte de fonction de *Irrk-1*, orthologue des protéines LRRK chez *C. elegans*, protège les neurones DAergiques des effets toxiques de l' α -syn humaine (Yuan *et al.*, 2011). Ceci a également été observé au sein de souris transgéniques, dont l'inactivation de LRRK2 permet de réduire la neuropathologie liée à l' α -syn (Lin *et al.*, 2009). En outre, les mutations de LRRK2 semblent aussi jouer un rôle sur la toxicité de l' α -syn. Notamment, la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} induit une neurodégénérescence plus importante qu'avec LRRK2^{WT} (Lin *et al.*, 2009). De même, au sein de lignées cellulaires SH-SY5Y, la co-expression de l' α -syn avec LRRK2^{G2019S} réduit la viabilité de ces cellules, en comparaison avec la co-expression avec LRRK2^{WT} ou l'expression seule de ces protéines (Kondo *et al.*, 2011). Toutefois, cet effet de LRRK2 sur la toxicité de l' α -syn est remise en cause, puisqu'il a notamment été montré que des souris transgéniques surexprimant l' α -syn^{A53T} présentaient un phénotype neurodégénératif indépendant de l'expression de LRRK2 (Daher *et al.*, 2012). Enfin, l'administration de Mli2, inhibiteur de l'activité kinase de LRRK2, chez la souris ayant subi une injection de Pffs dans le ST, ne permet pas de protéger les neurones de la synucléinopathie et n'a ainsi pas d'effet sur le développement des troubles moteurs et la neurodégénérescence (Henderson *et al.*, 2019).

IV.1.2 Rôle de LRRK2 sur l'agrégation de l' α -synucléine

L'interaction de LRRK2 et l' α -syn a également été retrouvée concernant l'effet de LRRK2 sur l'agrégation de l' α -syn. Ainsi, dès la découverte de son lien avec le développement de la MP, il a été suggéré que l'activité kinase de LRRK2 pouvait être responsable de la phosphorylation de l' α -syn et ainsi favoriser son accumulation et son agrégation (Zimprich *et al.*, 2004). De plus, il a aussi été montré, au sein de souris transgéniques, de lignées cellulaires et de neurones primaires, que la sous-expression de LRRK2 atténue la formation d'inclusions d' α -syn (Guerreiro *et al.*, 2013 ; Maclsaac *et al.*, 2020). Comme mentionné précédemment, le motif pS129 est un marqueur reconnu de l' α -syn pathologique, et est notamment associé à son agrégation. Il a alors été montré que la surexpression de LRRK2^{G2019S} induit un plus haut niveau d' α -syn phosphorylée sur la S129, en lien avec une augmentation de son agrégation et

INTRODUCTION

de la synucléinopathie (Longo *et al.*, 2017 ; Novello *et al.*, 2018 ; Schapansky *et al.*, 2018 ; Volpicelli-Daley *et al.*, 2016). De même, il se pourrait que LRRK2^{G2019S} phosphoryle directement l'α-syn sur la S129 (Qing *et al.*, 2009) même si cette donnée reste toujours débattue et n'a pas été retrouvée dans d'autres études (Lin *et al.*, 2009 ; Tong *et al.*, 2010). Bien qu'il ait pu être observé au sein d'un modèle transgénique murin exprimant l'α-syn^{A53T} que l'expression de LRRK2^{G2019S} diminuait la phosphorylation de l'α-syn en S129, il a toutefois pu être également montré dans ce même modèle que l'expression de LRRK2^{G2019S} pouvait accélérer l'accumulation de l'α-syn (Lin *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'activité kinase de LRRK2, exacerbée chez le mutant G2019S, serait mise en cause dans l'agrégation de l'α-syn. Il a notamment été observé au sein de neurones primaires corticaux issus de souris transgéniques LRRK2^{G2019S} une accumulation et une agrégation de l'α-syn endogène, dépendante de l'activité kinase de LRRK2 (Schapansky *et al.*, 2018). De même, au sein de neurones primaires exposés aux fibrilles d'α-syn, l'expression de LRRK2^{G2019S} favorise la formation d'inclusions et cet effet peut être réduit par l'inhibition de l'activité kinase de LRRK2 et/ou la perte de son expression (Maclsaac *et al.*, 2020 ; Volpicelli-Daley *et al.*, 2016). En outre, la formation d'agrégats d'α-syn endogène en lien avec l'expression de LRRK2 a aussi pu être visualisée *in vivo*, chez la souris surexprimant LRRK2^{G2019S} sélectivement dans la SNpc, en lien avec une neurodégénérescence DAergique, une neuro-inflammation et des déficits moteurs (Bieri *et al.*, 2019 ; Xiong *et al.*, 2018). Enfin, il a été observé, au sein de cerveaux de patients atteints de la MP et porteurs de la mutation G2019S, une hyperphosphorylation de Rab35, qui favorise l'agrégation de l'α-syn mais aussi l'altération du trafic endosomal et de la dégradation lysosomal (Bae *et al.*, 2018).

Cependant, l'impact de LRRK2 sur l'agrégation de l'α-syn reste encore mal-compris. Certaines données restent contradictoires puisqu'il a notamment été montré que la co-expression de l'α-syn et LRRK2 humaines chez la souris n'aurait pas d'influence sur la synucléinopathie (Herzig *et al.*, 2012). De plus, il a été montré chez la souris que l'agrégation d'α-syn serait favorisée par la sous-expression de LRRK2 (Tong *et al.*, 2010). Enfin les patients porteurs de LRRK2^{G2019S} présentent un taux d'α-syn insoluble plus bas que celui des patients souffrant d'une MP idiopathique (Mamais *et al.*, 2013). Ces données contradictoires concernant le rôle de LRRK2 sur l'agrégation de l'α-syn soulignent la complexité de l'interaction entre ces deux protéines, qui pourrait être régulée par de multiples facteurs. En outre, il a été observé qu'environ un tiers des patients porteurs de la mutation G2019S ne présentaient pas de CLs (Kalia *et al.*, 2015). Il est néanmoins difficile de lier directement cette absence de CLs à une non-interaction entre l'α-syn et LRRK2. En effet, LRRK2 pourrait aggraver la toxicité des CLs qui précipiteraient la mort des cellules qu'ils affectent. De plus, LRRK2 pourrait favoriser l'existence de formes sans doute plus toxiques de l'α-syn, telles que des oligomères ; la toxicité des CLs étant encore remis en question (plus de détails en partie I.3.2.). Ces patients pourraient également souffrir d'une forme de MP dont l'émergence et/ou la progression n'est pas liée à l'α-syn (Cresto *et al.*, 2019).

IV.1.3. Rôle de LRRK2 sur la propagation de l'alpha-synucléine

L'impact de LRRK2 a également été observé concernant la propagation de l'α-syn. Ainsi, il a été montré que la délétion de *lrrk-1* ou LRRK2 respectivement chez *C. elegans* et le rat permet de supprimer

la propagation cellule-à-cellule de l' α -syn humaine, alors que la surexpression de LRRK2 sous sa forme sauvage ou mutante G2019S favorise cette propagation, de façon kinase-dépendante (Bae *et al.*, 2018). Cette coopération de LRRK2^{G2019S} dans la propagation de l' α -syn pourrait être permise par exocytose de cette dernière, qui apparaît être favorisée par LRRK2^{G2019S} ainsi que son internalisation par les cellules environnantes (Kondo *et al.*, 2011 ; Nam *et al.*, 2021). Comme décrit précédemment, la sécrétion de l' α -syn hors du neurone est sous la dépendance des flux calciques liés à l'activité neuronale. Comme il a été montré chez des souris LRRK2^{G2019S}, l'augmentation de l'activité glutamatergique (Beccano-Kelly *et al.*, 2014 ; Matikainen-Ankney *et al.*, 2016 ; Volta *et al.*, 2017) pourraient faciliter la sécrétion d' α -syn hors de ces neurones. De plus, comme mentionné précédemment, l' α -syn et LRRK2 pourrait interagir via un partenaire commun, et ceci pourrait également être le cas concernant la propagation de l' α -syn. En effet, il a été montré que LRRK2 favoriserait la propagation de l' α -syn notamment par phosphorylation de Rab35 (Bae *et al.*, 2018), une Rab GTPase régulant le trafic vésiculaire (Grant & Donaldson, 2009). Enfin, bien que le rôle de LRRK2 sur l' α -syn reste mal-compris, cette interaction pourrait ne pas être directe et serait le résultat de l'altération des voies d'endocytose (affectant ainsi l'internalisation de l' α -syn) ou encore de l'autophagie (perturbant la dégradation lysosomale de l' α -syn). LRRK2 pourrait également influencer la localisation subcellulaire de l' α -syn, en réduisant notamment son association avec les membranes et augmentant ainsi sa présence cytosolique, ce qui pourrait favoriser son agrégation et *in fine* sa propagation.

IV.2. Mécanismes possibles d'interaction

Dans cette partie seront développés trois grands systèmes biologiques, la neuroinflammation, la mitochondrie et la synapse, dans lesquelles l' α -syn et LRRK2 apparaissent intervenir et pourraient donc y agir de concert (**Figure 21**). L'interaction entre l' α -syn et LRRK2 dans l'autophagie sera quant à elle développée plus en détails en partie V.5. .

IV.2.1. La neuroinflammation

Les cellules gliales, telles que les astrocytes et la microglie, participent à l'élimination de l' α -syn, et leur atteinte pourrait favoriser l'accumulation de cette dernière jusqu'à former une synucléinopathie (Schapansky *et al.*, 2015). Ainsi, le lien entre l' α -syn et LRRK2 peut se retrouver dans la neuroinflammation, notamment puisque cette dernière semble être dépendante de LRRK2, en lien avec son activité kinase (Daher *et al.*, 2014, 2015 ; Puccini *et al.*, 2015). De plus, il a été montré que LRRK2 régule négativement l'élimination de l' α -syn par la microglie (Maekawa *et al.*, 2016). De même, l'expression chez la souris de LRRK2 sous sa forme WT ou G2019S peut inhiber l'activation de la microglie, exacerbant potentiellement la synucléinopathie, en lien avec une dérégulation de la neuroinflammation (Novello *et al.*, 2018). LRRK2 pourrait alors agir sur l' α -syn en jouant sur la neuroinflammation associée à cette dernière, et/ou en modulant les mécanismes de défenses immunes et gliales envers les formes toxiques de l' α -syn.

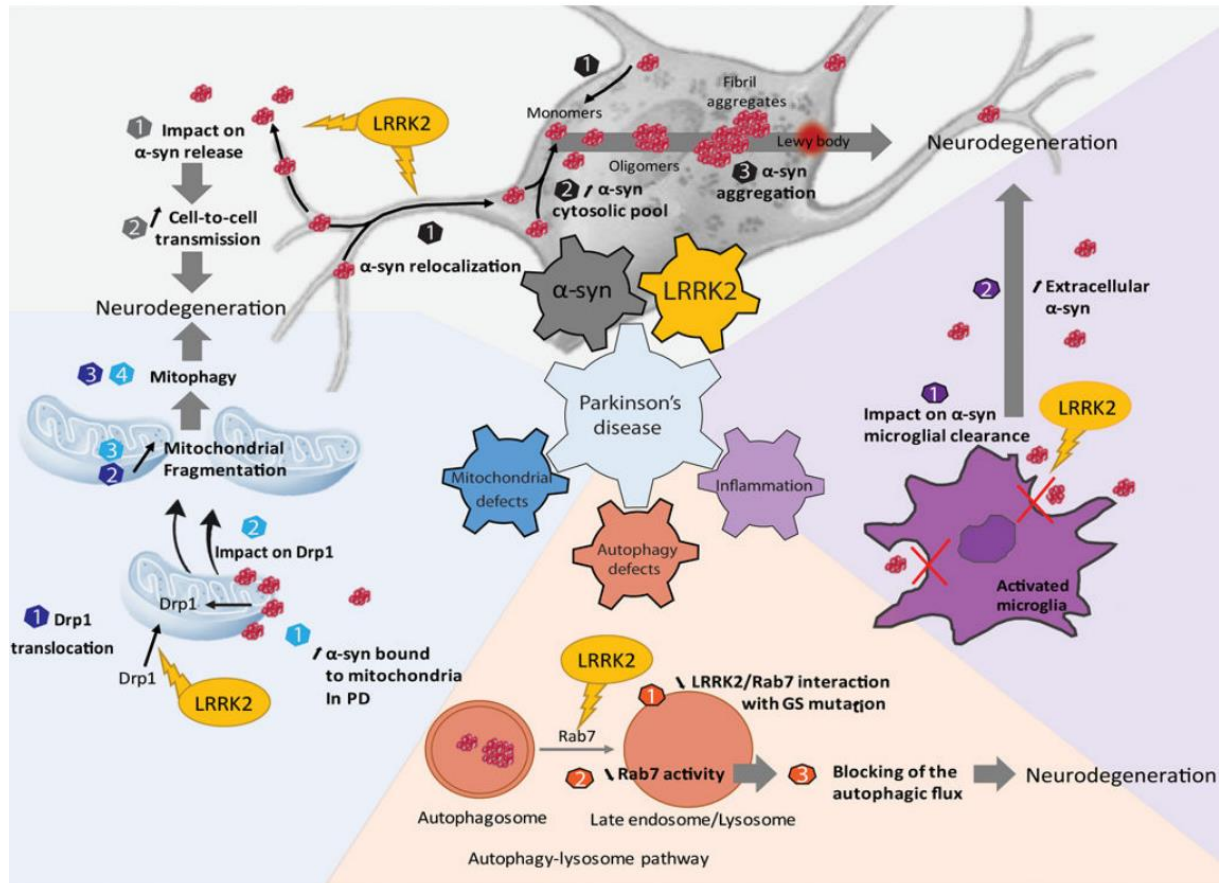


Figure 21 : Mécanismes possibles d'interaction entre l' α -synucléine et LRRK2 dans la maladie de Parkinson (Adaptée de Cresto *et al.*, 2019)

LRRK2 pourrait jouer sur la sécrétion de l' α -syn ainsi que sur sa relocalisation, ce qui favorise la transmission cellule-à-cellule de la protéine ainsi que son agrégation en augmentant le pool cytosolique de l' α -syn (partie grise). LRRK2 apparaît jouer un rôle dans trois mécanismes cellulaires dans lesquels l' α -syn prend également part : la mitochondrie (partie bleue), l'inflammation (partie violette) ainsi que le processus autophagique (partie orange).

IV.2.2. La mitochondrie

Comme cité précédemment, à la fois l' α -syn mais aussi LRRK2 ont été associées à des dysfonctionnements de la mitochondrie. Cet organe représente ainsi une des composantes physiopathologiques dans laquelle l' α -syn et LRRK2 peuvent interagir de concert. D'un côté, l' α -syn a été montrée associée à la membrane externe de la mitochondrie, notamment par liaison à la translocase TOM20, et pourrait ainsi y limiter l'import de protéines (Maio *et al.*, 2016). De plus, l'association de l' α -syn à la mitochondrie semble être majoritairement retrouvée au sein des structures cérébrales affectées par la MP, c'est-à-dire la SNpc, le ST et le cortex (Devi *et al.*, 2008). De l'autre côté, il a été estimé qu'environ 10% de LRRK2 est associée à la mitochondrie (West *et al.*, 2005).

Ainsi, l' α -syn et LRRK2 pourraient, d'une part, compromettre les fonctions mitochondriales, notamment par leur blocage conjoint du premier complexe mitochondrial (Büeler, 2009 ; Devi *et al.*, 2008 ; Loeb *et al.*, 2010), favorisant ainsi le stress oxydatif, la diminution de la production d'ATP ainsi et

que la diminution de la respiration mitochondriale. D'autre part, leur effet respectif sur la mitochondrie favoriserait l'altération de la dynamique mitochondriale, c'est-à-dire l'équilibre fission-fusion qui permet la régulation du nombre, de la longueur ou encore de l'interconnexion entre les mitochondries. Ainsi, les effets de l' α -syn, d'une part, et de LRRK2, d'autre part, sur la mitochondrie ont été très étudiés. D'une part, il a été observé la dysmorphie des mitochondries, une augmentation de leur fragmentation ainsi que des défauts de leur interconnexion chez la souris transgénique α -syn^{A53T} (Chen *et al.*, 2015 ; Martin *et al.*, 2006 ; Xie & Chung, 2012). Cet effet de l' α -syn^{A53T} sur la fragmentation a aussi été observée au sein de neurones DAergiques dérivés de patients porteurs de l' α -syn^{A53T} (Gioscia-Ryan *et al.*, 2017). L' α -syn favoriserait alors la fission des mitochondries, notamment par modulation de Drp1 (Dynamin-related protein 1) (Nakamura *et al.*, 2011 ; Xie & Chung, 2012). D'autre part, LRRK2, et notamment via sa mutation G2019S, interagirait avec Drp1 et favoriserait comme l' α -syn la fission de ces organites (Niu *et al.*, 2012 ; Su & Qi, 2013 ; Wang *et al.*, 2012). Cependant, le rôle de LRRK2 sur la morphologie des mitochondries reste encore débattu (Mortiboys *et al.*, 2010, 2015 ; Niu *et al.*, 2012 ; Su & Qi, 2013 ; Wang *et al.*, 2012). Enfin, concernant la coopération de l' α -syn et LRRK2 sur les dysfonctionnements mitochondriaux, il a été montré une plus forte proportion de mitochondries morphologiquement anormales (associée à une forte libération d'hydrogène peroxyde dans leur matrice) en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} et LRRK2^{G2019S} chez la souris transgénique qu'en cas d'expression seule de ces deux protéines (Lin *et al.*, 2009).

Ainsi, l' α -syn et LRRK2 pourraient agir conjointement sur l'homéostasie mitochondriale : d'une part, sur la chaîne respiratoire mitochondriale, notamment par blocage du premier complexe induisant *in fine* un défaut de production énergétique ; et, d'autre part, dans l'équilibre dynamique fission-fusion de la mitochondrie.

IV.2.3. La transmission synaptique

Le défaut de trafic et de relargage des vésicules de neurotransmetteurs représente un des axes majeurs de recherche sur la MP. La synapse constituerait ainsi un des sites clés des dérégulations précoces dans la pathogenèse de la maladie. De par leur morphologie et leur physiologie unique, les neurones sont fortement dépendants des processus d'endocytose, de trafic vésiculaire et membranaire mais aussi de sécrétion. Toute dérégulation de ces systèmes impacterait négativement l'intégrité de ces cellules. De plus, l' α -syn et LRRK2 ont toutes deux été montrées comme pouvant moduler la dynamique du cytosquelette (Liu *et al.*, 2012) ainsi que le transport vésiculaire (Greggio *et al.*, 2011), suggérant une fonctionnalité commune qui pourrait être perturbée au sein de la pathogenèse de la MP.

D'un côté, et comme mentionné en amont, l' α -syn semble jouer un rôle majeur au sein de la synapse, et ferait partie des nombreux éléments régulateurs du trafic et du relargage des vésicules de neurotransmetteurs (plus de détails sont apportés en partie II.5.). De l'autre côté, LRRK2 apparaît jouer le rôle de régulateur de la dynamique des vésicules synaptiques, puisqu'il a notamment été montré que son inhibition retarde l'endocytose de ces vésicules, altère la morphologie des synapses et donc également la neurotransmission (Arranz *et al.*, 2015). De plus, il a été observé au sein de souris

INTRODUCTION

LRRK2^{G2019S} une déplétion de vésicules synaptiques dans les terminaisons DAergiques, en lien avec un défaut d'endocytose et de trafic de ces vésicules (Xiong *et al.*, 2018). De même, l'invalidation de LRRK2 affecte le recyclage des vésicules synaptiques ainsi que leur redistribution, indiquant que LRRK2 régule le stockage et la mobilisation des vésicules aux terminaisons présynaptiques (Piccoli *et al.*, 2011). En outre, le rôle de LRRK2 dans la transmission se retrouve d'une part dans l'identification de ses substrats, par exemple l'endophiline A1, dont la phosphorylation facilite la formation des vésicules de neurotransmetteurs (Ambroso *et al.*, 2014 ; Matta *et al.*, 2012). LRRK2 phosphoryle également la synaptojanine 1, perturbant ainsi son recrutement par l'endophiline A1 et perturbant *in fine* l'équilibre de la régulation des vésicules (Islam *et al.*, 2016 ; Pan *et al.*, 2017). LRRK2 peut aussi phosphoryler l'auxiline (Nguyen & Krainc, 2018), impliquée dans l'endocytose des vésicules synaptiques et dont la perte chez la drosophile a été associée à une accélération de la mort des neurones DAergiques en lien avec la synucléinopathie (Song *et al.*, 2017). D'autre part, le rôle de LRRK2 à la synapse a pu être établi par l'identification de ses interacteurs. Il a notamment été identifié la dynamine, qui participe à la formation des vésicules d'endocytose et intervient dans l'organisation des microtubules ; ainsi que la synapsine 1, qui prend part à l'ancrage des vésicules au cytosquelette (Piccoli *et al.*, 2014 ; Stafa *et al.*, 2014 ; Sundborger *et al.*, 2011). LRRK2 est également capable d'interagir avec Rab5 afin de moduler le trafic des endosomes précoces (Shin *et al.*, 2008). Enfin, il a récemment été observé au sein des GP de sujets atteints de la MP et porteurs de LRRK2^{G2019S}, la présence d'agrégats contenant la protéine NSF (N-ethylmaleimide sensitive factor) qui est essentielle à la machinerie présynaptique (Pischedda & Piccoli, 2021). L'ensemble de ces données tendent à montrer le rôle perturbateur de LRRK2 dans un ensemble de systèmes prenant part à la régulation de la neurotransmission, induisant *in fine* la dégénérescence des neurones affectés. Ceci a notamment pu être montré au sein de neurones DAergiques dérivés de cellules de patients porteurs de la mutation G2019S (Nguyen & Krainc, 2018)

Ainsi, l' α -syn et LRRK2 pourraient jouer conjointement dans la dérégulation des systèmes contrôlant la neurotransmission. Cela serait probablement d'autant plus le cas au sein des neurones DAergiques faisant défaut dans la MP, puisque l' α -syn a été décrite comme pouvant également perturber l'homéostasie de la DA (plus de détails sont apportés en partie II.5.) tandis que LRRK2, et notamment via sa mutation G2019S, affecterait les récepteurs de la DA (Migheli *et al.*, 2013 ; Rattu *et al.*, 2017). Toutefois, il a également été montré que la surexpression de l' α -syn dans la voie nigrostriée chez le rat entraîne une suractivation des neurones subthalamiques - comme cela peut être retrouvé chez les patients atteints de la MP et au sein des modèles neurotoxiques de la MP - et que cet effet peut être normalisé en délétant LRRK2 ou en inhibant son activité kinase, mais sans effet neuroprotecteur pour autant (Andersen *et al.*, 2018). Au final, il est important de mettre en lien la régulation synaptique avec la mitochondrie (pour le besoin énergétique) mais aussi l'autophagie (pour l'élimination des vésicules et organites défectueux) qui mettent en jeu des mécanismes dans lesquelles l' α -syn et LRRK2 semblent jouer conjointement.

V. Maladie de Parkinson et autophagie

V.1. Autophagie

V.1.1. Définition et historique

Au sein des cellules eucaryotes, l'autophagie joue un rôle majeur dans la dégradation des organites dysfonctionnels et/ou vieillissants - tels que les mitochondries ou le RE - ou des agrégats protéiques (Galluzzi *et al.*, 2017 ; Levine & Kroemer, 2008). L'importance de l'autophagie dans le maintien de la viabilité cellulaire a notamment pu être montré par des expériences d'inhibition du processus (par pharmacologie ou par une stratégie d'ARN interférence) qui ont induit une mort cellulaire par apoptose (Boya *et al.*, 2005). De plus, la déficience systémique de l'autophagie n'est pas viable et apparaît également essentielle au développement et à la différenciation (Komatsu *et al.*, 2006 ; Kuma *et al.*, 2004 ; Tsukamoto *et al.*, 2008). Ainsi, le mot « autophagie » provient étymologiquement du grec « auto » pour soi-même et « phagie » pour manger (Ravikumar *et al.*, 2010). Le pionnier des études sur l'autophagie se trouve sans doute en Christian de Duve, qui mit en lumière la présence du lysosome dans la cellule (De Duve *et al.*, 1955), lui valant le Prix Nobel de Médecine ou Physiologie de 1974. Ensuite, les mécanismes moléculaires liés à ce processus ont pu être clairement identifiés par la découverte de l'équipe de Yoshinori Ohsumi chez la levure *Saccharomyces Cerevisiae* de la famille de gènes *Atg* (Autophagy-related genes) qui régulent le processus (Tsukada & Ohsumi, 1993), ce qui lui valut le Prix Nobel de Physiologie et Médecine de 2016. Ces mécanismes sont très conservés avec l'évolution et les acteurs initialement identifiés chez la levure détiennent des orthologues à fonctions analogues dans les cellules de mammifères. L'autophagie trouve ainsi son importance dans deux aspects distincts mais liés dans le maintien l'homéostasie cellulaire : assurer la dégradation d'éléments potentiellement toxiques au sein de la cellule et permettre le recyclage de nutriments issus de la dégradation de protéines et d'organites, tout ceci sans besoin énergétique en ATP notamment (Lilienbaum, 2013 ; Mizushima & Klionsky, 2007). Ce processus est véritablement un point d'interconnexion entre des voies protéostatique et métabolique qui peuvent déterminer le devenir de la cellule (Wong *et al.*, 2020).

V.1.2. Différents types d'autophagie

Trois grands types d'autophagie ont pu être caractérisés suivant leurs mécanismes propres de prise en charge des cargos à dégrader ainsi que leur mode d'induction, tout en ayant le lysosome comme effecteur commun (**Figure 22**). Sont ainsi retrouvées la microautophagie, l'autophagie permise par les protéines chaperonnes (CMA) et la macroautophagie (Cuervo, 2004). La microautophagie a pour but la dégradation de petits composants cytoplasmiques qui se retrouvent directement invaginés et fusionnés au lysosome, sans passer par la formation d'un autophagosome (Farré & Subramani, 2004 ; Mijaljica *et al.*, 2011 ; Oku & Sakai, 2018). Ensuite, la CMA permet la dégradation sélective de protéines reconnues par leur domaine KFERG (détenues par environ 30 à 40% des protéines), ou VKKDQ, auquel se lient des

INTRODUCTION

protéines chaperonnes cytosoliques telle que Hsc70 (Heat shock cognate 70) (Alfaro *et al.*, 2019 ; Chiang & Dice, 1988 ; Kaushik & Cuervo, 2018). Ce complexe ainsi formé est alors reconnu par la protéine lysosomale LAMP2A (Lysosomal-Associated Membrane Protein 2A), qui se multimérise permettant l'internalisation du substrat au sein du lysosome pour y être dégradé (Kaushik & Cuervo, 2018). LAMP2A est alors un marqueur clé de la CMA et représente l'étape limitante de ce processus, puisque des lysosomes déletés de cette protéine sont incapables de CMA (Cuervo & Dice, 1996 ; Kaushik & Cuervo, 2018). Il est important de mentionner que, dans le cas de CMA, les protéines doivent être transloquées au lysosome sous forme de monomère (Finkbeiner, 2019). Enfin, et contrairement aux deux formes d'autophagie précédentes, la macroautophagie se discrimine par la nécessité de la formation d'un autophagosome autour des substrats à dégrader. Les caractéristiques de la macroautophagie - dénommée plus généralement autophagie au sein de cette thèse puisqu'elle représente la forme la plus commune (Pierzynowska *et al.*, 2018) - seront plus particulièrement détaillées dans les parties suivantes.

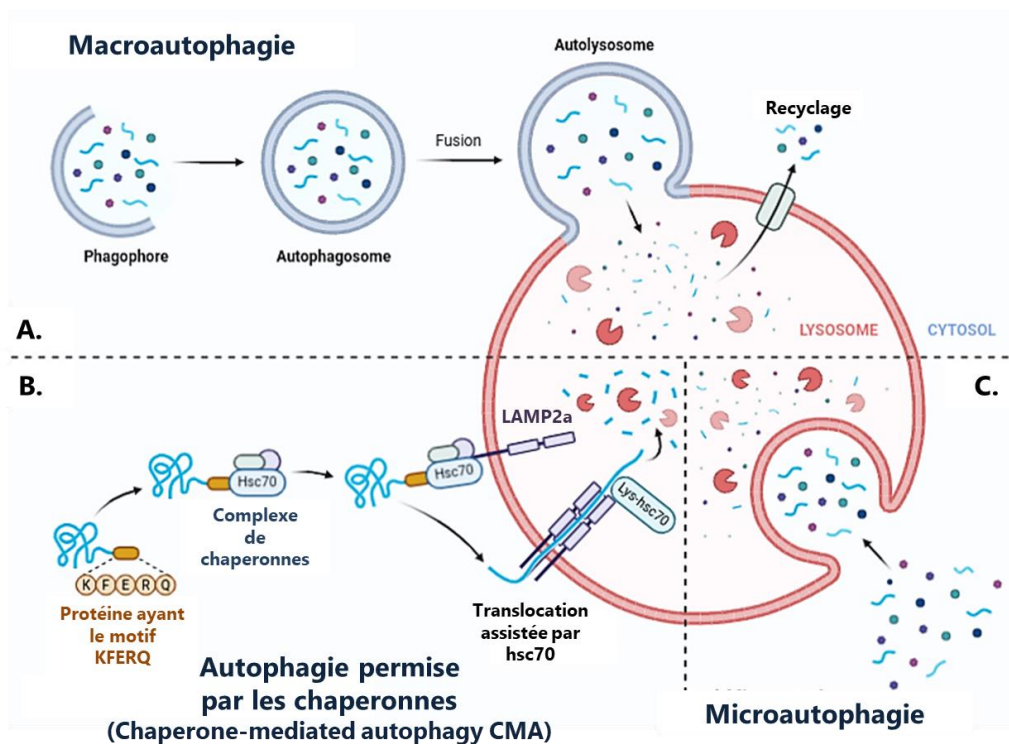


Figure 22 : Trois grands types d'autophagie chez le mammifère (Adaptée de Cuervo, 2004 ; Finkbeiner, 2019).

Les processus de macroautophagie s'effectuent par la séquestration de cargos au sein d'un autophagosome puis leur dégradation est permise par la fusion autophagosome-lysosome. Quant à elle, la dégradation par microautophagie se produit par invagination membranaire d'un contenu cytosolique à l'intérieur du lysosome. Enfin, l'autophagie par les chaperonnes se réalise par interaction entre ces protéines (telle que hsc70), liant les protéines détentrices d'un motif de reconnaissance spécifique, et le récepteur lysosomal LAMP2a (réalisée via BioRender).

V.1.3. Régulation et mécanismes moléculaires

Tout d'abord, il est important de rappeler que l'autophagie est un processus cytoplasmique qui peut être constitutif ou basal, c'est-à-dire non-lié à un stress et qui s'effectue en routine par la cellule

afin d'y maintenir l'homéostasie en termes de recyclage intracellulaire et de régulation métabolique ; et l'autophagie liée à un stress. Ces deux formes sont plus ou moins importantes suivant le type cellulaire. De plus, l'autophagie peut être sélective, prenant en charge des protéines spécifiques ; ou à l'inverse, non-sélective, c'est-à-dire en prenant en charge un contenu cytoplasmique non-spécifiquement choisi. Qu'elle soit constitutive, induite par un stress, sélective ou non, le processus d'autophagie peut se découper en différentes étapes successives, gouvernées par les protéines de la famille Atg (**Figure 23**).

V.1.3.1. Induction et initiation

L'autophagie s'initie par la biogenèse d'un phagophore, structure double-membranaire qui vise à englober les éléments cytoplasmiques à dégrader. Ce processus se révèle ainsi sensible aux signaux environnants et peut se produire à la suite de stress de multiples origines. L'un des stress majoritaires réside dans la privation nutritive, qui induit l'inhibition de l'activité kinase de mTOR (mammalian Target Of Rapamycin), appartenant au complexe mTORC1 (mTOR Complex 1) situé à la membrane lysosomale. En cas de concentration optimale en AA, glucose et cholestérol intracellulaires (Castellano *et al.*, 2017), mTORC1 favorise la prolifération cellulaire, la production de la biomasse et inhibe alors l'activité de la Ser/Thr kinase ULK1/Atg1 (UNC-51-like autophagy activating Kinase) qui participe à l'induction de l'autophagie (Pierzynowska *et al.*, 2018). Dans le cas d'une privation nutritive, le ratio AMP (Adénosine monophosphate)/ATP augmente, activant ainsi l'AMPK (AMP Kinase) (Bujak *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2017). L'AMPK va ensuite phosphoryler et activer ULK1 (Egan *et al.*, 2011), qui n'est pas réprimée par mTORC1 dans ces conditions appauvries en nutriments, permettant *in fine* l'initiation du processus, en commençant par la biogenèse du phagophore. Cette forme d'induction de l'autophagie est un exemple classique d'autophagie non-sélective, durant laquelle le but premier est de rapidement recycler des composants cytosoliques pour résister à l'absence d'apport nutritif. D'autres stress externes peuvent également induire l'autophagie, telle que l'hypoxie ou un choc thermique (Lahiri & Klionsky, 2019).

L'induction de l'autophagie est régulée par deux complexes macromoléculaires. Le premier complexe se compose de ULK1, Atg13, Atg101 et FIP200/Atg17 (Focal adhesion kinase family Interacting Protein of 200 kDa) (Stavoe & Holzbaur, 2020). Une fois activée par déphosphorylation (par exemple en réponse à un stress nutritif et/ou énergétique), ULK1 phosphoryle des composants du second complexe d'induction de l'autophagie ou complexe de nucléation (Feng *et al.*, 2014 ; Kamada *et al.*, 2000 ; Russell *et al.*, 2014 ; Zhou *et al.*, 2018). Ce dernier est composé de Beclin1/Atg6, Atg9, Barkor/Atg14, VPS34 (Vacuolar Protein Sorting 34)/PI3K (Phosphoinositide 3 Kinase) ou encore VPS15/PIK3R4 (Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 4) (Itakura *et al.*, 2008 ; Matsunaga *et al.*, 2009 ; Sun *et al.*, 2008 ; Zhong *et al.*, 2009). Ce complexe de nucléation activé par ULK1 va ainsi permettre le recrutement et la formation de phosphatidylinositol-3-phosphate (PI3P), essentiel à la formation de la double-membrane du phagophore au niveau du site de prise en charge des cargos (Choi *et al.*, 2016 ; Kihara *et al.*, 2001 ; Obara *et al.*, 2006).

V.1.3.2. Elongation et maturation

L'élongation de la membrane du phagophore est permise par deux réactions de conjugaison semblable à l'ubiquitination (Choi *et al.*, 2013). La protéine Atg12 se retrouve ainsi conjuguée à Atg5, grâce à Atg7 et Atg10 (Ichimura *et al.*, 2000 ; Mizushima *et al.*, 1998). Ce complexe conjugué recrute alors Atg16L1, formant ainsi un tétramère nécessaire à l'élongation du phagophore. La deuxième étape majeure se trouve dans la conjugaison de Atg5-Atg12-Atg16L1 à la protéine adaptatrice Atg8 (Ravikumar *et al.*, 2010). Contrairement à la levure où il n'en existe qu'une seule forme, plusieurs orthologues d'Atg8 sont retrouvés chez les mammifères : LC3A/B/C (microtubule-associated protein Light Chain 3) et GABARAP/L1/L2 (Gamma-AminoButyric Acid Receptor-Associated Protein). Toutefois, il a été décrit que seul l'isoforme B de LC3 corrèle avec l'augmentation des vésicules autophagiques (Barth *et al.*, 2010). Ainsi, cette conjugaison nécessite au préalable le clivage carboxyterminal d'Atg8 par Atg4, afin d'exposer un résidu glycine. Dans le cas de LC3, son précurseur est clivé par la protéase Atg4 pour former la forme LC3-I. L'action d'Atg7 suivi d'Atg3 permet *in fine* la conjugaison de phosphatidyléanolamine à LC3-I, formant ainsi LC3-II (Choi *et al.*, 2013 ; Mizushima *et al.*, 2001 ; Suzuki *et al.*, 2001). Ce dernier restera intégré à la membrane de l'autophagosome jusqu'à l'étape de fusion avec le lysosome, formant ainsi un marqueur spécifique de cet organite (Ravikumar *et al.*, 2010).

Par la suite, Atg9 permet l'élongation du phagophore par apport de lipides, notamment en faisant des va-et-vient entre la membrane cellulaire et celle de l'autophagosome en formation. Atg9 interagit également avec Atg2, homologue du transporteur lipidique VPS13, qui pourrait ainsi permettre l'apport de lipides au phagophore (Kumar *et al.*, 2018). Toutefois, la source lipidique participant à cette élongation reste débattue. Théoriquement, l'apport pourrait provenir de toute membrane lipidique, que ce soit la membrane plasmique (Hollenbeck, 1993 ; Ravikumar *et al.*, 2010), la mitochondrie (Hailey *et al.*, 2010), l'appareil de Golgi (Vaart & Reggiori, 2010), le RE (Hamasaki *et al.*, 2013 ; Hayashi-Nishino *et al.*, 2009), mais aussi du recyclage des endosomes (Puri *et al.*, 2018) ou encore à partir de précurseurs lipidiques déjà présents au sein de la cellule pour une formation *de novo* (Guo *et al.*, 2018). Néanmoins, il s'avère que le rôle du RE serait crucial à l'élongation du phagophore par la formation de l'omégasome, que cela soit dans l'apport de lipides mais aussi en tant que plateforme d'initiation de la formation du phagophore (Hayashi-Nishino *et al.*, 2009). Finalement, la membrane du phagophore va se refermer, formant ainsi l'autophagosome. Les complexes d'initiation et élongation se dissocient de la structure double-membranaire, à l'exception d'Atg8 qui reste ancré à l'autophagosome comme décrit précédemment (Cebollero *et al.*, 2012 ; Mizushima *et al.*, 2003).

V.1.3.3. Fusion et dégradation

Une fois formé et mature, l'autophagosome se déplace au sein de la cellule grâce aux microtubules, et notamment par les moteurs moléculaires kinésine et dynéine qui permettent à ce premier de rejoindre le lysosome (Jahreiss *et al.*, 2008 ; Kimura *et al.*, 2008 ; Ravikumar *et al.*, 2005). Contrairement à la levure, cette étape de fusion au sein des cellules de mammifères requiert au préalable

la fusion avec l'endosome, formant l'amphisome, permettant la diminution du pH interne nécessaire à la fusion au lysosome (pH ~4,5) ainsi qu'au fonctionnement des enzymes lysosomales (Glick *et al.*, 2010 ; Ravikumar *et al.*, 2010). La fusion autophagosome-lysosome est ainsi favorisée par un ensemble d'acteurs regroupant LAMP1, Rab7, les protéines de la famille SNARE, l'ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport) et les protéines VPS de classe C (Ravikumar *et al.*, 2010).

La formation de l'autophagolysosome (ou autolysosome) permet alors la digestion des cargos pour un éventuel recyclage de leurs composants (AA, glucides, acides gras, nucléotides...) au bénéfice d'autres processus et composants cellulaires (Pierzynowska *et al.*, 2018). Cette protéolyse autophagique est notamment permise par les protéases à cystéine cathepsines B et L ainsi que la protéase à aspartyl, cathepsine D, et les hydrolases acides les plus abondantes dans le lysosome (Dikic & Elazar, 2018). Les composants pris en charge sont ainsi dégradés, en même temps que la membrane interne de l'organe et les protéines qui lui sont associées (Pierzynowska *et al.*, 2018).

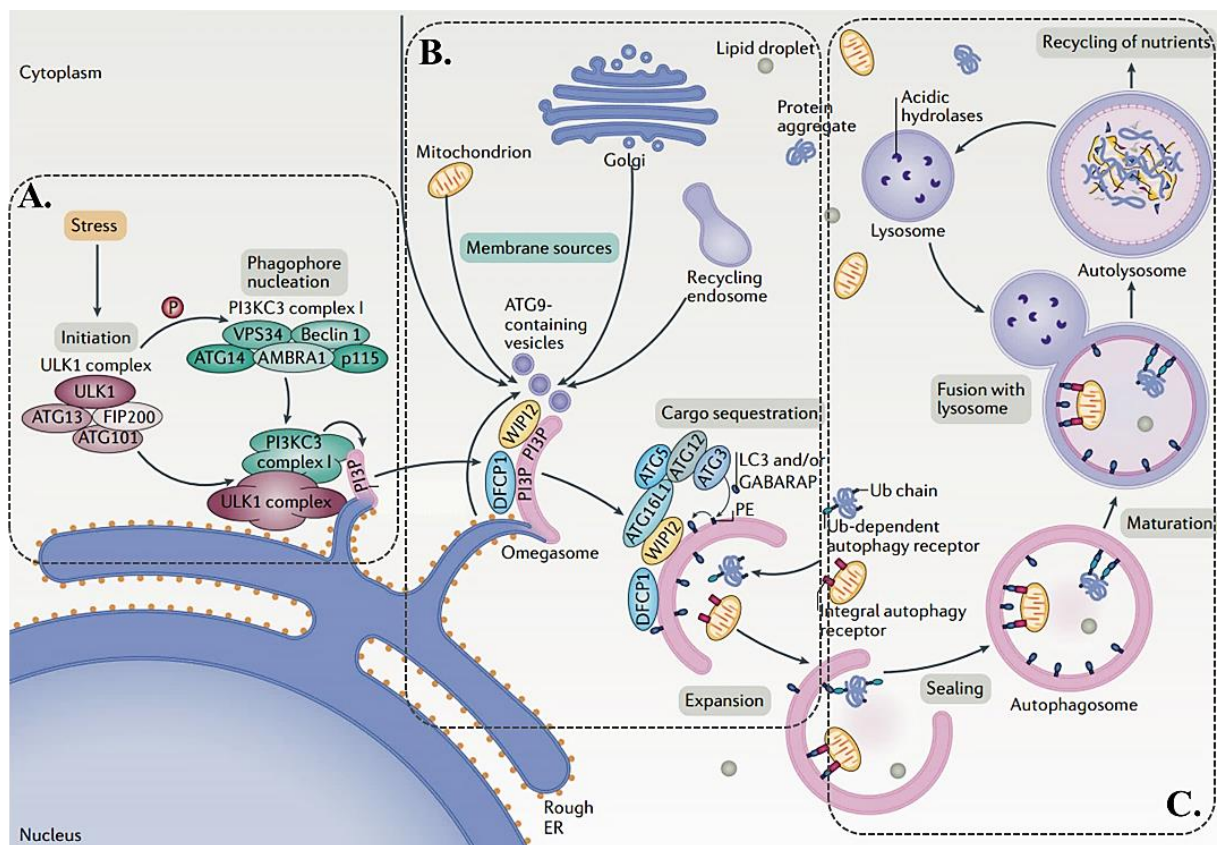


Figure 23 : Mécanismes moléculaires de la macroautophagie (Adaptée de Dikic & Elazar, 2018).

A. Les signaux permettant l'induction de l'autophagie ont diverses origines (privation nutritive, hypoxie, stress oxydatif, stress du RE...). La principale cible de ces voies d'induction se trouve dans le complexe composé d'ULK1, Atg13, FIP200 et Atg101, qui permet la nucléation du phagosome en phosphorylant des éléments d'un complexe constitué notamment de PI3K, VPS34, Beclin1 et Atg14. En retour, ce complexe active la production de PI3P au niveau du RE. **B.** Ainsi produit, ce PI3P permet la mobilisation du complexe composé d'Atg2, Atg5 et Atg16L1. Ce dernier permet la conjugaison d'Atg8 (LC3 ou GABARAP) à la membrane du phagosome en formation et qui s'expand par apport de membranes de multiples origines (RE, mitochondrie, appareil de Golgi, endosome recyclé) jusqu'à se refermer en séquestrant les cargos qui doivent être dégradés. **C.** L'autophagosome est ainsi formé, il mature et finalement fusionne avec le lysosome pour former l'autolysosome. La dégradation des cargos est ainsi permise grâce aux hydrolases lysosomales et les résidus de dégradation pourront être recyclés afin d'être de nouveau utilisés par la cellule.

V.1.4. L'autophagie sélective

Initialement décrite comme mécanisme de dégradation non-spécifique, il a depuis été décrit de nombreuses formes d'autophagie dite « sélective ». Dans le cas de l'autophagie non-sélective, le contenu de l'autophagosome est pris en charge de façon non-spécifique durant la formation de l'autophagosome. A l'inverse, dans le cas de l'autophagie sélective, des cargos ou organites spécifiques sont reconnus par des récepteurs qui permettent de les lier à la membrane de l'autophagosome par association directe avec Atg8 (Martens, 2016). L'autophagie sélective peut alors être décrite comme un mécanisme de protection cellulaire face à un stress majeur, sans liaison apparente avec un stress nutritif, et qui menace son intégrité à plus ou moins long terme (Zaffagnini & Martens, 2016). Chez la levure, la protéine d'échafaudage Atg11 a pu être identifiée comme récepteur participant au recrutement de substrats à dégrader (Lynch-Day & Klionsky, 2010). Au sein de la cellule de mammifère, le principal récepteur de l'autophagie sélective est p62, ou Sequestosome 1 (SQSTM1), qui peut interagir avec des cargos ubiquitinylés grâce à son domaine UBAN (Ubiquitin Binding in ABIN and NEMO), et avec Atg8 via son domaine LIR (LC3-Interacting Region) ou AIM (ATG8 family-interacting motif) (Dikic, 2017 ; Pankiv *et al.*, 2007). Depuis, d'autres récepteurs ont été caractérisés telle que l'optineurine (Finkbeiner, 2019). Ces récepteurs peuvent ainsi reconnaître spécifiquement un seul type ou un ensemble de cargos, avec une possible redondance entre eux. Différents types d'autophagie sélective ont pu être caractérisés, notamment sans doute la plus connue la mitophagie. Comme décrit précédemment, elle représente la voie principale de dégradation et recyclage des mitochondries défectueuses et qui permet ainsi leur recyclage tout en prévenant notamment la formation d'EROs (Youle & Narendra, 2011). Il a également été caractérisé la RE-phagie (pour le RE), la ribophagie (pour le ribosome), la lysophagie (pour le lysosome), l'agrèphagie (pour les protéines agrégées), la lipophagie (pour les gouttelettes lipidiques)... (Kirkin & Rogov, 2019)

V.1.5. Lien avec le protéasome

L'autophagie partage son rôle dans la dégradation cellulaire avec d'autres voies telles que celle du système ubiquitine-protéasome (Bingol & Sheng, 2011). Bien que les voies du protéasome et de l'autophagie aient longtemps été considérées comme indépendantes, leur rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire laisse présager qu'elles pourraient agir de concert (Lilienbaum, 2013). D'une part, ces deux systèmes partagent des acteurs communs, notamment en ce qui concerne l'ubiquitination des protéines à dégrader (Dikic, 2017 ; Shin *et al.*, 2020). De plus, p62, précédemment décrite comme récepteur de l'autophagie sélective, peut aussi interagir avec des sous-unités du protéasome et ainsi permettre la dégradation de protéines cibles (Nam *et al.*, 2017 ; Wooten *et al.*, 2006). Ainsi, en cas de blocage du protéasome, p62 peut prendre en charge des substrats ubiquitinylés, initialement destinés à la dégradation protéasomale, pour les amener jusqu'à l'autophagosome (Dikic, 2017). Ainsi, l'ensemble de ces données tendent à montrer que p62 serait un élément central de la coordination fonctionnelle entre le protéasome et l'autophagie. D'autre part, il a été montré que l'inhibition du protéasome - ou sa trop grande mobilisation - permettait d'induire l'autophagie (Dikic,

2017) et, ainsi, des inhibiteurs du protéasome peuvent être utilisés *in vitro* afin d'induire l'autophagie (Bang *et al.*, 2014 ; Jänen *et al.*, 2010 ; Lan *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2010). Il existerait donc un phénomène de compensation, durant lequel l'autophagie prend le relais lorsque la dégradation liée au protéasome est en défaut, prévenant ainsi l'accumulation d'éléments potentiellement toxiques au sein de la cellule (Shin *et al.*, 2020). A l'inverse, peu d'études ont montré l'activation du protéasome en réponse au dysfonctionnement de l'autophagie (Korolchuk *et al.*, 2009). En effet, ces deux systèmes ne prendraient pas en charge les mêmes types de substrats. L'autophagie assumerait la dégradation du matériel cytoplasmique de grande taille et à durée de vie longue, alors que le protéasome serait plutôt dédié aux petits matériels à faible durée de vie (Dikic, 2017). Toutefois, il a été observé qu'en cas de blocage pharmacologique du flux autophagique, des protéines telles que l' α -syn phosphorylée sur la S129 pouvait alors être prise en charge par le protéasome afin de prévenir son accumulation (Arawaka *et al.*, 2017). Enfin, la coopération entre ces deux systèmes apparaît régulée par l'environnement cellulaire, et notamment par la biodisponibilité énergétique (Lilienbaum, 2013). En effet, le système de dégradation lié au protéasome nécessite une concentration intracellulaire élevée en ATP, contrairement à l'autophagie dont le fonctionnement est indépendant de ce dernier. Ainsi, l'induction de l'autophagie serait favorisée lors d'une carence en ATP, d'autant plus que dans ce cas la concentration en AMP augmente, activant l'AMPK qui inhibe mTOR, induisant finalement l'autophagie (Lilienbaum, 2013).

V.1.6. Spécificités de l'autophagie dans les neurones

L'autophagie est un processus cellulaire d'une grande importance dans le maintien de l'intégrité neuronale, que ce soit dans l'activité et le remodelage synaptique, la plasticité axono-dendritique ou encore le recyclage des mitochondries (Albanese *et al.*, 2019). Ainsi, toute perturbation du processus peut se révéler délétère pour les neurones, et il a ainsi pu être montré une neurodégénérescence induite par l'inhibition du processus - par perte d'Atg5 et Atg7 - spécifiquement dans les neurones (Hara *et al.*, 2006 ; Komatsu *et al.*, 2006). L'autophagie est ainsi très importante d'une part dans le maintien de l'homéostasie neuronale et de la communication synaptique (Lynch-Day *et al.*, 2012). D'autre part, ce processus est d'autant plus important dans les neurones puisque ces derniers sont post-mitotiques - leur différenciation s'arrêtant durant l'embryogenèse - et doivent donc survivre en lien avec la longévité de l'organisme. Au sein de cellules mitotiques, l'accumulation de protéines mal-conformées et/ou agrégées et d'organites endommagés peut être diluée au fil des divisions cellulaires, ce qui n'est pas le cas des neurones. Par ailleurs, en comparaison avec d'autres cellules dont l'autophagie privilégie la génération d'AA par exemple, l'autophagie neuronale favoriserait l'élimination d'organites endommagés et/ou le remodelage neuritique (Chu, 2006). De plus, les neurones apparaissent d'autant plus dépendants de l'autophagie constitutive, par rapport à d'autres types cellulaires (Stavoe & Holzbaur, 2019) et ils n'apparaissent pas développer de forte réponse autophagique en réponse à une privation nutritive (Kulkarni *et al.*, 2019 ; Maday & Holzbaur, 2016 ; Mizushima *et al.*, 2004), laissant présager le rôle mineur de mTOR dans la régulation de l'autophagie neuronale. Cette faible capacité à réagir face à un stress pourrait contribuer à leur vulnérabilité face à l'accumulation de protéines agrégées telle que l' α -syn dans le cas de la MP (**Figure 24**).

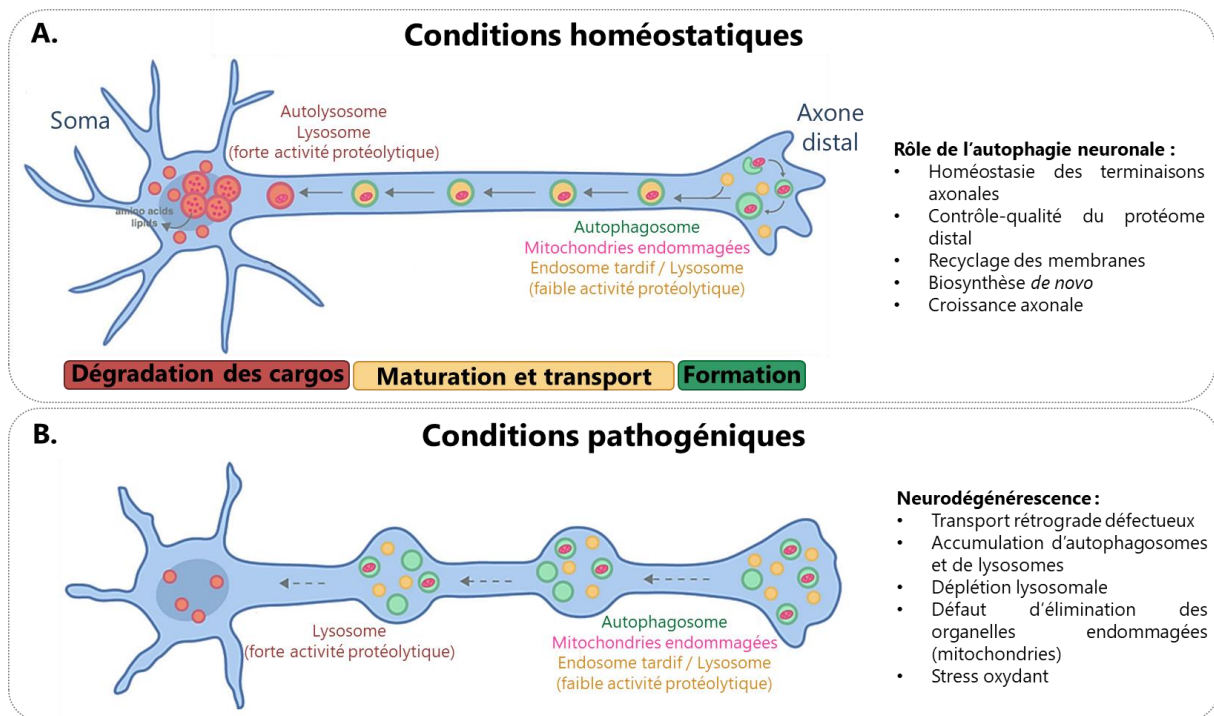


Figure 24 : Modélisation de l'autophagie neuronale en conditions homéostatiques ou pathogéniques (Adaptée de Maday, 2016).

A. Sous conditions homéostatiques, les autophagosomes se forment majoritairement au sein de l'axone distal. Ils vont ensuite être transportés de façon rétrograde jusqu'au soma. Au cours de ce transport, les autophagosomes mûrissent et peuvent fusionner avec des lysosomes, particulièrement présents dans le soma, pour former des autolysosomes afin d'y dégrader les cargos tels que des mitochondries endommagées. **B.** Sous conditions pathogéniques, des défauts du transport rétrograde impactent négativement la maturation des autophagosomes et la formation des autolysosomes. Les lysosomes peuvent également être déplétés et/ou dysfonctionnels. Il en résulte une accumulation d'organites dysfonctionnels au sein des axones dystrophiques, qui peut induire la formation de stress oxydant et *in fine* la dégénérescence des axones et donc du neurone.

Ainsi, les mécanismes de l'autophagie ont dû s'adapter aux spécificités complexes des neurones. En effet, ces cellules apparaissent compartimentalisées, avec des mécanismes de trafic à longue distance, une plasticité liée à l'activité synaptique ainsi que de fortes demandes métaboliques (notamment liées à des stimulations répétées) et donc un haut niveau de stress (Stavoe & Holzbaur, 2019). Il a également été montré que l'activité et/ou l'intégrité synaptique ainsi que les processus autophagiques axonaux étaient finement liés (Hernandez *et al.*, 2012 ; Okerlund *et al.*, 2017 ; Tang *et al.*, 2014). De plus, le soma neuronal est le site majeur de biosynthèse et de dégradation protéique, en lien avec la présence majoritaire du RE, du Golgi et des lysosomes en ce lieu. Toutefois, les lysosomes seraient également abondants dans les axones, mais ils seraient moins acides et avec une plus faible concentration enzymatique que ceux présents dans le soma (Cheng *et al.*, 2018 ; Gowrishankar *et al.*, 2015). Le soma se trouve donc éloigné des régions à haute activité telles que les synapses, notamment celles des neurones DAergiques à activité pulsatile constante, qui nécessitent pourtant une plus forte demande de dégradation et recyclage. Ainsi, il a été observé au sein de modèles *in cellulo* et *in vivo* que l'autophagosome prend en charge les éléments à dégrader au sein de l'axone distal (Bunge, 1973 ; Hollenbeck, 1993 ; Mizushima *et al.*, 2004 ; Soukup *et al.*, 2016 ; Stavoe *et al.*, 2016). A l'inverse, la formation des autophagosomes serait plus rare au sein des dendrites et du soma, dans lequel les

autophagosomes néoformés seraient également moins dynamiques et matures que ceux synthétisés dans l'axone distal (Maday & Holzbaur, 2014 ; 2016). Au niveau de l'axone, les étapes d'initiation jusqu'à la formation de l'autophagosome seraient similaires à celle déterminées chez la levure et dans les autres cellules de mammifère (Maday & Holzbaur, 2014). Toutefois, contrairement à la majorité des cellules où l'autophagie peut être induite par un stress nutritif, une particularité des neurones réside dans la formation des autophagosomes sans lien avec ce type de stress (Cheng *et al.*, 2015 ; Kuma & Mizushima, 2010 ; Maday, 2012 ; Maday & Holzbaur, 2014, 2016 ; Stavoe *et al.*, 2016). Egalement, le rapport LC3-I/LC3-II apparaît bien plus important dans les neurones qu'au sein d'autres cellules, notamment puisque la forme cytosolique LC3-I est fortement exprimée dans le cerveau (Klionsky *et al.*, 2016). De façon intéressante, il a été montré au sein des neurones qu'Atg9 – appartenant au complexe de nucléation – colocalise et est transportée avec les vésicules synaptiques (Stavoe *et al.*, 2016). Il n'y a cependant pas d'indications d'un rôle de ces vésicules dans l'apport lipidique nécessaire à l'élongation de l'autophagosome. Enfin, un transport rétrograde des autophagosomes s'effectue le long des microtubules, notamment grâce au moteur moléculaire dynéine (Cheng *et al.*, 2015 ; Maday, 2012 ; Maday & Holzbaur, 2014). Comme décrit précédemment, les lysosomes sont très compétents au niveau du soma neuronal, c'est pourquoi cette étape de transport rétrograde de l'autophagosome est essentielle à la formation de l'autophagolysosome, lieu de la dégradation (Fu & Holzbaur, 2014 ; Wong & Holzbaur, 2015).

Finalement, l'ensemble de ces éléments démontrent qu'il est nécessaire de prendre en considération deux paramètres majeurs dans l'étude de l'autophagie neuronale : la forte activité autophagique basale – afin d'y maintenir l'homéostasie et l'intégrité de la cellule, en lien avec son activité de neurotransmission – et la forte sensibilité au trafic vésiculaire.

V.I.7. Physiopathologie

Le processus d'autophagie serait moins efficace avec le vieillissement (Choi *et al.*, 2013 ; Cuervo & Dice, 2000), et plus particulièrement dans le cerveau (Lipinski *et al.*, 2010). L'induction de l'autophagie, notamment par inhibition de mTOR, permettrait d'augmenter la longévité de divers modèles animaux (Kapahi *et al.*, 2010 ; Pyo *et al.*, 2013 ; Simonsen *et al.*, 2008 ; Vellai *et al.*, 2009). En outre, le rôle du lysosome se révèle central dans la régulation de l'autophagie, depuis l'induction du processus (par la présence de mTORC1 à sa membrane) jusqu'à la dégradation des cargos. Il a été montré que les fonctions lysosomales déclinent avec l'âge, notamment au sein du foie, des muscles et du cerveau (Lawrence & Zoncu, 2019). Le lien entre l'autophagie et le vieillissement est d'autant plus important à prendre en compte puisque ce dernier représente le risque majeur au développement des MNDs. Il a ainsi été montré que des défauts de l'autophagie au sein du système nerveux peut entraîner une défaillance synaptique, une dégénération axonale et *in fine* la perte neuronale (Kuhlmann & Milnerwood, 2020; Tagliaferro & Burke, 2016). Egalement, la majorité des modèles animaux déficients en autophagie meurent par neurodégénérescence, associée à une accumulation d'agrégats de protéines ubiquitinyliées (Karsli-Uzunbas *et al.*, 2014 ; Komatsu *et al.*, 2006).

V.2. Maladie de Parkinson et autophagie

L'hypothèse selon laquelle l'autophagie jouerait un rôle central dans la physiopathologie de la MP est fondée sur des données de génétique humaine. En effet, plus d'une quarantaine de gènes associés à la MP joue également un rôle au sein du processus autophagique (Gan-Or *et al.*, 2015 ; Klein & Mazzulli, 2018). Ceci est tout d'abord à mettre en lien avec les formes de la MP liées aux mutations de PINK1 et Parkin, toutes deux effectrices de la mitophagie (Pickrell & Youle, 2015) et dont le défaut est une des caractéristiques clés de la MP (Gao *et al.*, 2017 ; Ryan *et al.*, 2015). De plus, les mutations de DJ-1 représentent environ 1% des formes héréditaires de la MP, et la déficience en DJ-1 a été associée à une dérégulation de l'autophagie (Bonifati *et al.*, 2003 ; McCoy & Cookson, 2011 ; Nash *et al.*, 2017). De plus, des mutations bi-alléliques de *GBA*, qui code l'enzyme lysosomale GCase, induisent le développement d'une maladie de Gaucher, maladie de surcharge lysosomale. Comme décrit précédemment, ce gène prend part à l'étiologie de la MP et ces mutations hétérozygotes représentent le plus haut facteur de risque au développement de forme familiale de la maladie. Ainsi, les patients souffrant d'une maladie de Gaucher auraient jusqu'à six fois plus de risques de développer également la MP (Neil *et al.*, 1979 ; Sidransky *et al.*, 2009). Un autre gène lié à la fois à la MP et à l'autophagie est *VPS35*, impliqué dans le trafic endo-lysosomal, dont les mutations sont retrouvées au sein de formes autosomales dominantes de la maladie et peuvent également perturber le processus autophagique (Inoshita *et al.*, 2017 ; Tang *et al.*, 2015). En outre, des mutations perte de fonction d'ATP13A2, qui code pour une ATPase lysosomale régulatrice du pH et également de l'étape de fusion autophagosome-lysosome, induisent une MP précoce (Ramirez *et al.*, 2006). Ces mutations pourraient également altérer l'autophagie, induisant une accumulation d'autophagosomes ainsi que de l' α -syn intracellulaire favorisant son agrégation (Fujikake *et al.*, 2018). Tout variant ou protéine mutée induisant une dérégulation du système d'autophagie peut alors favoriser le développement de la MP, notamment puisque l' α -syn peut être dégradée par ce processus (ceci sera décrit plus en détails en partie V.3.1.).

D'autre part, des analyses histologiques ont permis de mettre en lumière les défauts d'autophagie présents au sein des cerveaux de sujets souffrant de la MP. Il a notamment été observé une accumulation d'autophagosomes (Anglade *et al.*, 1997) ainsi qu'une déplétion lysosomale intraneuronale accompagnée d'un défaut de recyclage des autophagosomes (Dehay *et al.*, 2010). Dans le cas de la MP, il existerait des défauts de mobilisation des autophagosomes, notamment en lien avec une dérégulation du trafic orchestré par les microtubules (Arduíno *et al.*, 2012). Par ailleurs, il a été montré que des fibroblastes de patients atteints de la MP présentent une plus forte autophagie basale (Teves *et al.*, 2018). De plus, il a été montré la co-localisation des inclusions d' α -syn formées *in cellulo* à l'aide de Pffs avec l'ubiquitine et p62 (Gribaudo *et al.*, 2019), ce qui avait également été observé au sein des CLs et NLs de patients (Goedert *et al.*, 2013). La présence de p62 peut s'expliquer par le fait qu'une augmentation de protéines agrégées favoriserait l'expression de p62, qui stimule la voie autophagique et ainsi dégrade ces agrégats avant qu'ils n'exercent de dommages à la cellule. Cependant, ce mécanisme apparaît dysfonctionnel dans le cas de la MP, et s'en suit la progression de la pathologie, de la formation d'inclusions intraneuronales contenant l' α -syn et p62 jusqu'à la neurodégénérescence (Shin

et al., 2020). De plus, il a été montré une diminution de l'expression de LAMP2A et de l'Hsc70, acteurs de la CMA, ainsi que de LAMP1 dans la SNpc de patients (Alvarez-Erviti *et al.*, 2010 ; Chu *et al.*, 2009). Cette dérégulation de la CMA a également été montrée plus récemment au sein de fibroblastes de patients souffrant d'une forme idiopathique de la MP et reprogrammés en neurones DAergiques, qui présentent aussi des défauts de macroautophagie (Drouin-Ouellet *et al.*, 2021). En outre, il a été observé une diminution du niveau d'expression de LMX1 β (LIM Homeobox Transcription Factor 1 Beta) au sein des neurones DAergiques de la SNpc d'individus souffrant de la MP (Laguna *et al.*, 2015). Ce facteur de transcription est décrit comme essentiel au maintien du système autophagique ainsi qu'au trafic intracellulaire, et il se révèle également nécessaire au développement des neurones DAergiques (Yan *et al.*, 2011). Enfin, des enzymes lysosomales, telles que la GCase et la cathepsine D, voient leur activité diminuer dans le LCR (Balducci *et al.*, 2007 ; Parnetti *et al.*, 2009, 2014, 2017) ainsi que dans la SNpc et le cortex préfrontal de patients atteints de la MP (Moors *et al.*, 2019). Des dérèglements de l'expression des acteurs de l'autophagie ont également pu être observés au sein des érythrocytes de patients, et certains marqueurs sanguins comme LC3B et GABARAP permettraient même de discriminer ces patients des individus sains (El Haddad *et al.*, 2020). L'ensemble de ces données indiquent alors que les processus d'autophagie sont dérégulés au sein de la physiopathologie de la MP.

Ainsi, l'induction de l'autophagie représente une potentielle piste thérapeutique contre la MP. En effet, il a été montré que l'administration orale de tréhalose, inducteur de l'autophagie, chez le rat surexprimant l' α -syn^{A53T} réduit la neurodégénérescence DAergique ainsi que l'agrégation de l' α -syn (He *et al.*, 2016). Ceci a également été observé au sein d'un modèle murin intoxiqué au MPTP (Pupyshev *et al.*, 2019), chez le PNH surexprimant l' α -syn^{A53T} (Howson *et al.*, 2019) mais également chez la souris transgénique LRRK2^{G2019S}, améliorant ainsi ses symptômes moteurs et cognitifs (Pischedda *et al.*, 2020). De plus, la surexpression de Beclin1, acteur de l'initiation du processus autophagique, de la protéine lysosomale LAMP2A ou encore de TFEB (Transcription Factor EB), facteur de transcription favorisant notamment la biogenèse lysosomale, chez des modèles murins de la MP permet de réduire l'agrégation d' α -syn ainsi que la neurodégénérescence (Decressac *et al.*, 2013 ; Spencer *et al.*, 2009 ; Xilouri *et al.*, 2013). Ceci est également possible en favorisant l'activité de la GCase par une approche virale (Rocha *et al.*, 2015 ; Sardi *et al.*, 2013) mais également par pharmacologie grâce à l'Ambroxol qui est actuellement en essai clinique dans le traitement de la MP (Mullin *et al.*, 2020). L'induction de l'autophagie est une piste thérapeutique d'autant plus intéressante dans le cas de la MP puisqu'il a été montré que les processus autophagiques étaient nécessaires au développement des neurones DAergiques du mésencéphale ainsi que leur connectivité (Profes *et al.*, 2020). Enfin, il a récemment été montré que l'induction de l'autophagie pourrait même être bénéfique chez des patients souffrant de dyskinésies liées à la prise prolongée de Levodopa (Feyder *et al.*, 2021).

V.3. Alpha-synucléine et autophagie

V.3.1. Dégradation de l'alpha-synucléine par autophagie

Il a été décrit que l' α -syn peut être dégradée à la fois par le protéasome et l'autophagie (Webb *et al.*, 2003). Ainsi, le blocage du protéasome peut entraîner l'accumulation de l' α -syn (Bennett *et al.*, 1999 ; McNaught *et al.*, 2002 ; Tofaris *et al.*, 2001 ; Webb *et al.*, 2003 ; Xilouri *et al.*, 2016). Toutefois, d'autres études n'ont pas réussi à montrer le rôle de ce système dans la dégradation de l' α -syn (Ancolio *et al.*, 2000 ; Rideout *et al.*, 2001 ; Vogiatzi *et al.*, 2008). En outre, il a été montré au sein de cellules neuronales que le protéasome ne serait pas essentiel à sa dégradation, contrairement à l'autophagie dont le blocage induit une accumulation plus importante de la protéine (Vogiatzi *et al.*, 2008), jusqu'à son agrégation au sein des CLs (Cuervo, 2004 ; Vekrellis *et al.*, 2011). De plus, le blocage de l'autophagie au sein de souris transgéniques délétées d'Atg7 induit une accumulation d' α -syn, notamment dans les terminaisons présynaptiques (Ahmed *et al.*, 2012 ; Friedman *et al.*, 2012 ; Sato *et al.*, 2018). Il a également été montré que la colocalisation de l' α -syn avec LC3-II dans les CLs (Alvarez-Erviti *et al.*, 2010 ; Dehay *et al.*, 2010). Par ailleurs, l'autophagie pourrait prendre en charge à la fois l' α -syn intracellulaire mais aussi l'extracellulaire, qui peut être dégradée par les neurones mais aussi les cellules gliales (Stefanis *et al.*, 2019). L'importance de la voie autophagique a également pu être montrée par l'utilisation d'inhibiteur du lysosome, donnant lieu à une accumulation d' α -syn (Gao, 2019 ; Klucken *et al.*, 2012 ; Lee *et al.*, 2004 ; Paxinou *et al.*, 2001 ; Webb *et al.*, 2003). Enfin, des défauts d'autophagie ont également pu être associés à l'accumulation d' α -syn phosphorylée en S129 au sein de neurones DAergiques dérivés de fibroblastes de sujets souffrant d'une forme idiopathique de la MP (Drouin-Ouellet *et al.*, 2021).

L' α -syn intracellulaire peut être dégradée par la macroautophagie mais aussi la CMA, puisqu'elle contient le motif VKKDQ nécessaire à la reconnaissance par les protéines chaperonnes (Cuervo, 2004). Il a par ailleurs été montré que la baisse d'expression de LAMP2A entraîne une accumulation intracellulaire d' α -syn et de vacuoles autophagiques (Xilouri *et al.*, 2016). Néanmoins, les formes phosphorylées de l' α -syn, telle que la pS129, ou encore ses formes oligomériques ne pourraient pas être dégradées par CMA (Martinez-Vicente *et al.*, 2008). La dégradation de l' α -syn par macroautophagie pourrait donc s'effectuer par compensation d'un défaut de CMA, et ceci a notamment été montré par mutation du motif de reconnaissance VKKDQ qui entraîne *in fine* l'activation de la macroautophagie (Massey *et al.*, 2006 ; Vogiatzi *et al.*, 2008 ; Xilouri *et al.*, 2009). Au sein du lysosome, les cathepsines B, D et L participeraient à la dégradation de l' α -syn (McGlinchey & Lee, 2015). De façon intéressante, des études génétiques de la MP ont permis l'identification de variants de gènes codant pour les cathepsines B et D au sein d'études génétiques de la MP (Nalls *et al.*, 2018 ; Robak *et al.*, 2017). Le défaut d'activité des cathepsines pourrait alors affaiblir la fonctionnalité des lysosomes, qui ne pourraient plus dégrader l' α -syn, favorisant son agrégation et *in fine* sa propagation.

Enfin, le blocage de l'autophagie empêche la dégradation de l' α -syn et, sans doute par compensation, favoriserait son exocytose et sa propagation cellule-à-cellule (Alvarez-Erviti *et al.*, 2010 ;

Apetri *et al.*, 2016 ; Fussi *et al.*, 2018 ; Hoffmann *et al.*, 2019 ; Jang *et al.*, 2010). Bien qu'initialement dédié au maintien de l'intégrité cellulaire en réduisant la concentration d' α -syn intracellulaire, ce mécanisme compensatoire favoriserait également la propagation de l' α -syn et contribuerait ainsi à la progression de la MP. En outre, des modifications de la composition de la membrane du lysosome pourrait affecter l'internalisation de l' α -syn dans cet organite et donc également sa dégradation, favorisant ainsi son agrégation et/ou sa propagation (Alvarez-Erviti *et al.*, 2011 ; Jiang *et al.*, 2017). Cette perturbation de la composition de la membrane pourrait être permise par des mutations de GBA (Gan-Or *et al.*, 2015). En outre, le récepteur LAMP2A, impliqué dans la CMA, nécessite une composition particulière de cette membrane afin d'être activé (Kaushik *et al.*, 2006). GBA pourrait ainsi perturber la CMA, mais aussi d'autres formes d'autophagie en modifiant l'architecture du lysosome (Gan-Or *et al.*, 2015).

V.3.2. Blocage de l'autophagie par l'alpha-synucléine

La surexpression de l' α -syn bloque la macroautophagie, notamment en empêchant la formation des autophagosomes (Winslow *et al.*, 2010), et induit une accumulation lysosomale (Spencer *et al.*, 2009). Toutefois, il a également été observé au sein de cellules exprimant l' α -syn que leur mise en contact avec des Pffs induit la formation d'autophagosomes mais qui s'accumulent dans la cellule, indiquant un défaut de leur recyclage (Tanik *et al.*, 2013). Par ailleurs, il a été montré que l'expression de l' α -syn sous sa forme sauvage ou mutée A53T au sein de divers modèles cellulaires, dont des neurones corticaux primaires, réduit significativement l'activité de la GCCase, induisant une accumulation des substrats lysosomaux (Mazzulli *et al.*, 2016). De plus, les mutations A53T et A30P peuvent perturber la dégradation lysosomale associée à l'autophagie, en se liant à la membrane du lysosome et empêchant ainsi leur prise en charge dans cet organite (Cuervo, 2004). De même, ces formes mutées de l' α -syn peuvent se lier à LAMP2A avec une plus forte affinité que sous sa forme sauvage, bloquant alors la CMA (Cuervo, 2004 ; Vogiatzi *et al.*, 2008 ; Xilouri *et al.*, 2009). Le blocage de la CMA a également pu être observé chez des souris surexprimant l' α -syn^{A53T}, favorisant ainsi la synucléinopathie (Pupyshev *et al.*, 2018). En outre, l'environnement spécifique des neurones DAergiques, dont la DA oxydée interagit avec l' α -syn et la modifie, favoriserait le blocage de la CMA (Martinez-Vicente *et al.*, 2008), facilitant ainsi la formation d'oligomères insolubles d' α -syn (Vogiatzi *et al.*, 2008). Il a également été décrit que la présence d'inclusions contenant de l' α -syn réduit l'activité autophagique, notamment en amenuisant la maturation des autophagosomes ainsi que leur fusion avec les lysosomes (Button *et al.*, 2017). De plus, l'exposition de neurones corticaux primaires issus de souris surexprimant l' α -syn avec des agrégats pré-fibrillaires de cette même protéine induit la formation d'une structure intracellulaire similaire aux CLs qui ne peut pas être dégradée par autophagie, notamment à cause d'un défaut d'élimination des autophagosomes (Tanik *et al.*, 2013). De plus, l'accumulation d'agrégats d' α -syn peut induire une rupture de la membrane lysosomale due à une trop grande accumulation de substrats ainsi qu'à la formation de pores par les oligomères d' α -syn (Fusco *et al.*, 2014 ; Stefanovic *et al.*, 2015). Néanmoins, la mécanistique sous-tendant le blocage de l'autophagie par l' α -syn reste toujours mal-comprise. Un des mécanismes possibles réside dans l'inhibition de Rab1a, perturbant ainsi la localisation d'Atg9 qui participe notamment à l'élongation du phagophore (Fujikake *et al.*, 2018 ; Winslow *et al.*, 2010). Enfin, il a été

récemment montré que l' α -syn perturbe la maturation des autophagosomes en compromettant la stabilisation du réseau d'actine (Sarkar *et al.*, 2021).

V.4. LRRK2 et autophagie

V.4.1. Dégradation de LRRK2 par autophagie

LRRK2 détient plusieurs motifs KFERQ de reconnaissance par la CMA (notamment dans sa région aminoterminal), suggérant sa dégradation par ce processus (Orenstein *et al.*, 2013). La baisse d'expression de LAMP2A augmente l'expression intracellulaire de LRRK2, suggérant que cette dernière peut être dégradée par la CMA (Orenstein *et al.*, 2013). Cette dégradation serait perturbée en cas de mutation G2019S (Orenstein *et al.*, 2013). De plus, LRRK2 peut aussi être dégradée par macroautophagie, puisqu'il a été montré l'accumulation de la protéine au sein de souris transgéniques délétées d'Atg5 ou Atg7 (Friedman *et al.*, 2012). Ainsi, il est envisageable que toute perturbation des voies de dégradation de LRRK2 pourrait exacerber ses effets toxiques.

V.4.2. Régulation de l'autophagie par LRRK2

En premier lieu, le rôle de LRRK2 dans l'autophagie est suggéré par sa localisation aux membranes des autophagosomes, des autolysosomes et des lysosomes (Alegre-Abarategui *et al.*, 2009 ; Dodson *et al.*, 2012 ; Higashi *et al.*, 2009 ; Orenstein *et al.*, 2013). De plus, une première étude en 2006 a montré que des neurones corticaux primaires surexprimant LRRK2^{G2019S} présentent une accumulation de corps multivésiculaires ainsi que des lysosomes gonflés (MacLeod *et al.*, 2006). Il a également été observé par analyses post-mortem que les cerveaux de patients atteints de la MP et porteurs de LRRK2^{G2019S} présentent des défauts d'autophagie (Mamais *et al.*, 2018). Enfin, par analyse du transcriptome de *C. elegans*, il a été montré que certains gènes régulant l'autophagie étaient également régulés par LRRK2 (Ferree *et al.*, 2012). Cependant, bien qu'il semble avéré que LRRK2 ait un impact sur l'autophagie, son rôle au sein du processus reste mal compris et apparait contradictoire au sein de la littérature.

D'un côté, LRRK2 pourrait favoriser le processus. Ceci a notamment été montré chez le nématode *C. elegans* dont la surexpression de LRRK2 humaine (ou d'une forme mutante invalidant son activité kinase) promeut l'autophagie (Saha *et al.*, 2015). Des modulations de l'autophagie ont également pu être observées au sein des cellules folliculaires de drosophile, dont l'orthologue de LRRK2 se lie à Rab7 et LAMP1 sur les endosomes tardifs et les lysosomes, favorisant ainsi la maturation et la fonctionnalité de ces organites (Dodson *et al.*, 2012, 2014). De plus, la sous-expression de LRRK2 au sein de macrophages et de la microglie freine le processus, et l'utilisation d'inhibiteur de l'activité kinase de LRRK2 empêche l'élimination des agrégats protéiques, indiquant une probable défaillance de l'autophagie (Schapansky *et al.*, 2014). De même, l'invalidation de LRRK2 chez la souris induit une

accumulation de vacuoles de dégradation associée à une altération de l'expression de p62 et LC3-II au sein des cellules rénales chez ces souris âgées, suggérant une dérégulation des voies autophagiques (Tong *et al.*, 2010). En outre, l'inactivation de l'orthologue de LRRK2 chez la drosophile induit un blocage de l'autophagie, avec une dysmorphie des endosomes précoces et une accumulation d'autophagosomes (Dodson *et al.*, 2014). Par ailleurs, le rôle de LRRK2 dans l'autophagie a également été caractérisé en lien avec sa mutation G2019S. Ainsi, cette dernière a été associée à une augmentation du nombre d'autophagosomes dans le soma et les neurites, indiquant une potentielle induction du processus au sein de cellules SH-SY5Y (Plowey *et al.*, 2008). De plus, il a été observé au sein de fibroblastes de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} une augmentation de LC3, LAMP2 et Beclin1 ainsi qu'une diminution de p62, suggérant une induction de l'autophagie mais qui serait dans ce cas liée à une augmentation de la cytotoxicité (Bravo-San Pedro *et al.*, 2013). LRRK2 pourrait également phosphoryler p62, et d'autant plus en cas de mutation G2019S (Kalogeropoulou *et al.*, 2018). Bien que la phosphorylation de p62 soit associée à l'initiation de l'autophagie (Liu *et al.*, 2016), cet effet de LRRK2 semble *in fine* favoriser la neurotoxicité (Kalogeropoulou *et al.*, 2018). Il est intéressant de constater que l'exposition de fibroblastes issus de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} au MPP⁺ permet d'induire l'autophagie, suggérant l'importance de facteurs environnementaux sur la pathogénicité de LRRK2 (Yakhine-Diop *et al.*, 2014). Enfin, LRRK2^{G2019S} pourrait favoriser la mitophagie (Su *et al.*, 2015). LRRK2^{G2019S} permettait l'induction de l'autophagie par la voie MAPK / ERK (Extracellular signal-regulated kinase) (Bravo-San Pedro *et al.*, 2013; Pedro *et al.*, 2012). LRRK2 régulerait aussi l'autophagie indépendamment de la voie mTOR (Manzoni *et al.*, 2016). En outre, LRRK2 favoriserait la formation d'autophagosomes en activant la voie de signalisation liée à l'AMPK et dépendante du calcium (Gómez-Suaga *et al.*, 2012).

D'un autre côté, il se pourrait que LRRK2 régule négativement le processus d'autophagie. La réduction de l'expression de LRRK2 a été associée à une induction du processus (Alegre-Abarrategui *et al.*, 2009; Manzoni *et al.*, 2016). Au sein de neurones primaires, LRRK2 sous sa forme WT ou G2019S inhibe la production d'autophagosomes, indépendamment de son activité kinase (Wallings *et al.*, 2019). La dérégulation de l'autophagie par LRRK2 a également été observée au sein de CSPi issues de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} et différenciées en neurones DAergiques, qui présentent une accumulation de vacuoles autophagiques liée à un défaut de leur élimination (Sánchez-Danés *et al.*, 2012). Cette accumulation d'autophagosomes a aussi pu être observée au sein de cellules SH-SY5Y surexprimant LRRK2^{G2019S}, associée à une diminution d'autolysosomes (suggérant une défaillance de l'étape de fusion) ainsi que des lysosomes à activité insuffisante due à un défaut d'expression de cathepsines B (Obergasteiger *et al.*, 2019). De plus, des neurones primaires exprimant LRRK2^{G2019S} présentent des lysosomes dysfonctionnels avec une morphologie anormale (Schapansky *et al.*, 2018). Ainsi, l'activité kinase de LRRK2 apparaît essentielle au blocage de l'autophagie, puisque l'utilisation d'inhibiteur de cette fonction permet d'inverser les dysfonctions autophagiques induite par LRRK2 (Bravo-San Pedro *et al.*, 2013 ; Manzoni *et al.*, 2013 ; Saez-Atienzar *et al.*, 2014). En outre, des souris transgéniques LRRK2^{G2019S} présentent une augmentation de la taille des vacuoles autophagiques, du nombre d'autophagosomes ainsi que des mitochondries endommagées au sein de leur ST (Ramonet *et al.*, 2011). De la même façon, des souris âgées ayant cette même mutation présentent une diminution de la libération de DA, une

INTRODUCTION

accumulation de mitochondries anormales et d'autophagosomes ainsi qu'un dysfonctionnement des lysosomes (Henry *et al.*, 2015; Yue *et al.*, 2015). Plus récemment, il a été montré que LRRK2^{G2019S} altère l'autophagie neuronale en perturbant le transport des autophagosomes (Boecker *et al.*, 2021). Outre leur transport, la maturation des autophagosomes semble également altérée au sein de fibroblastes de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} (Korecka *et al.*, 2019). De plus, LRRK2 apparait réguler le trafic, la morphologie mais aussi l'activité des lysosomes (Eguchi *et al.*, 2018 ; Kuwahara *et al.*, 2016). Il a notamment été montré que des mutations de LRRK2 pouvait engendrer la formation d'agrégats périnucléaires de lysosomes, en lien avec la sur-phosphorylation de Rab7 (Hockey *et al.*, 2015). L'impact de LRRK2 sur les lysosomes se retrouve également dans la diminution de l'expression des protéines lysosomales (GCCase, LAMP2A ou encore ATP13A2) chez des patients porteurs de mutations de LRRK2 (Zhao *et al.*, 2018). De plus, il a été décrit que LRRK2 interagit avec la sous-unité A1 de la pompe vacuolaire ATPase à protons, présente à la membrane du lysosome, et régule ainsi les fonctions de cet organite (Wallings *et al.*, 2019). Remarquablement, le gène *ATP6V0A1* (ATPase H⁺ Transporting V0 Subunit A1) codant pour cette pompe a été identifié comme facteur de risque au développement de la MP (Chang *et al.*, 2017). Par ailleurs, LRRK2 peut également bloquer d'autres formes d'autophagie, notamment la CMA - résultant en une induction compensatoire de la macroautophagie (Orenstein *et al.*, 2013) - mais aussi la mitophagie (Bonello *et al.*, 2019 ; Korecka *et al.*, 2019 ; Wauters *et al.*, 2019). Enfin, le rôle de LRRK2 dans l'autophagie peut être relié à son impact sur les protéines de la famille des Rab GTPases, puisque plusieurs de ses membres sont des substrats de LRRK2 (Ito *et al.*, 2016 ; Steger *et al.*, 2016, 2017) et également puisqu'un ensemble de ces protéines prennent part à la régulation de l'autophagie (Dou *et al.*, 2013 ; Feldmann *et al.*, 2017 ; Zoppino *et al.*, 2010). Il a notamment été observé que LRRK2 peut diminuer l'activité de Rab7, induisant un défaut de maturation des endosomes tardifs et ainsi un retard du trafic essentiel aux voies de dégradation (Gómez-Suaga *et al.*, 2014). De plus, il a été caractérisé que Rab29 (également nommé Rab7L1) est un facteur de risque au développement de la MP (Gan-Or *et al.*, 2012) et peut recruter LRRK2 aux lysosomes en surcharge, phosphorylant ainsi d'autres membres de la famille Rab comme Rab8 et Rab10 afin de maintenir l'homéostasie lysosomale (Eguchi *et al.*, 2018). Toutefois, d'autres études tendent à indiquer que le partenariat Rab29-LRRK2 contribuerait à la pathogenèse de la MP en perturbant le processus autophagique (Purlyte *et al.*, 2018).

Finalement, il apparait que la sous-expression de LRRK2 a pu être associée à la fois à l'induction de l'autophagie (Alegre-Abarrategui *et al.*, 2009), à son blocage (Schapansky *et al.*, 2014) ou encore n'a eu aucun effet sur le processus (Manzoni *et al.*, 2016 ; Orenstein *et al.*, 2013). Cette contradiction concernant le rôle de LRRK2 dans l'autophagie peut s'expliquer à différents niveaux, du modèle d'étude utilisé aux différentes conditions expérimentales mises en œuvre en passant par les paramètres analysés. Un exemple concret porte sur une étude de 2012 montrant l'influence de l'âge des animaux utilisés comme modèle d'étude : la perte de LRRK2 n'a pas d'effet sur l'autophagie rénale chez la souris de 1 mois alors qu'elle est associée à un effet inducteur à 7 mois, mais ce qui n'est plus le cas à 20 mois (Tong *et al.*, 2012). De plus, dans le cas d'une sous-expression de LRRK2, il est important de rappeler qu'il pourrait exister des effets compensatoires par LRRK1, et ceci a notamment été montré par une double invalidation de LRRK1 et LRRK2 chez la souris qui a induit une dérégulation des processus autophagiques

et lysosomaux liée à l'âge, alors que ce n'est pas le cas en cas d'invalidation de LRRK1 ou LRRK2 seulement (Giaime *et al.*, 2017). Ainsi, la régulation de l'autophagie par LRRK2 s'avère complexe et sa caractérisation peut s'avérer biaisée par une multitude de paradigmes expérimentaux. Cette complexité est d'autant plus soulignée par une étude de 2018 montrant que des fibroblastes issus de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} et manifestant des symptômes de la MP présentent des altérations de l'autophagie, ce qui n'est pas le cas des fibroblastes de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} et asymptomatiques dont l'autophagie apparaît régulée à la hausse (Juárez-Flores *et al.*, 2018). Le rôle de LRRK2 sur le processus autophagique, et du moins sa résultante sur le développement de la MP, serait alors dépendant d'autres facteurs.

V.5. Alpha-synucléine, LRRK2 et autophagie

V.5.1. Effet de LRRK2 sur la dégradation par autophagie de l'alpha-synucléine

Des données obtenues *in vitro* et *in vivo* montrent que LRRK2^{G2019S} peut perturber le processus autophagique, induisant *in fine* l'accumulation d' α -syn (Alegre-Abarrategui *et al.*, 2009 ; Greggio *et al.*, 2009 ; Orenstein *et al.*, 2013). Comme décrit précédemment, LRRK2^{G2019S} réduit la fonctionnalité de la CMA et prévient ainsi la translocation des substrats (tels que l' α -syn) au lysosome (Orenstein *et al.*, 2013). Par ailleurs, il a été montré que le pH des lysosomes striataux des souris LRRK2^{G2019S} est moins acide et que le flux autophagique de cette région est réduit en lien avec une accumulation de l' α -syn endogène, cet effet étant inversé par inhibition de l'activité kinase de LRRK2 (Schapansky *et al.*, 2018). De plus, cette inhibition permet d'induire la formation d'autolysosomes, favorisant la dégradation de l' α -syn endogène phosphorylée sur la S129 (Obergasteiger *et al.*, 2019). Cela suggère que LRRK2^{G2019S} pourrait perturber l'élimination de l' α -syn en altérant notamment la fonctionnalité des lysosomes, de façon kinase-dépendante. En association avec le vieillissement, LRRK2 pourrait favoriser le blocage de l'autophagie et ainsi amoindrir l'élimination de l' α -syn qui, avec l'âge et d'autant plus en cas de mutation A53T, est plus stable et dont l'expression augmente dans la SNpc (Li *et al.*, 2004). Ceci est d'autant plus le cas car, comme décrit précédemment, l'expression de la GCase est diminuée chez des patients porteurs de mutations de LRRK2 (Zhao *et al.*, 2018) et il a également été montré que des cellules déficientes en GCase favorisait le relargage de fibrilles d' α -syn (Gegg *et al.*, 2020). La dérégulation de l'autophagie représenterait ainsi un facteur aggravant dans l'étiologie de la MP (Johnson *et al.*, 2019), et notamment puisqu'il a été montré qu'elle précéderait la perte neuronale (Giaime *et al.*, 2017).

V.5.2. Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur le blocage de l'autophagie

Comme décrit précédemment, il apparaît qu'à la fois l' α -syn et LRRK2 peuvent bloquer le processus autophagique (**Figure 25**). D'une part, il est envisageable que ces deux protéines agissent sur

INTRODUCTION

la même étape, comme par exemple l'étape de fusion autophagosome-lysosome, ou alors à deux étapes différentes, induisant *in fine* une interruption du processus. D'autre part, il se peut que le blocage de l'autophagie favorise la pathogénicité de l' α -syn et de LRRK2. Il a notamment été suggéré que les dérégulations de l'autophagie pourraient contribuer à la neurotoxicité associée à LRRK2 puisque la suppression d'éléments clés comme LC3 ou Atg7 prévient le raccourcissement des neurites induit par l'expression de LRRK2^{G2019S} (Plowey *et al.*, 2008). Un des mécanismes envisageables est alors le blocage de l'autophagie par l' α -syn, ce qui favoriserait ainsi le rôle délétère de LRRK2 au sein de la cellule.

D'une part, l' α -syn et LRRK2 ont toutes deux été décrites comme pouvant être dégradées par la CMA (Cuervo, 2004 ; Orenstein *et al.*, 2013 ; Vogiatzi *et al.*, 2008). Par ailleurs, à la fois LRRK2 mais également de forts taux d'expression et/ou des formes aberrantes de l' α -syn peuvent inhiber la CMA (Cuervo, 2004 ; Orenstein *et al.*, 2013). Ceci pointe alors leur rôle conjoint dans la toxicité cellulaire si une compensation de la CMA défailante n'est pas mise en place. Egalement, elles peuvent interagir avec LAMP2A et, de plus, une diminution de l'expression de cette dernière induit une accumulation intracellulaire de l' α -syn et LRRK2 sous sa forme sauvage, mais pas de sa forme mutée G2019S (Xilouri *et al.*, 2016). Ainsi, la présence concomitante de LRRK2^{WT} et de l' α -syn^{A53T} à la membrane lysosomale exacerberait le blocage de la CMA, qui pourrait alors favoriser la toxicité liée à l'accumulation d' α -syn (Orenstein *et al.*, 2013). D'autre part, le blocage conjoint de l' α -syn et LRRK2 sur la macroautophagie a pu être observé chez le nématode, où la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} induit un blocage du flux autophagique plus important qu'en cas de co-expression avec le LRRK2^{WT} (Saha *et al.*, 2013).

Enfin, le lien entre l'autophagie, l' α -syn et LRRK2 peut se trouver au niveau de Rab7. En effet, cette dernière joue un rôle dans le trafic des autophagosomes et lysosomes, elle en favorise également leur fusion et régule aussi la maturation des endosomes (Bucci *et al.*, 2000 ; Jager, 2004). De plus, il a été montré qu'elle favorise l'élimination de l' α -syn (Dinter *et al.*, 2016). Comme mentionné en amont, Rab7 interagit avec LRRK2. Ainsi, le blocage conjoint de l' α -syn et LRRK2 dans l'autophagie pourrait se produire via un mécanisme dépendant de Rab7, interférant par exemple avec le trafic des autophagosomes et/ou l'étape de dégradation.

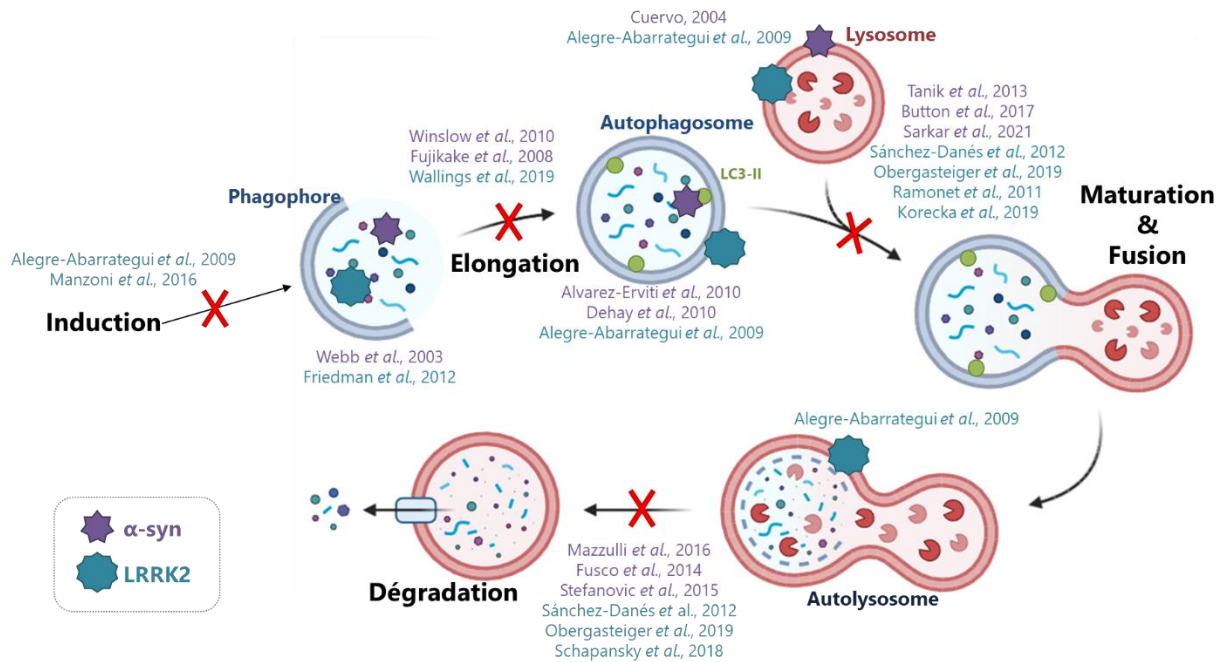


Figure 25 : Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 dans le blocage de l'autophagie

Cette figure récapitule les principales données énoncées précédemment montrant le rôle commun de l' α -syn et LRRK2 dans le blocage de l'autophagie (réalisée via BioRender)

OBJECTIF DE THÈSE

Les recherches que nous avons conduites pour cette thèse se sont fondées sur des études antérieures réalisées au sein de notre équipe, au cours de la thèse de Noémie Cresto. Ces résultats montraient que le domaine kinase de LRRK2^{G2019S}, compris dans un fragment carboxyterminal nommé Δ LRRK2^{G2019S}, est essentiel et suffisant à induire une neurotoxicité DAergiques *in vivo* (Cresto *et al.*, 2020), via une approche d'injection stéréotaxique d'AAV. Le fragment Δ LRRK2^{G2019S} de 140 kDa contient les domaines ROC-COR, kinase et WD40 de LRRK2. Près de six mois après l'injection des AAV codant pour Δ LRRK2^{G2019S}, les rats présentaient une neurodégénérescence DAergique significative, alors que les animaux ayant reçu l'AAV codant Δ LRRK2^{WT} présentaient un nombre de neurones DAergiques similaire à celui mesuré chez les rats témoins du même âge.

D'autre part, Noémie Cresto a caractérisé l'impact de l'expression de Δ LRRK2^{G2019S} sur la toxicité liée à l' α -syn. Comme indiqué en Introduction (en partie IV), de nombreuses données de la littérature corroborent l'idée d'une possible interaction fonctionnelle entre ces deux protéines liées à la MP. Afin de reproduire au mieux un modèle de synucléinopathie, des rats ont été injectés par stéréotaxie à l'aide d'AAV permettant l'expression de l' α -syn^{A53T} dans la SNpc, notamment puisqu'il a été décrit que cette mutation induisait une perte DAergique bien plus rapide que la forme sauvage de la protéine (Volpicelli-Daley *et al.*, 2016). D'une part, près de trois mois après l'injection, la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec la GFP (un contrôle de charge virale) a permis l'obtention d'une mort DAergique modérée mais significativement plus importante en comparaison avec les animaux contrôle injectés avec du PBS (Phosphate Buffer Saline) seul (**Figure 26**). D'autre part, la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec Δ LRRK2^{G2019S} exacerbe cette mort neuronale, qui apparaît alors significativement plus importante qu'en cas de co-injection de l' α -syn avec la GFP (**Figure 26**). Ainsi, LRRK2^{G2019S} permet d'amplifier les effets neurotoxiques de l' α -syn^{A53T}, par un mécanisme apparemment dépendant de son activité kinase. L'ensemble de ces données ont permis de confirmer *in vivo* l'existence d'une interaction fonctionnelle entre l' α -syn et LRRK2, et fait l'objet d'un article récemment publié (Cresto *et al.*, 2021). Dans ce contexte, nous avons cherché à déterminer les mécanismes responsables de la potentialisation de cette toxicité liée à l' α -syn.

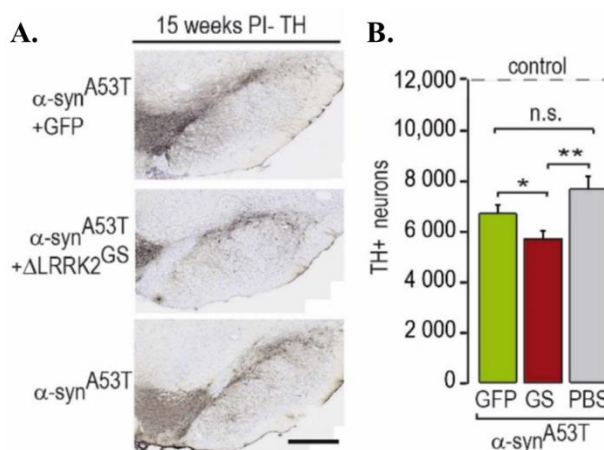


Figure 26 : Δ LRRK2^{G2019S} favorise les effets neurotoxiques de l' α -syn^{A53T}.

A. Représentation d'immunohistochimie de la tyrosine hydroxylase (TH) réalisée sur des coupes de cerveaux de rats, 15 semaines post-injection dans la SNpc de l' α -syn^{A53T} avec la GFP ou Δ LRRK2^{G2019S}, ou du PBS. Barre d'échelle = 400 μ m.
B. Quantification des cellules TH-positives dans la SNpc de rats. Les animaux contrôle ont été injectés avec du PBS. Moyenne \pm SEM ; N=7-13 animaux/groupe ; ANOVA puis test post-hoc PLSD.

OBJECTIF DE THÈSE

Ma thèse a donc eu pour objectif principal de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires de cette interaction fonctionnelle entre l' α -syn et la forme entière de LRRK2, et surtout d'élucider comment la mutation LRRK2^{G2019S} pouvait moduler les effets neurotoxiques de l' α -syn. Comme cité en Introduction, cette coopération entre les deux protéines pourrait impliquer de multiples processus cellulaires. En particulier, il nous a semblé particulièrement intéressant de focaliser nos études sur l'autophagie, dont le rôle dans la physiopathologie de la MP et plus généralement des MNDs est suggéré. Selon la littérature, l' α -syn et LRRK2 ont une influence sur les processus autophagiques, mais leur participation conjointe dans la régulation de l'autophagie reste mal comprise. Ainsi, une meilleure compréhension de l'interaction entre l' α -syn et LRRK2 dans les mécanismes de l'autophagie permettrait de mieux comprendre la physiopathologie de la MP, mais aussi de discriminer de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement de cette pathologie.

Les résultats de cette thèse se sont organisés autour de deux axes majeurs. Premièrement, nous avons analysé l'impact de l' α -syn^{A53T} et/ou LRRK2^{WT/G2019S/DK} sur les processus autophagiques, en ayant pour but de décrypter les étapes que ces protéines pourraient perturber. Deuxièmement, nous avons examiné comment LRRK2 pourrait agir sur une forme décrite comme pathologique de l' α -syn, la forme phosphorylée sur la Ser129, avec une potentielle dépendance aux voies de dégradation cellulaires. Enfin, dans un troisième axe plus préliminaire, nous avons étudié l'impact de l' α -syn^{A53T} et LRRK2^{WT/G2019S/DK} sur l'interdépendance entre l'autophagie et le protéasome.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Culture primaire de neurones corticaux de rat

Des rattes gestantes provenant de Charles River Laboratories ont été anesthésiées à l'isoflurane puis sacrifiées par une dose léthale de phénobarbital. Les embryons ont ainsi été extraits des cornes utérines au stade embryonnaire E17 et leur tête a été récupérée. Une fois extrait de la boîte crânienne, les cerveaux sont disséqués dans de l'HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) supplémenté de 10mM d'HEPES afin d'isoler les deux cortex de chaque embryon. Ils sont ensuite digérés enzymatiquement pendant dix minutes à 37°C avec de la trypsine à 0,025% dans de l'HBSS-HEPES. La trypsine est ensuite inactivée par ajout d'1mL de SVF (Sérum de Veau Foetal) puis trois lavages dans 5mL d'HBSS-HEPES ont été effectués. Les cortex ont ensuite été dissociés mécaniquement en faisant dix allers-retours à l'aide d'une pipette de 5mL. Les neurones ainsi isolés ont été dénombrés à l'aide d'un compteur de cellules LUNA (Logos Biosystems) puis ont été ensemencés dans du NB27 – Neurobasal™ (ThermoFisher) supplémenté avec 2% de B27 (ThermoFisher), de 1% de glutamax (ThermoFisher), de 1% de pénicilline et de streptomycine (ThermoFisher) – au sein de plaques de culture recouvertes au préalable de poly-L-lysine 1mg/mL (Sigma-Aldrich). Suivant les analyses effectuées *a posteriori*, les neurones ont été ensemencés à une densité cellulaire de 1 000 000 cellules / puits (3mL) en plaque 6 puits, 500 000 cellules / puits (1,5mL) en plaque 12 puits et 250 000 cellules / puits (0,8mL) en plaque 24 puits. Pour effectuer les analyses en microscopie à fluorescence, les neurones sont ensemencés sur des lamelles en verre. Les neurones sont maintenus à 37°C dans un incubateur en atmosphère humide et avec 5% de CO₂. Puis, cinq jours après l'ensemencement soit DIV5 (Day in Vitro 5), la moitié du milieu de culture a été remplacé par un volume équivalent de milieu BrainPhys™ (Stem Cell Technologies) (Bardy *et al.*, 2015) supplémenté avec 2% de SM1 (Stem Cell Technologies). Ce changement de milieu est de nouveau effectué à DIV8.

Culture primaire d'astrocytes corticaux de rat

Les cultures primaires d'astrocytes sont effectuées de la même manière que pour les cultures primaires de neurones corticaux cités ci-dessus. Cependant, après l'étape de dissociation, les cellules ont été ensemencées dans des boîtes de culture de 10cm de diamètre, dans du DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco) supplémenté de 20% de SVF, à raison de 10mL par boîte. Les astrocytes primaires sont ainsi maintenus à 37°C dans un incubateur en atmosphère humide et avec 5% de CO₂. Le lendemain de l'ensemencement, les boîtes ont été lavées avec du PBS afin d'enlever le maximum de débris cellulaires et le milieu a été remplacé par du milieu frais. Le milieu est changé par du milieu frais tous les trois à quatre jours. Une fois qu'elles ont atteint 100% de confluence (au bout d'une dizaine de jours), les astrocytes primaires ont été passés à l'aide d'une solution de trypsine. Une fois l'ensemble des astrocytes primaires détachés de la surface, la trypsine est inactivée par ajout de 9mL de DMEM-SVF20%.

La boîte a ensuite été lavée avec ce même DMEM-SVF20% afin de récupérer le maximum d'astrocytes pouvant être restés accrochés, puis dix aller-retours à la pipette de 10mL ont été effectués afin de dissocier mécaniquement les cellules. Les astrocytes sont alors ensemencés dans de nouvelles boîtes de culture de 10cm de diamètre ou au sein de plaques 6 puits (à raison de 2mL par puits) ou 24 puits (à raison de 0,5mL par puits, avec ensemencement sur lamelles en verre). Les traitements en vue d'analyses sont alors réalisés lorsque les astrocytes primaires ont atteint environ 80% de leur confluence, après avoir été passés jusqu'à deux fois maximum.

Transduction des neurones primaires par des vecteurs lentiviraux

Les vecteurs lentiviraux utilisés ont été produits au sein de cellules HEK293T (Human Embryonic Kidney 293T), via un système à quatre plasmides (Hottinger *et al.*, 2000). Les vecteurs VIH-1 (Virus de l'Immunodéficience Humaine) ont été pseudotypés avec la protéine VSV-G (Vesicular stomatitis virus G). Les vecteurs lentiviraux ont été concentrés par ultracentrifugation, puis resuspendus dans du PBS avec 1% de BSA (Bovine Serum Albumine). Enfin, le contenu en particules virales a été déterminé par mesure des antigènes p24 –RETROtek (Gentaur) et les stocks ont été gardés à -80°C.

A DIV1, les neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux regroupés dans le **Tableau 2**. Exprimé sous le promoteur PGK (Phosphoglycerate kinase), LacZ est utilisé en tant que contrôle de charge virale et permet d'évaluer de potentielles variations dues à l'effet de la transduction en elle-même. L' α -syn^{A53T} et LRRK2^{WT/G2019S/DK}, protéines humaines exprimées sous le promoteur CBA (Chicken β -Actin), sont utilisées seules ou en combinaison. La forme mutante DK de LRRK2 présente une double mutation (G2019S et D1994A) qui invalide son activité kinase. Trois jours après la transduction (soit à DIV4), la totalité du milieu NB27 a été changée par du milieu frais.

Tableau 2 : Vecteurs lentiviraux utilisés pour la transduction des neurones primaires

Gène transduit	Protéine associée	Construction	Quantité transduite (pour 100 000 cellules)
<i>LacZ</i>	LacZ	SIN-cPPT-PGK-nls- LacZ -WHV	10 ou 20ng
<i>SNCA (A53T)</i>	α-syn^{A53T}	pLVi-CBA- SNCA-A53T -WPRE	10ng
<i>LRRK2 (WT)</i>	LRRK2^{WT}	pLVi-CBA- LRRK2-WT -WPRE	20ng
<i>LRRK2 (G2019S)</i>	LRRK2^{G2019S}	pLVi-CBA- LRRK2-G2019S -WPRE	20ng
<i>LRRK2 (DK)</i>	LRRK2^{DK}	pLVi-CBA- LRRK2-DK -WPRE	20ng
<i>GFP-LC3</i>	GFP-LC3	SIN-cPPT-CBA- GFP-LC3 -WHV	10ng

Traitements

Les contrôles ont été réalisés dans le milieu d'origine des neurones primaires qui a été récupéré avant le traitement, additionné du volume équivalent (en DMSO notamment) à celui requis pour le traitement.

Privation nutritive

A DIV14 et après deux lavages à l'EBSS (Earle's Balanced Salt Solution, Sigma), les neurones primaires ont été privés en nutriments par incubation pendant 4 heures dans de l'EBSS. Ce milieu est dépourvu en AA et contient peu de glucose (1g/L contre 4,5g/L pour le milieu NB27).

Blocage du flux autophagique

Le blocage du flux autophagique a été effectué en traitant les neurones primaires à DIV14 pendant 4 heures avec de la Bafilomycine A1 (BafA1 ; Sigma #SML1661) à 100nM. La BafA1 est un inhibiteur de la pompe à protons ATPase de type vacuolaire et lysosomale (V-ATPase) et prévient ainsi l'acidification des autolysosomes, inhibant ainsi la fusion autophagosome - lysosome et donc stoppe le flux autophagique (Klionsky *et al.*, 2021).

Inhibition du protéasome

L'inhibition du protéasome a été réalisée en traitant les neurones primaires à DIV14 pendant quatre heures avec de la Lactacystine (Lacta ; Sigma #L6785) à 5µM.

Inhibition de l'activité kinase de LRRK2

L'inhibition de l'activité kinase de LRRK2 a été effectuée en traitant les neurones primaires à DIV13 avec du MLI2 (TOCRIS #5756) à 300nM pendant vingt-quatre heures.

Immunoempreinte

Extraction protéique

Toute la manipulation a été effectuée sur la glace avec du matériel préalablement refroidi à 4°C dans la glace. Après élimination du milieu de culture, les cellules ont été lavées avec 1mL de PBS froid. L'extraction des protéines a été effectuée en grattant les neurones dans 100µL de tampon de lyse (Tris pH8,0 50mM ; NaCl 150mM ; NP40 1%) additionné d'1% d'un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Sigma-Aldrich), 1% d'un cocktail d'inhibiteurs de phosphatases (Sigma-Aldrich), et 1% de PMSF (Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride) 1mM. Le lysat obtenu a été centrifugé à 15000g pendant 10 minutes à 4°C, puis le surnageant contenant les protéines solubles a été récupéré.

Dosage protéique

Les concentrations protéiques ont été déterminées suivant la méthode du Biuret, en utilisant le kit de dosage BCA (ThermoFisher). La lecture colorimétrique a été effectuée sur un lecteur de plaque 96 puits à 562 nm (Safas).

Electrophorèse sur gel et Transfert

Les extraits protéiques ont été déposés sur des gels pré-coulés 4-20% SDS-polyacrylamide Protean TGX Stain Free (BioRad), à raison de 10 µg de protéines totales. Après migration, le transfert a été réalisé sur une membrane de nitrocellulose à l'aide de l'appareil Trans-Blot® Turbo™ Transfer System (BioRad).

Immunomarquage et Révélation

Après transfert, la membrane de nitrocellulose a été récupérée et marquée au rouge Ponceau pour vérifier la qualité du transfert. Ensuite la membrane a été incubée, pendant 1 heure sous agitation à température ambiante, dans une solution de TBS (Tris-Buffered Saline) + Tween20 0,1% (TBS-T) contenant 5% de lait écrémé afin de bloquer les sites aspécifiques. S'en est suivi l'incubation sur la nuit à 4°C et sous agitation dans du TBS-T + lait écrémé 5% avec les anticorps primaires indiqués dans le **Tableau 3**. Après trois lavages dans du TBS-T, les membranes ont été incubées pendant 1 heure à température ambiante sous agitation avec les anticorps secondaires couplés à l'HRP (Horseradish Peroxidase) dans du TBS-T (**Tableau 3**). A la suite de trois lavages en TBS-T, les membranes ont été incubées avec le réactif de chimioluminescence ECL (Clarity® Western ECL Substrate, Bio-Rad) et révélées à l'aide de l'appareil Fusion FX7 (Fisher).

Tableau 3 : Liste des anticorps primaires (et de leurs anticorps secondaires associés) utilisés en immunoempreinte

Cible de l'anticorps primaire (et poids moléculaire associé)	Hôte	Dilution	Référence	Cible de l'anticorps secondaire	Hôte	Dilution	Référence
α-synucléine (15 kDa)	Souris	1/5000	Thermo Fisher #388100	Souris	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16011
GFAP (50 kDa)	Lapin	1/3000	Dako #Z0334	Lapin	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16023
GAPDH (38 kDa)	Souris	1/2000	Merck Millipore #MAB274	Souris	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16011
LC3B (18 – 16 kDa)	Lapin	1/1000	Novus #NBP-246892	Lapin	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16023
LRRK2 (286 kDa)	Lapin	1/1000	Cell Signaling #13046	Lapin	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16023
p62 (62 kDa)	Souris	1/1000	Abnova #8878	Souris	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16011
Ubiquitine	Souris	1/1000	Cytoskeleton #AUB01-FS	Souris	Chèvre	1/5000	Invitrogen #A16011

Quantification

La quantification a été effectuée via le logiciel ImageJ. L'intensité du signal correspondant à chaque protéine étudiée sur la membrane de nitrocellulose a ainsi été quantifiée. La valeur a ensuite été soustraite à la valeur du bruit de fond puis a été rapportée à celle d'une protéine de ménage (GAPDH). Les résultats en graphique présentent les valeurs moyennes et les barres d'erreur représentent l'erreur-standard de la moyenne (standard error mean, SEM). L'ensemble des valeurs a été rapporté à la valeur contrôle de l'expérimentation.

Immunofluorescence

Fixation des cellules

Après avoir enlevé tout le milieu de traitement, les neurones primaires ont été fixés pendant vingt minutes à température ambiante avec une solution à 3.7% de formaldéhyde, permettant de maintenir la structure cellulaire et la membrane plasmique intacte. Au terme de la fixation, deux lavages au PBS 1X ont été effectués.

Immunomarquage

Après fixation, un blocage des sites aspécifiques et une perméabilisation des neurones primaires ont été effectués pendant trente minutes à température ambiante avec du PBS 1X + Triton 0.1% (PBS-T) + NGS 3% (Normal Goat Serum). Les anticorps primaires (**Tableau 4**) ont ensuite été incubés dans une solution de PBS-T + NGS 3% pendant deux heures, à température ambiante et obscurité. Après trois lavages de cinq minutes au PBS-T, les anticorps secondaires associés au fluorophore ont alors été incubés dans une solution de PBS-T pendant une heure à température ambiante et à l'obscurité (**Tableau 4**). Enfin, après deux lavages de cinq minutes au PBS-T, les noyaux ont été marqués par une incubation d'une minute avec du Hoechst 33258 (100ng/mL) suivie de deux lavages au PBS-T. Les lamelles ont été montées sur des lames d'histologie (Super Frost) avec du Mowiol. Les images ont été acquises avec un microscope à fluorescence (Leica DM6000) et le logiciel MorphoStrider (ExploraNova).

Marquage au LysoTracker™

Trente minutes avant la fixation, les neurones ont été incubés à 37°C en présence de 5% de CO₂ avec 50nM de la sonde fluorescente LysoTracker™ (ThermoFisher, #L7528). Cette sonde membrane-perméable est composée d'un fluorophore lié à une base faible aminée qui lui permet de s'accumuler dans les organites acides au sein des cellules vivantes, notamment les lysosomes.

Tableau 4 : Liste des anticorps primaires (et de leurs anticorps secondaires associés) utilisés en immunomarquage

Cible de l'anticorps primaire	Hôte	Dilution	Référence	Cible de l'anticorps secondaire	Hôte	Dilution	Référence
α-syn	Ms	1/500	BioLegend #807804	Lapin	Chèvre	1/500	Alexa fluor® 488 #A11008
GFAP	Souris	1/1000	Sigma #C9205	<i>Anticorps primaire couplé avec un fluorochrome Cy3</i>			
LC3B	Lapin	1/500	Novus #NBP-246892	Lapin	Chèvre	1/500	Alexa fluor® 488 #A11008
NeuN	Lapin	1/500	Merck Mill #MAB374	<i>Anticorps primaire couplé avec un fluorochrome GFP</i>			
MAP2	Souris	1/200	Sigma #M4403	Souris	Chèvre	1/500	Alexa fluor® 488 #A11008
p62	Souris	1/500	Abnova #8878	Souris	Chèvre	1/500	Alexa fluor® 594 #A11006
pSer129	Lapin	1/200	Abcam #AB51253	Lapin	Chèvre	1/500	Alexa fluor® 488 #A11008

Quantification

Les résultats en graphique présentent les valeurs moyennes et les barres d'erreur représentent l'erreur-standard de la moyenne (standard error mean, SEM). L'ensemble des quantifications d'immunomarquage a été réalisé sur un nombre « N » d'expérimentations, et sur un nombre « n » correspondant au nombre de champs acquis au microscope.

Estimation de la diversité de la population cellulaire présente au sein de cultures mixtes

La quantification a été effectuée via le logiciel ImageJ sur des images acquises au grossissement 63X. Via le plug-in Cell-Counter ont été comptés le nombre de noyaux DAPI-positifs, le nombre d'astrocytes GFAP (Glial fibrillary acidic protein)-positifs et le nombre de neurones MAP2 (Microtubule-associated protein 2)-positifs.

Aire occupée par les GFP-LC3 dots

Les images correspondant au marquage GFP-LC3 ont été segmentées via le logiciel Ilastik. Puis elles ont été importées sous Image-J et un masque de l'ensemble de la région GFP-LC3-positif leur a été appliquées. L'aire occupée par les GFP-LC3 dots rapportée à l'ensemble de cette région GFP-LC3-positif a ainsi pu être calculée via la fonction d'analyse de particules. Nous avons alors fixé un seuil minimal d'occupation de ces GFP-LC3 dots correspondant à des neurones exprimant correctement le transgène *GFP-LC3* et répondant convenablement aux traitements. Ainsi, seuls les neurones présentant une aire de GFP-LC3 dots supérieure ou égale à 2% de l'aire totale GFP-LC3 positive ont été pris en compte dans la quantification. Enfin, l'ensemble des valeurs a été rapporté à la valeur contrôle de l'expérimentation.

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées via le logiciel GraphPad Prism9. Les conditions de normalité et d'homogénéité des variances ont été respectivement vérifiées par un test de Shapiro-Wilk et Levene. Pour une comparaison entre deux groupes, un t-test non-apparié a été effectué. Pour une comparaison entre plusieurs groupes, une ANOVA (analyse de la variance) à facteur ou à double facteurs unique a été réalisée, suivie d'un test post-hoc de Tukey. Lorsque les conditions de normalité n'étaient pas respectées, des tests non-paramétriques de Wilcoxon-Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis (suivis d'un test post-hoc de Dunn) ont été effectués.

RÉSULTATS

I. Mise au point du modèle d'étude de l'autophagie

Comme expliqué précédemment, et selon la littérature, les effets conjoints de l' α -syn et LRRK2 permettraient l'inhibition de l'autophagie. Nous avons voulu mieux comprendre l'effet de l'expression de l' α -syn, notamment mutée en A53T, et de LRRK2 sur les flux autophagiques neuronaux. Pour cela, nous avons mis au point un modèle d'étude de l'autophagie au sein de cultures primaires de neurones corticaux de rats. Nous avons au préalable vérifié si ces cellules étaient capables de faire de l'autophagie et si leurs flux pouvaient être modulés.

I.1. Validation du modèle au sein des neurones primaires

Pour mettre en évidence le flux autophagique neuronal, nous avons utilisé la Bafilomycine A1 (BafA1) qui est un inhibiteur de la pompe ATPase lysosomale (Klionsky *et al.*, 2021). En prévenant l'acidification de cet organelle, la BafA1 empêche la fusion autophagosome – lysosome et donc inhibe la formation de l'autolysosome. Le processus autophagique se retrouve alors bloqué et la dégradation des cargos de l'autophagosome n'a pas lieu. Nous avons ainsi évalué l'efficacité de la BafA1 sur les neurones primaires en les incubant avec le LysoTracker™, une sonde fluorescente membrane-perméable sensible au pH permettant le suivi des organites acides au sein des cellules vivantes (Figure 27). En condition contrôle, nous avons observé la présence de lysosomes au sein des corps cellulaires de neurones, ce qui n'est pas le cas en condition de traitement à la BafA1. Ceci indique que la BafA1 bloque effectivement l'acidification des lysosomes et donc le processus autophagique avant la dégradation. Ainsi, nous pouvons conclure que les neurones répondent à la BafA1, ce qui nous permettra de mesurer le flux autophagique basal des cellules.

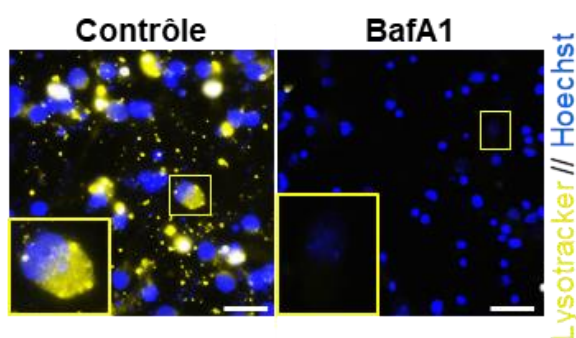


Figure 27 : Evaluation de l'effet inhibiteur des flux autophagiques de la Bafilomycine A1

Au stade DIV14, des neurones primaires ont été traités avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4 heures. Les neurones ont ensuite été marqués avec du LysoTracker™ 30 minutes avant leur fixation dans une solution de formaldéhyde. Les noyaux ont été marqués *a posteriori* au Hoechst. $N=1$; $n=10$. Barre d'échelle = 20 μ m.

Nous avons également vérifié que le traitement avec la BafA1 permettait de bloquer le flux autophagique des neurones primaires. Pour cela, nous avons mesuré par immunoempreinte l'expression de la protéine adaptatrice LC3, dont la forme LC3-II est directement liée aux autophagosomes (Figure 28A). Ainsi, il s'avère que le traitement à la BafA1 induit une hausse significative de l'expression de LC3-

RÉSULTATS

II, comparée à son expression en condition contrôle (**Figure 28B**). Ceci confirme l'efficacité de la BafA1 sur le blocage du flux autophagique, qui résulte en une accumulation de LC3-II puisque la dégradation lysosomale n'a pas lieu.

Pour la mise au point du modèle d'étude de l'autophagie, nous avons également examiné si les neurones primaires, soumis à un stress, étaient capables de répondre à une induction de l'autophagie. Pour se faire, nous avons combiné le traitement à la BafA1 qui nous permet d'évaluer le flux autophagique à une privation nutritive. Cette privation consiste en une incubation des neurones dans un milieu appauvri en AA (Earl's Balance Salt Serum, EBSS). Nous avons évalué notre modèle d'autophagie par immunoempreinte des protéines LC3 et p62 (**Figure 28A**). Ainsi, nous observons une tendance à l'augmentation de l'expression de LC3-II en cas de privation nutritive par rapport à la condition contrôle, mais qui n'apparaît cependant pas significative (**Figure 28B**). Toutefois, cette privation associée à la BafA1 permet une augmentation significative de l'expression de LC3-II par rapport à la condition BafA1 seule (**Figure 28B**), démontrant l'efficacité de la privation nutritive sur les neurones primaires dans l'induction de l'autophagie. Concernant la protéine réceptrice de l'autophagie p62, il apparaît que son expression est significativement augmentée en cas de traitement à la BafA1 (**Figure 28C**), montrant là encore l'efficacité de cet agent dans le blocage du flux autophagique puisque p62 n'est plus dégradée et s'accumule. En cas de privation, une tendance à la diminution de l'expression de p62 est visible mais sans être significative (**Figure 28C**). Par ailleurs, le traitement seul à la BafA1 apparaît plus efficace dans l'accumulation de p62 qu'en cas de combinaison avec la privation (**Figure 28C**). De ce fait, il s'avère que la variation de l'expression de p62 ne serait pas un bon indicateur de la modulation des flux autophagiques, contrairement à l'analyse de l'expression de LC3-II.

Nous avons aussi caractérisé notre modèle d'étude de l'autophagie par immunomarquage (**Figures 28D et 28E**). En condition contrôle, l'expression de p62 apparaît diffuse mais une accumulation de la protéine est également observé (**Figure 28D et 28E**). L'expression de p62 tend à augmenter en cas de privation nutritive (**Figure 28D et 28E**). Toutefois, lorsque le flux autophagique est bloqué par la BafA1, nous visualisons une forte accumulation de p62 au sein du soma neuronal, que cela soit combiné à une privation ou non (**Figure 28D et 28E**). Pour LC3, il apparaît difficile de discriminer distinctement des autophagosomes LC3-positifs au sein des corps cellulaires dans l'ensemble des conditions (**Figure 28D**). En effet, comme décrit en Introduction (en partie V.1.3.2.), la protéine LC3 existe sous ses formes LC3-I et LC3-II. La première correspond à la forme cytosolique libre de la protéine, alors que la seconde correspond à la forme conjuguée liée à la membrane de l'autophagosome. L'immunomarquage du LC3 endogène est réalisé à l'aide d'un anticorps reconnaissant à la fois les formes LC3-I et LC3-II, rendant ainsi la visualisation des autophagosomes très difficile. Ceci est d'autant plus le cas au sein des neurones puisque la forme LC3-I de la protéine semble s'exprimer plus fortement que sa forme LC3-II, comme observé par immunoempreinte (**Figure 28A**). Pour éviter ce problème, nous avons transduit les neurones primaires avec un vecteur lentiviral codant la construction GFP-LC3. Celle-ci permet de mettre en lumière bien plus facilement les autophagosomes GFP-LC3-positifs, notamment puisque tous les neurones de la

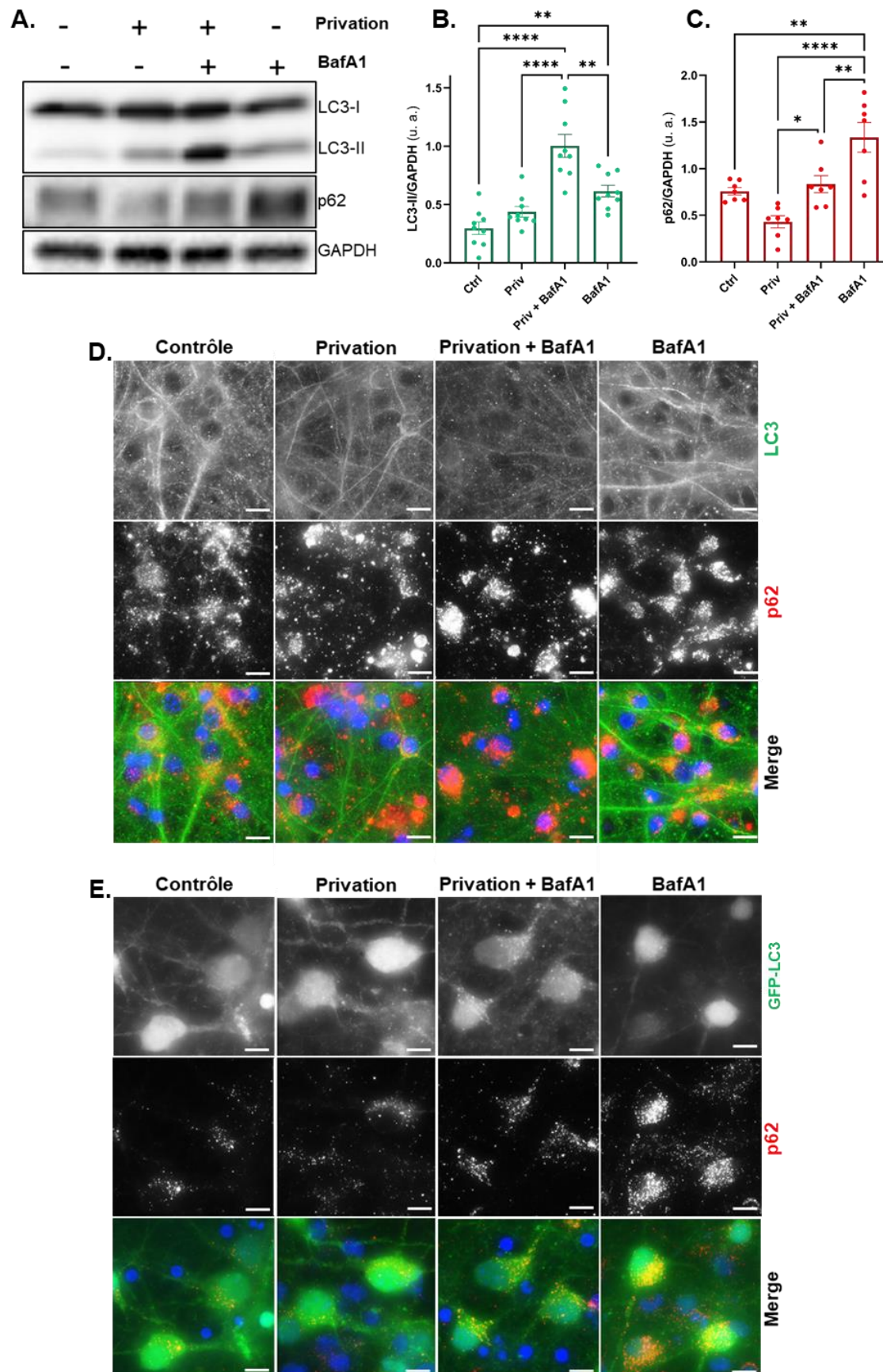


Figure 28 : Mise au point du modèle d'étude de l'autophagie dans les neurones primaires

Au stade DIV14, des neurones primaires ont été privés en nutriments (Privation) et traités ou non avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une

RÉSULTATS

solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, p62 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, suivant les différentes conditions de traitement. *Moyenne +/- S.E.M ; n=9 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **C.** Représentation graphique de la quantification de l'expression de p62 rapportée au contrôle de charge GAPDH, suivant les différentes conditions de traitement. *Moyenne +/- S.E.M ; n=7 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **D.** Les neurones primaires ont été immunomarqués au stade DIV14 pour LC3 et p62, puis leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 20µm.* **E.** Les neurones primaires ont été transduits au stade DIV1 avec un vecteur lentiviral codant pour GFP-LC3. Au stade DIV14, ils ont été immunomarqués pour p62 puis leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 10µm. Ctrl = contrôle ; Priv = Privation ; BafA1 = Bafilomycine A1*

culture primaire ne sont pas transduits par le vecteur lentiviral. Ceci permet de réduire un potentiel marquage trop important dans les axones et dendrites, empêchant la visualisation des autophagosomes dans le soma. Par ailleurs, il a été reconnu que la formation de « points » de GFP-LC3 (également appelés « GFP-LC3 dots ») reflète l'induction du processus autophagique puisqu'ils correspondent aux autophagosomes (Klionsky *et al.*, 2021). De plus, ces autophagosomes GFP-LC3-positifs semblent co-localisés avec le marquage de p62 notamment en cas de privation nutritive et de blocage du flux par la BafA1 (**Figure 28E**). Ainsi, l'ensemble de ces données issues d'immunomarquages démontre que les traitements de privation nutritive et de blocage du flux par la BafA1 sont efficaces au sein des neurones corticaux primaires, et que la construction GFP-LC3 apparaît être un outil efficace dans la détection (et donc aussi la quantification) des autophagosomes.

I.2. Confirmation du modèle au sein d'astrocytes primaires

Dans un second temps, nous avons étudié si la caractérisation des processus d'autophagie est possible avec un autre type cellulaire : des cultures primaires d'astrocytes corticaux de rat. Nous avons ainsi effectué les mêmes traitements que pour les neurones afin de déterminer s'il était également possible de moduler la réponse autophagique de ces cellules. Par immunoempreinte (**Figure 29A**), il apparaît d'une part que la BafA1 est efficace dans le blocage du flux autophagique astrocytaire, puisque l'expression de LC3-II augmente significativement dans cette condition en comparaison avec la condition contrôle (**Figure 29B**). Son expression n'apparaît cependant pas significativement modifiée en cas de privation nutritive par rapport à la condition contrôle, même s'il apparaît tout de même une tendance à la hausse (**Figure 29B**). De la même façon, l'expression de LC3-II n'est pas significativement plus importante en cas de privation et blocage du flux autophagique en comparaison avec un traitement seul à la BafA1, suggérant que les astrocytes ne répondent pas à la privation nutritive ou tout du moins mal car une tendance à l'augmentation est tout de même observée.

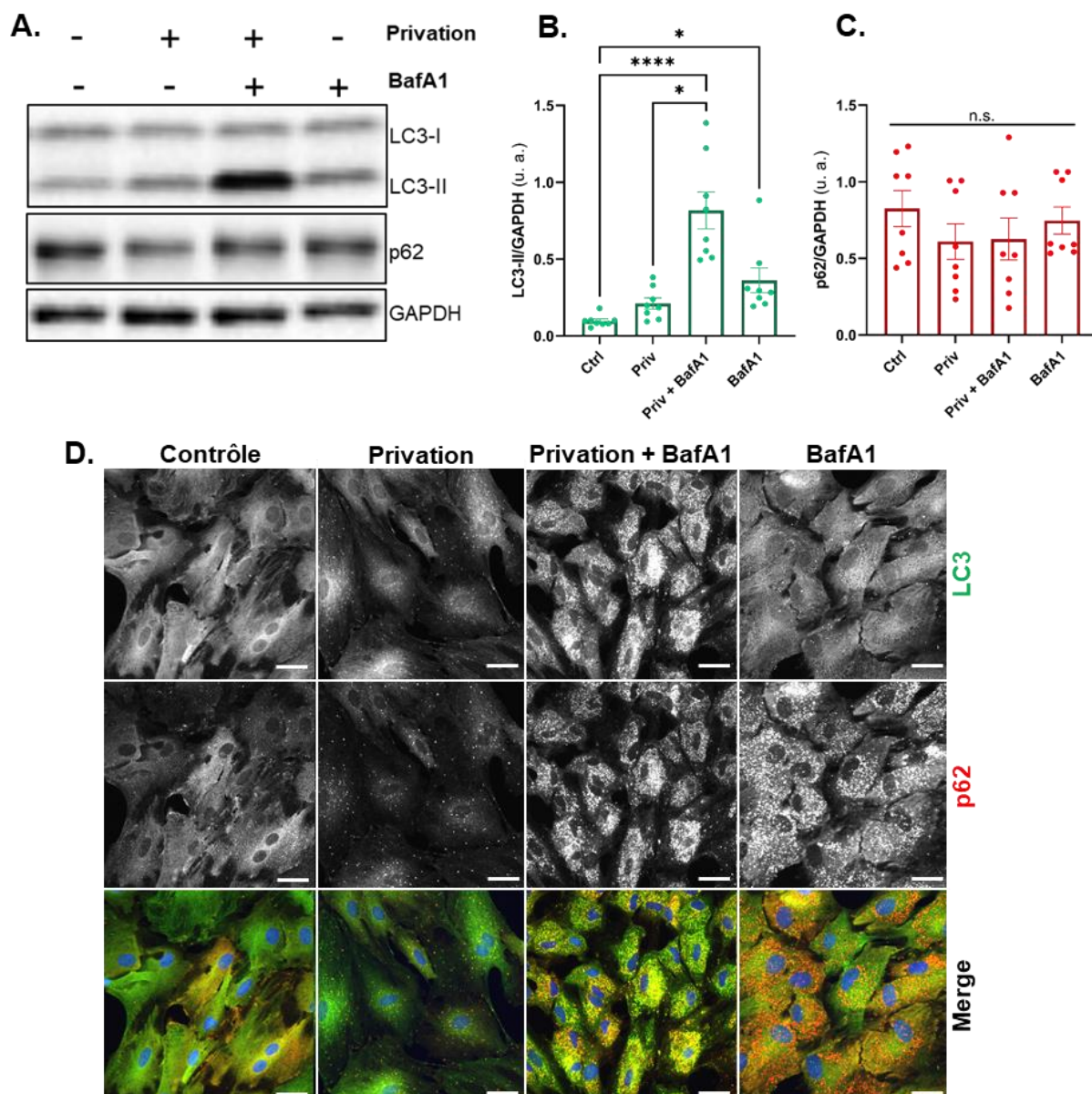


Figure 29 : Validation du modèle d'étude de l'autophagie au sein d'astrocytes primaires

Lorsqu'ils ont atteint une confluence d'environ 80%, des astrocytes primaires ont été privés en nutriments (Privation) et traités ou non avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces astrocytes primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, p62 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, suivant les différentes conditions de traitement. *Moyenne +/- S.E.M ; n=8 ; test de Kruskal-Wallis, test post-hoc de Dunn.* **C.** Représentation graphique de la quantification de l'expression de p62 rapportée au contrôle de charge GAPDH, suivant les différentes conditions de traitement. *Moyenne +/- S.E.M ; n=8 ; test de Kruskal-Wallis, test post-hoc de Dunn.* **D.** Les astrocytes primaires ont été immunomarqués pour LC3 et p63, puis leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 40X. Barre d'échelle = 20μm. Ctrl = contrôle ; Priv = Privation ; BafA1 = Bafilomycine A1 ; u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif

Les résultats obtenus par immunomarquage montrent que LC3 s'exprime de façon diffuse dans les astrocytes en condition contrôle (**Figure 29D**). Sous l'effet de la privation nutritive, un marquage plus important en région périnucléaire ainsi que la formation de points (qui semblent co-localisés avec p62),

pouvant correspondre à des autophagosomes, est observé (**Figure 29D**). En cas de blocage du flux, le marquage de LC3 apparaît légèrement plus intense et quelques accumulats de LC3 se forment dans l'ensemble de la cellule (**Figure 29D**). Enfin, la privation nutritive combinée au blocage du flux induit une accumulation de la protéine autour du noyau (**Figure 29D**). D'autre part, l'analyse par immunoempreinte montre que l'expression de p62 n'est pas modulée par la privation et/ou la BafA1 (**Figure 29C**). Toutefois, il apparaît par immunomarquage que l'expression de p62 semble diminuée en cas de privation nutritive (**Figure 29D**). De plus, lorsque le flux autophagique est bloqué par la BafA1, la protéine p62 semble s'accumuler en périphérie du noyau et son marquage apparaît bien moins diffus qu'en condition contrôle ou en privation (**Figure 29D**). De plus, il apparaît qu'en cas de privation et de blocage du flux (Privation + BafA1), les astrocytes primaires semblent se rétracter sur eux-mêmes et, de plus, les accumulats de LC3 et p62 apparaissent co-localisés (**Figure 29D**). Finalement, ces données, issues d'immunoempreinte et d'immunomarquage, montrent que les astrocytes primaires sont capables de répondre à la fois à la privation nutritive et au blocage du flux par la BafA1, nous permettant de confirmer notre modèle d'étude de l'autophagie au sein d'un second type cellulaire présent dans le SNC.

Ainsi, dans la majorité des cas, l'expression de LC3-II apparaît varier dans le sens théoriquement attendu des traitements, à la fois de privation mais aussi de blocage du flux. Ceci n'est cependant pas le cas de p62, dont la variation de l'expression par immunoempreinte n'est pas cohérente pour étudier l'induction de l'autophagie dans nos conditions et sur nos modèles cellulaires. Dès lors, l'analyse de l'expression de LC3 apparaît être une méthode robuste et nous démontre que les neurones corticaux de rat présentent un flux autophagique pouvant être modulé. Ainsi, dans le cadre de cette étude, l'expression de LC3 nous servira d'indicateur fiable de la modulation des flux autophagiques en lien avec l'expression de l' α -syn et LRRK2 au sein des neurones primaires.

I.3. Comparaison des flux autophagiques au sein de cultures primaires neuronales pure ou mixte

Toujours dans le cadre de la mise au point de notre modèle d'étude de l'autophagie dans les neurones, nous avons évalué la contribution d'autres cellules présentes au sein des cultures primaires de neurones. En effet, la mise en culture de cellules issues de la dissection des cortex d'embryons de rat induit la formation de cultures dites « mixtes » de neurones, qui comprennent également d'autres cellules (notamment des astrocytes) qui prolifèrent en même temps que les neurones mûrent en culture (**Figure 30A**). Ainsi, les résultats obtenus au sein de ces cultures pourraient s'avérer biaisés par la présence de ces autres cellules, que ce soit dans leur rôle de soutien aux neurones qui peuvent ainsi potentiellement répondre différemment à nos traitements, mais aussi puisque les protéines issues de la lyse pour réaliser les immunoempreintes correspondent à différentes populations cellulaires. Afin d'obtenir des cultures dites « pures » de neurones, nous avons alors traité des cultures de neurones primaires au stade DIV4 avec de la cytosine arabinofuranoside (AraC). L'AraC est un inhibiteur de la

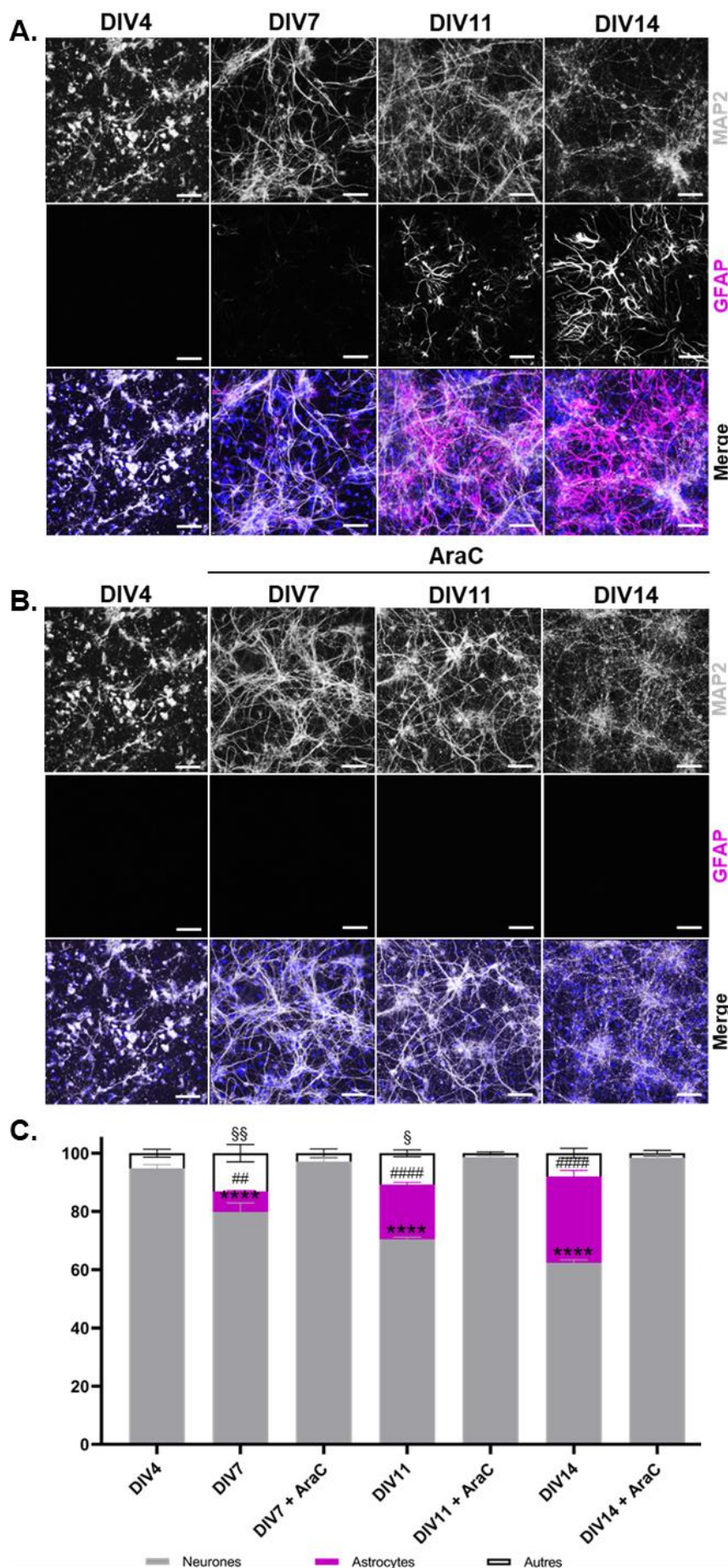


Figure 30 : Estimation des populations cellulaires présentes au sein de cultures primaires pures ou mixtes de neurones

Au stade DIV4, des cultures primaires de neurones ont été traitées à l'AraC (2 μ M), formant ainsi des neurones primaires pures. D'autres neurones n'ont eux pas été traités à l'AraC, formant ainsi des neurones primaires mixtes. Les neurones ont ainsi été fixés dans une solution de formaldéhyde à différents stades de maturation. **A. B.** Les cultures ont été immunomarquées pour MAP2 et GFAP, puis leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 20X. Barre d'échelle = 70 μ m **C.** Représentation graphique de la quantification (effectuée sur des images acquises au grossissement 63X) du pourcentage occupé par chaque population cellulaire (neurones, astrocytes, autres types cellulaires) au sein de cultures primaires mixtes ou pures (traitées à l'AraC) à différents stades de maturation neuronale. Moyenne \pm S.E.M; $n=3$; ANOVA à deux critères, test post-hoc de Dunnett. Comparaison entre même type cellulaire par rapport à la valeur contrôle fixée à DIV4 (significativité: * = pour les neurones; # = pour les astrocytes; § = pour les autres cellules).

RÉSULTATS

réplication de l'ADN, et donc de la prolifération cellulaire. (**Figure 30B**). En effet, les cultures n'ayant pas été traitées à l'AraC présentent une proportion d'astrocytes de plus en plus importante avec le stade de maturation (**Figure 30A**). Par immunomarquage, nous avons ainsi pu estimer la proportion de neurones et d'astrocytes au sein de nos cultures primaires pures ou mixtes, à différents stades de maturation neuronale (**Figure 30C**). Il apparaît qu'à DIV4, la population cellulaire est majoritairement neuronale (94,7%), et seul un très faible pourcentage (5,3%) paraît occupé par une autre population non-déterminée (**Figure 30C**). Cette population serait probablement constituée d'astrocytes immatures n'ayant pas encore acquis leur expression suffisante en protéine à filament intermédiaire GFAP pour être détectée ; de neurones en maturation ou qui meurent et qui n'expriment donc plus (ou du moins pas suffisamment) la protéine neuronale associée aux microtubules MAP2 ; ou encore d'autres cellules éventuelles (microglie, oligodendrocytes, cellules épithéliales...). Ainsi, lorsque ces cultures primaires sont traitées à l'AraC à DIV4, il apparaît que le pourcentage occupé par la population neuronale ne varie pas avec leur maturation (**Figure 30C**). A l'inverse, lorsqu'elles ne sont pas traitées, il apparaît qu'une population astrocytaire représente 7% de la population totale à DIV7, jusqu'à atteindre 19% à DIV11 et 20% à DIV14 (**Figure 30B**). De la même façon, la proportion en cellules indéterminées augmente (**Figure 30B**). Ceci se produit alors au détriment du pourcentage occupé par la population neuronale (bien que le nombre de neurones ne change pas ou seulement légèrement à DIV14 de par leur mort), qui passe de 80% à DIV7, à 70% à DIV11 et jusqu'à ne représenter que 62% de la population cellulaire totale à DIV14 (**Figure 30B**).

L'analyse des pourcentages représentés par des populations cellulaires différentes au sein de cultures primaires pures ou mixtes de neurones nous a permis de montrer la forte présence d'astrocytes à DIV14, stade de maturation établi de notre modèle d'étude de l'autophagie, au sein des cultures mixtes. Nous avons ainsi vérifié par immunoempreinte l'impact de cette présence conséquente d'astrocytes sur les flux autophagiques (**Figure 31A**). La quantification de l'expression normalisée de LC3-II en condition BafA1 rapportée à son expression normalisée en condition non-traité nous permet d'évaluer le flux autophagique basal des neurones. Puisqu'il est supérieur à 1 à la fois en condition contrôle (1,15) et en condition traitée à l'AraC (1,37), nous pouvons une nouvelle fois confirmer qu'il existe un flux autophagique basal au sein de ces cultures. Il apparaît ainsi que le flux autophagique basal des neurones primaires pures est significativement plus important que les neurones primaires mixtes (**Figure 31B**). Nous avons aussi évalué si ces deux types de cultures détenaient des flux autophagiques induits similaires. Nous avons alors quantifié l'expression normalisée de LC3-II en condition de privation et de blocage du flux rapportée à son expression normalisée en condition de blocage du flux seul. Puisqu'il est supérieur à 1 à la fois en condition contrôle (1,33) et en condition traitée à l'AraC (1,31), nous pouvons affirmer qu'il existe un flux autophagique induit au sein de ces cultures, qui n'est cependant pas modifié que les astrocytes soient présents ou non (**Figure 31C**).

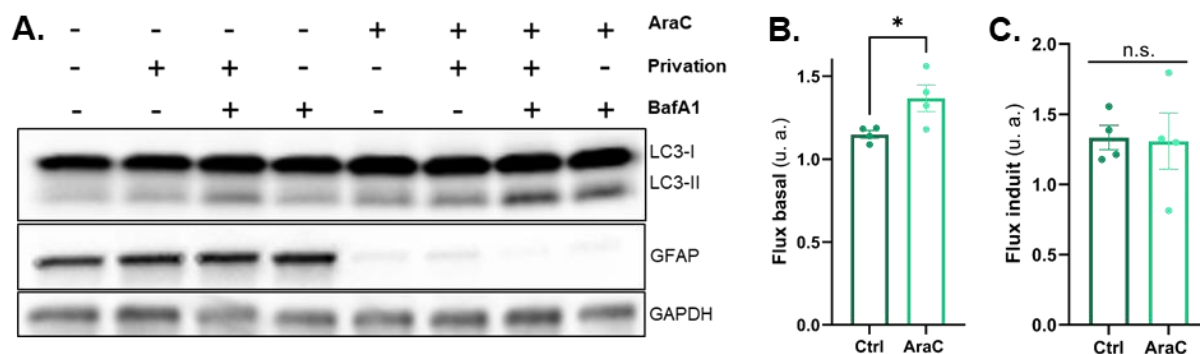


Figure 31 : Comparaison des flux autophagiques au sein de cultures mixtes ou pures de neurones primaires

Au stade DIV4, des neurones primaires ont été traités (ou non) à l'AraC (2 μ M). Puis, au stade DIV14, les neurones primaires mixtes ou pures ont été privés en nutriments (Privation) et traités ou non avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde.

A. Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, GFAP et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; t-test non-apparié.* **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; t-test non-apparié. u.a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

En résumé, nous avons validé notre modèle d'étude de l'autophagie au sein de culture primaire de neurones corticaux de rat. Par l'application de ce modèle à un autre type cellulaire, des astrocytes embryonnaires corticaux de rat, nous avons mis en évidence que l'analyse de l'expression de LC3-II est un marqueur adapté de la modulation des flux autophagiques, en comparaison avec p62. Nous avons également pu estimer la répercussion de la présence (ou non) d'astrocytes sur les flux autophagiques au sein de cultures mixtes ou pures de neurones primaires.

Suite à ce travail de validation, nous avons étudié l'impact de l' α -syn et LRRK2 dans les modèles d'études de l'autophagie. Nous avons analysé les flux autophagiques au sein de cultures de neurones pures et de culture mixtes dans la suite de ces résultats de thèse. Ceci nous a permis d'évaluer l'importance de l'environnement cellulaire (et notamment de celui des astrocytes) sur la réponse des neurones aux stress autophagiques, en lien avec l'expression de l' α -syn et LRRK2.

II. Effet de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur les flux autophagiques

Nous avons réalisé une étude de l'effet de l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques en utilisant un modèle de co-expression de ces deux protéines au sein des neurones primaires après transduction par des vecteurs lentiviraux (**Figure 32**). Ces travaux réalisés dans notre équipe par Camille Gardier peuvent être retrouvés au sein de sa thèse intitulée « Etude de la coopération de l'alpha-synucléine et de LRRK2 dans les dysfonctions mitochondriales dans la maladie de Parkinson » ainsi que dans son article en préparation.

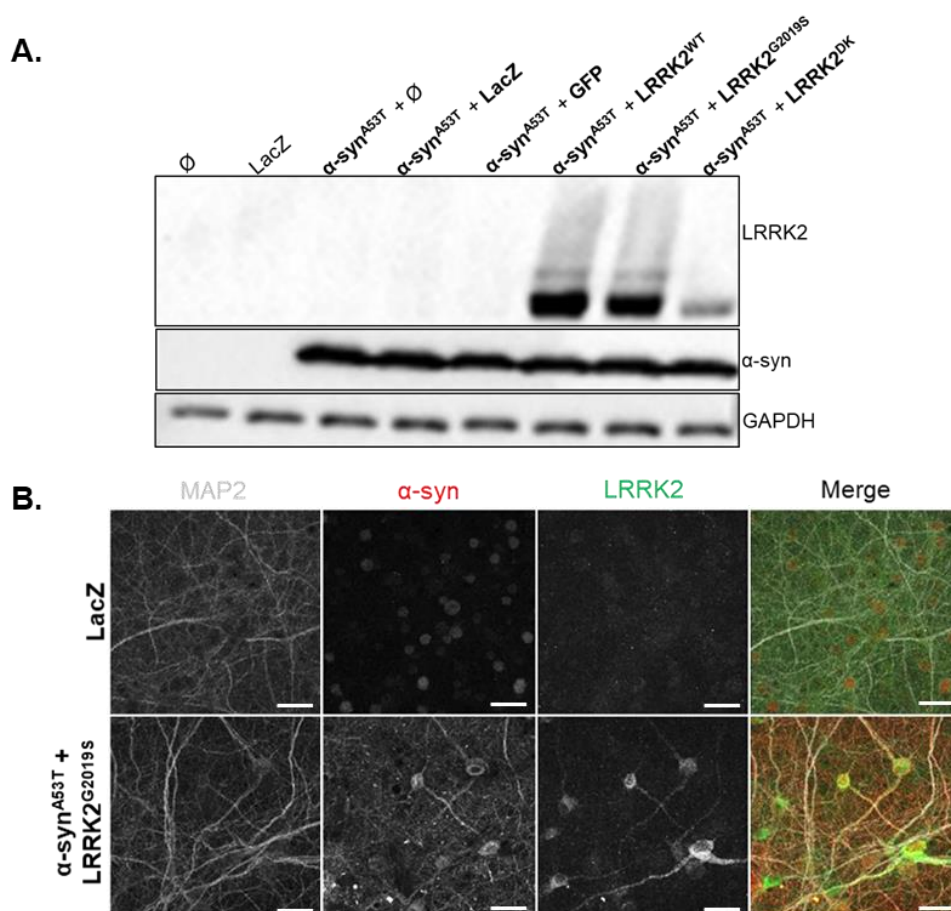


Figure 32 : Modèle de co-expression de l' α -syn et LRRK2 au sein de neurones primaires

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits (ou non) avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK}. En parallèle, pour faire un contrôle de charge viral, les neurones ont été transduits avec GFP ou LacZ. Au stade DIV14, ces neurones ont été soit lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LRRK2, α -syn et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Les neurones primaires ont été immunomarqués au stade DIV14 pour LC3 et p63, puis leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images prises au microscope confocal. *Barre d'échelle = 30 μ m. Ces travaux ont été réalisés par Camille Gardier au cours de sa thèse dans notre équipe.*

II.1. Effet de l' α -syn^{A53T} sur les flux autophagiques

Afin d'analyser l'impact de l' α -syn^{A53T} sur les flux autophagiques, nous avons transduits des neurones au stade DIV1 avec des vecteurs lentiviraux exprimant l' α -syn^{A53T} ou LacZ (en tant que contrôle de charge virale). Les neurones transduits ont ensuite été traités et analysés au stade DIV14.

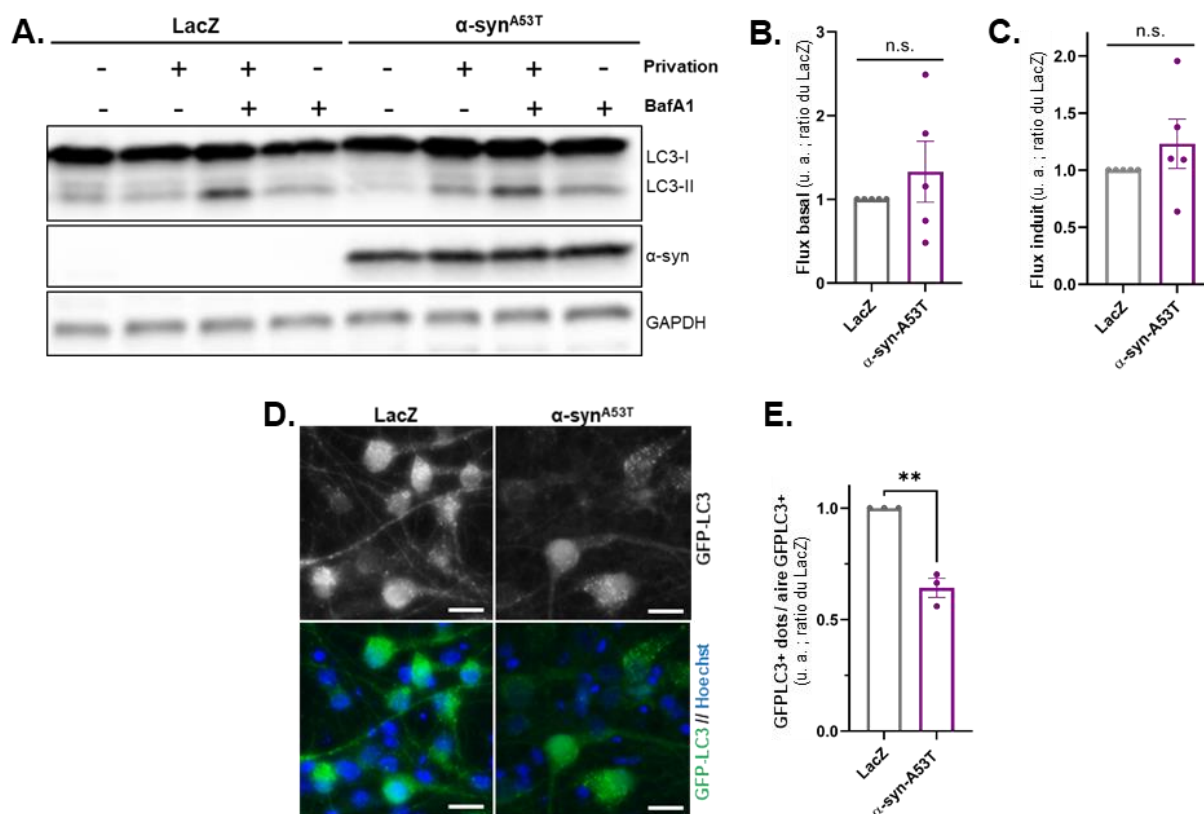


Figure 33: Effet de l'expression de l' α -syn^{A53T} sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T} ou LacZ, un contrôle de charge virale. Au stade DIV14, ces neurones ont été privés en nutriments (Privation) et/ou traités avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, α -syn et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=5 ; t-test non-apparié.* **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M ; n=5 ; test de Wilcoxon-Mann-Whitney.* **D.** Les neurones transduits ont subi une privation nutritive et un blocage du flux par la BafA1 (100nM) pendant 4 heures à DIV14. Puis, leurs noyaux ont été marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 10 μ m* **E.** Représentation graphique de la quantification de l'aire occupée par les GFP-LC3 dots rapportée à l'aire totale GFP-LC3-positive. *Moyenne +/- S.E.M ; N=3 ; n=11 (à raison d'environ 113 neurones analysés par condition et par expérience) ; t-test non-apparié. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

Nous avons premièrement étudié l'effet de l' α -syn^{A53T} au sein de cultures primaires mixtes de neurones corticaux. Ainsi, par immunoempreinte (**Figure 33A**), nous avons mesuré les flux

RÉSULTATS

autophagiques basal et induit. Les résultats indiquent qu'ils ne sont pas modifiés par l'expression de l' α -syn^{A53T} dans ces conditions de culture (**Figure 33B et 33C**). Nous avons alors opté pour une autre approche en transduisant ces neurones – exprimant également LacZ ou l' α -syn^{A53T} – avec un vecteur lentiviral codant la construction GFP-LC3, permettant de suivre directement les autophagosomes au sein du corps cellulaire (**Figure 33D**). Il apparaît alors que les neurones exprimant l' α -syn^{A53T} et soumis à une privation nutritive combinée à un blocage du flux par la BafA1 présentent une aire occupée par les points GFP-LC3 positifs sur l'ensemble de l'aire GFP-LC3 positive significativement plus faible, reflétant une plus faible accumulation d'autophagosomes (**Figure 33E**). Ainsi, l' α -syn^{A53T} pourrait réduire l'accumulation d'autophagosomes induite par la privation nutritive et le blocage du flux. L' α -syn^{A53T} semble donc induire une inhibition de l'autophagie.

Nous avons utilisé la même approche par immunoempreinte mais au sein de cultures primaires pures de neurones corticaux (**Figure 34A**). D'une part, les neurones exprimant l' α -syn^{A53T} présentent un flux basal significativement plus faible que les neurones exprimant LacZ, la condition contrôle (**Figure 34B**). D'autre part, les neurones exprimant l' α -syn^{A53T} montrent un flux autophagique induit significativement plus important que les neurones exprimant LacZ (**Figure 34C**). Cela indique que l' α -syn^{A53T}, sans changer le flux autophagique basal, pourrait favoriser la formation d'autophagosomes en cas de privation nutritive.

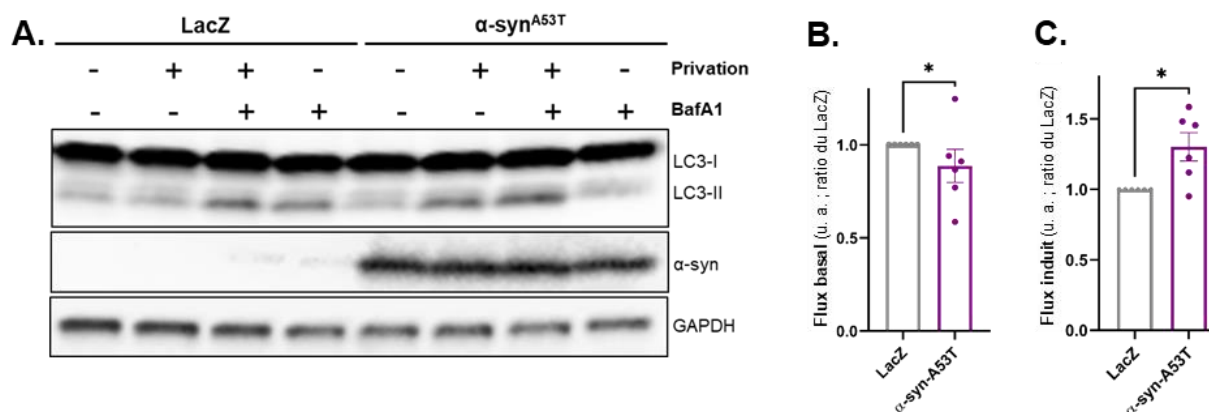


Figure 34 : Effet de l'expression de l' α -syn^{A53T} sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T} ou LacZ, un contrôle de charge viral. Au stade DIV4, ces neurones ont été traités (ou non) à l'AraC (2 μ M). Au stade DIV14, les cultures pures et mixtes de neurones ont été privées en nutriments (Privation) et/ou traitées avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, α -syn et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M; n=6; test de Wilcoxon-Mann-Whitney.* **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M; n=6; t-test non-apparié. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

Finalement, l'ensemble de ces données met en évidence que l'expression de l' α -syn^{A53T} diminue le flux autophagique basal au sein des neurones (**Figure 34B**). Toutefois, des résultats contradictoires sont observés concernant l'impact de l' α -syn^{A53T} sur le flux autophagique induit. En effet, il apparaît tantôt inchangé au sein de culture mixte de neurones (**Figure 33C**) – mais avec toutefois une diminution de l'accumulation d'autophagosomes en cas de privation et blocage du flux (**Figure 33E**) - et tantôt plus fort au sein de cultures pures (**Figure 34C**). Nous reviendrons sur ces résultats *a priori* discordants dans la Discussion.

II.2. Effet de LRRK2 sur les flux autophagiques

Afin d'analyser l'impact de LRRK2 sur les flux autophagiques, nous avons transduits des neurones au stade DIV1 avec des vecteurs lentiviraux exprimant LRRK2^{WT/G2019S/DK} ou LacZ (en tant que contrôle de charge virale). L'ensemble de ces formes de LRRK2 nous permet d'une part d'étudier l'impact de la mutation G2019S sur l'effet de l' α -syn^{A53T}, en comparaison avec sa forme sauvage, et d'autre part de vérifier avec la forme DK si l'activité catalytique de la kinase de LRRK2 est responsable de cette modulation. Enfin, les neurones transduits ont ensuite été traités et analysés au stade DIV14.

Nous avons premièrement évalué l'effet de l'expression de LRRK2 sur les flux autophagiques par immunoempreinte (**Figure 35A**). Il apparaît que ni le flux basal (**Figure 35B**) ni le flux induit (**Figure 35C**) ne sont modulés par l'expression de LRRK2^{WT/G2019S/DK} au sein de cultures neuronales mixtes. Nous avons également analysé le flux autophagique induit par l'utilisation du vecteur codant le GFP-LC3 (**Figure 35D**), corroborant les résultats par immunoempreinte, LRRK2, indépendamment de sa mutation, n'a pas d'effet sur l'accumulation d'autophagosomes au sein de cultures neuronales mixtes (**Figure 35E**).

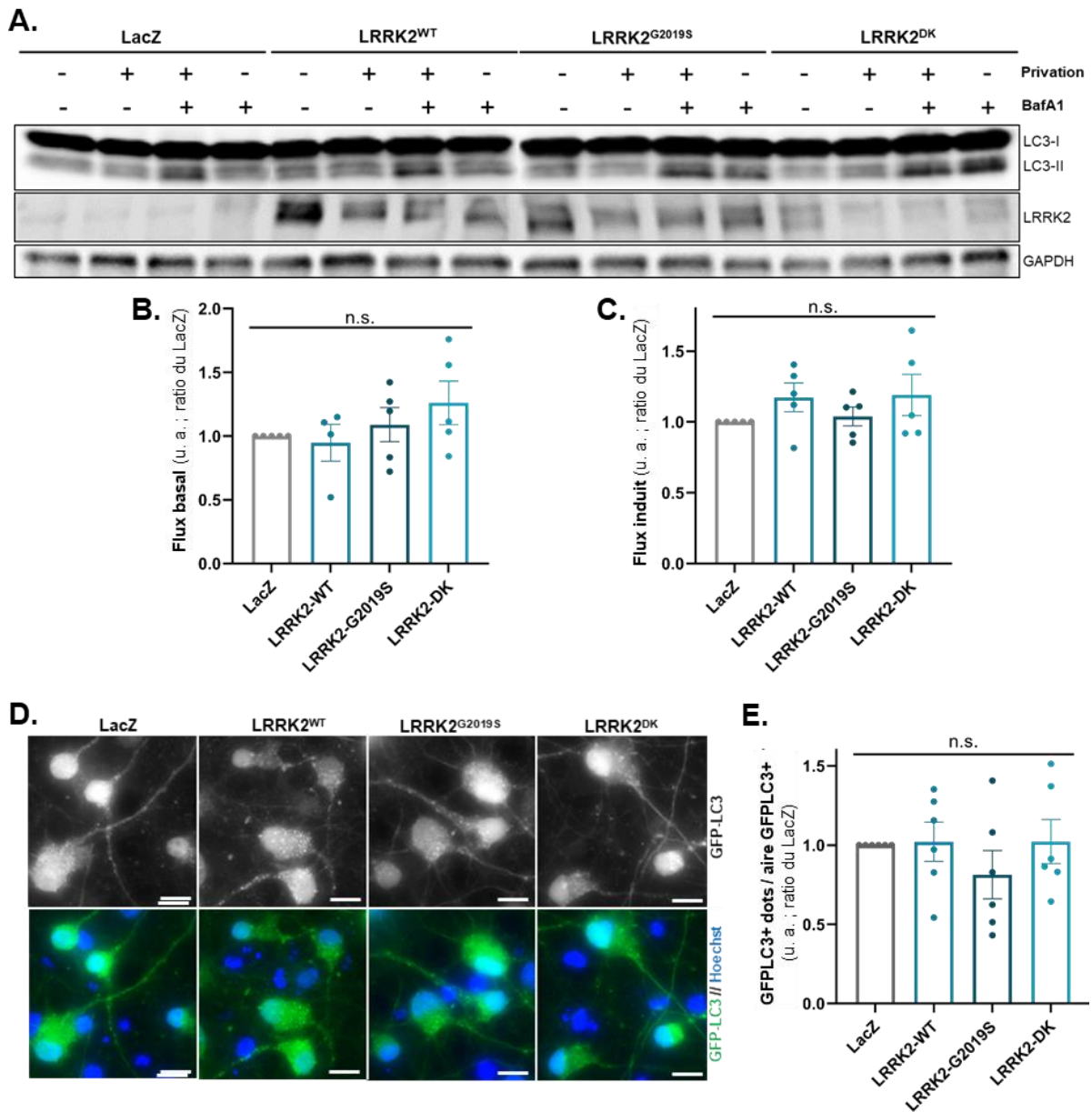


Figure 35 : Effet de l'expression de LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} ou LacZ, un contrôle de charge virale. Au stade DIV14, ces neurones ont été privés en nutriments (Privation) et/ou traités avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, LRRK2 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=5 (4 en condition « LRRK2^{WT} ») ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M ; n=5 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **D.** Les neurones transduits ont subi une privation nutritive et un blocage du flux à la BafA1 (100nM) pendant 4 heures à DIV14. Puis, ils ont eu leurs noyaux marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 10μm* **E.** Représentation graphique de la quantification de l'aire occupée par les GFP-LC3 dots rapportée à l'aire totale GFP-LC3-positive. *Moyenne +/- S.E.M ; N=6 ; n=11 (à raison d'environ 100 neurones analysés par condition et par expérience). u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

La même approche par immunoempreinte a été appliquée pour analyser l'impact de LRRK2 au sein de cultures primaires pures de neurones corticaux, (**Figure 36A**). Dans ce cas, et comme précédemment, il apparaît que LRRK2 ne semble pas moduler les flux autophagiques basal (**Figure 36B**) et induit (**Figure 36C**), qu'elle que soit la forme exprimée.

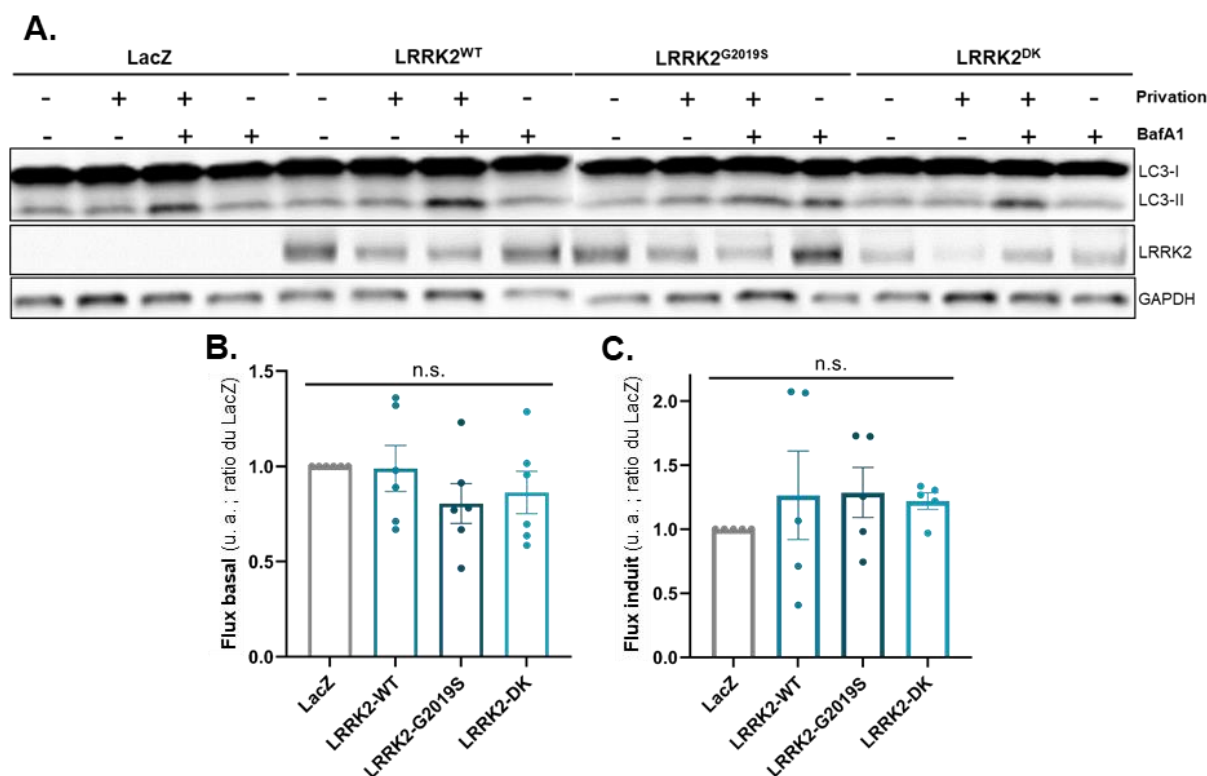


Figure 36 : Effet de l'expression de LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} ou LacZ, un contrôle de charge viral. Au stade DIV4, ces neurones ont été traités (ou non) à l'AraC (2µM). Au stade DIV14, les cultures pures et mixtes de neurones ont été privées en nutriments (Privation) et/ou traitées avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, LRRK2 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. Moyenne +/- S.E.M; n=6 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey. **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. Moyenne +/- S.E.M; n=5 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif

Ainsi, l'ensemble de ces données montrent que LRRK2 n'aurait pas un effet majeur sur la modulation des flux autophagiques neuronaux, puisque les flux restent inchangés suivant l'expression ou non de LRRK2^{WT/G2019S/DK}, qu'il s'agisse de cultures mixtes ou de cultures pures de neurones. LRRK2 pourrait alors nécessiter un contexte cellulaire particulier afin d'exercer son rôle modulateur de l'autophagie. Ce contexte pourrait alors se retrouver dans l'expression conjointe de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2.

II.3. Effet combiné de l' α -syn^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques

Afin de déterminer si LRRK2 pouvait moduler l'effet de l' α -syn sur les flux autophagiques, des neurones primaires corticaux ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux permettant la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec soit LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} ou LacZ (contrôle de charge virale). L'utilisation de ces trois formes différentes de LRRK2 visait à déterminer si l'activité kinase de LRRK2 jouait un rôle dans cette modulation. Ces neurones transduits ont ensuite été traités et analysés à DIV14.

Premièrement, l'étude a été conduite sur des cultures mixtes de neurone. L'analyse du flux neuronal basal a été effectuée par immunoempreinte (**Figure 37A**). Grâce à la quantification de la protéine LC3-II, nous avons estimé le flux basal. Celui-ci apparaît significativement plus important en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} en comparaison avec les deux autres formes de LRRK2 ou en cas de co-expression avec LacZ (**Figure 37B**). Cet effet serait ainsi potentiellement dépendant de l'activité kinase de LRRK2 puisque qu'aucune différence significative dans le flux autophagique basal n'a été relevée en cas de co-expression de l' α -syn avec LRRK2^{DK}. Nous avons également pu considérer le flux induit, toujours par immunoempreinte (**Figure 37C**). Dans ce cas, il s'avère que l'expression de LRRK2 n'aurait pas d'impact sur l'effet de l' α -syn^{A53T} (**Figure 37D**). Deuxièmement, nous avons souhaité valider ces résultats par une autre méthode : l'utilisation de la construction GFP-LC3 (**Figure 37E**) pour une analyse cellulaire par immunofluorescence quantitative. La quantification de l'aire occupée par les « GFP-LC3 dots » sur l'ensemble de la région GFP-LC3 positive met en évidence une accumulation plus importante d'autophagosomes pour les neurones exprimant l' α -syn^{A53T} et LRRK2^{G2019S} ou LRRK2^{DK}, lorsqu'ils sont soumis à une privation nutritive et un blocage du flux par la BafA1 (**Figure 37F**). Cela indique que dans ces deux conditions, une forte accumulation d'autophagosomes a eu lieu, résultant d'une plus forte formation en amont.

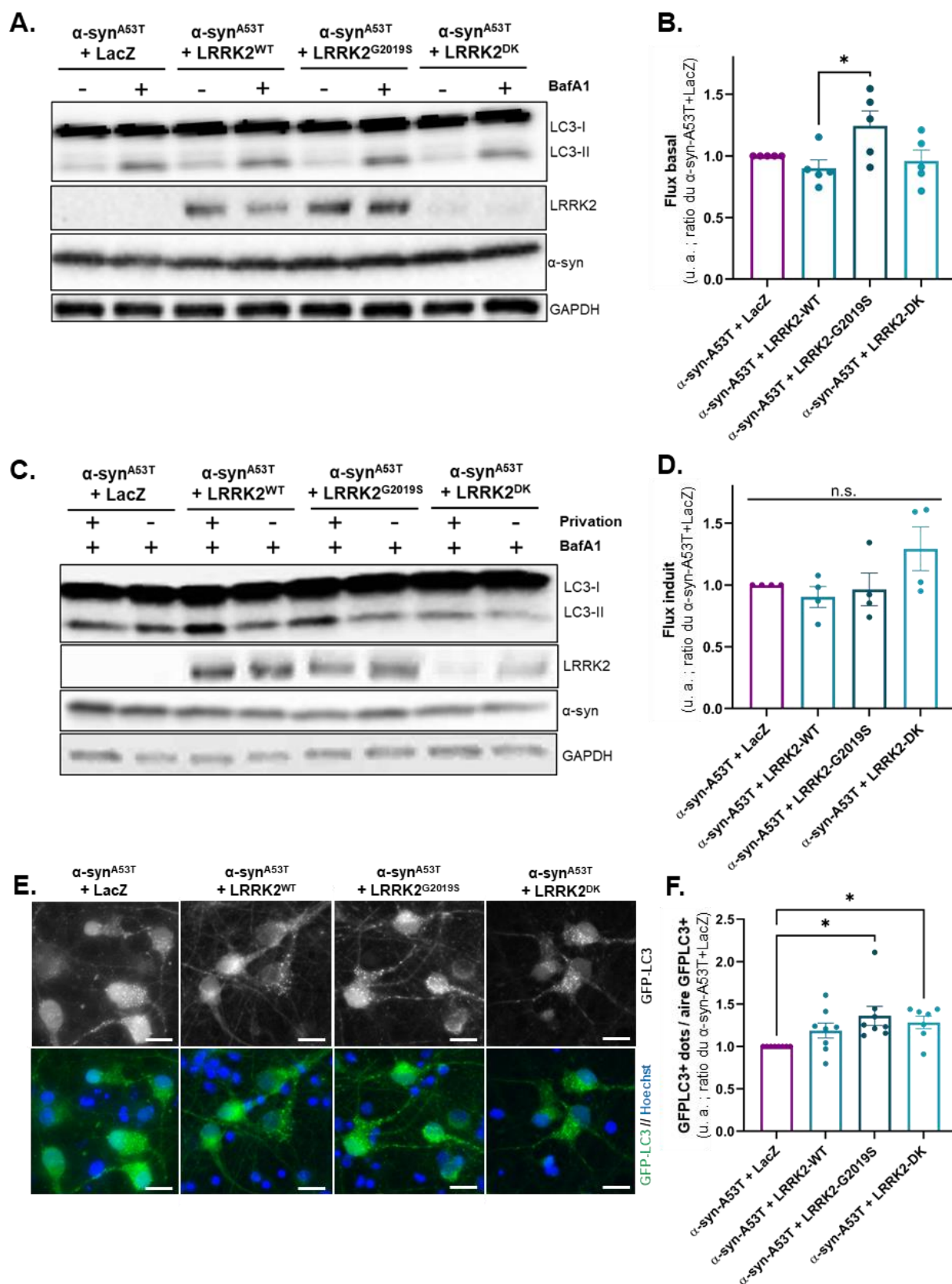


Figure 37 : Effet combiné de l'expression de l' α -syn^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales mixtes

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ, un contrôle de charge virale. Au stade DIV14, ces neurones ont été privés en nutriments (Privation) et/ou traités avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer

RÉSULTATS

les extraits protéiques, soit fixés dans une solution de formaldéhyde. **A. C.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, LRRK2 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=5 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **D.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.* **E.** Les neurones transduits ont subis une privation nutritive et un blocage du flux par la BafA1 (100nM) pendant 4 heures à DIV14. Puis, ils ont eu leurs noyaux marqués dans une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 10µm* **F.** Représentation graphique de la quantification de l'aire occupée par les GFP-LC3 dots rapportée à l'aire totale GFP-LC3 positive. *Moyenne +/- S.E.M ; N=8 ; n=11 (à raison d'environ 80 neurones analysés par expérience) ; Test de Kruskal-Wallis, test post-hoc de Dunn. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

Nous avons appliqué la même approche expérimentale à des cultures neuronales pures. L'étude par immunoempreinte (**Figure 38A et 38C**) révèle que, dans ce cas, LRRK2 ne modulerait l'effet de l' α -syn^{A53T} ni sur le flux neuronal basal (**Figure 38B**) ni sur le flux induit (**Figure 38C**). La force du flux autophagique a également pu être évaluée par l'utilisation du vecteur codant GFP-LC3 (**Figure 38E**). Il s'avère alors que LRRK2 ne module pas non plus l'accumulation d'autophagosomes en cas de privation nutritive et de blocage du flux, en lien avec l'expression de l' α -syn^{A53T} (**Figure 38F**).

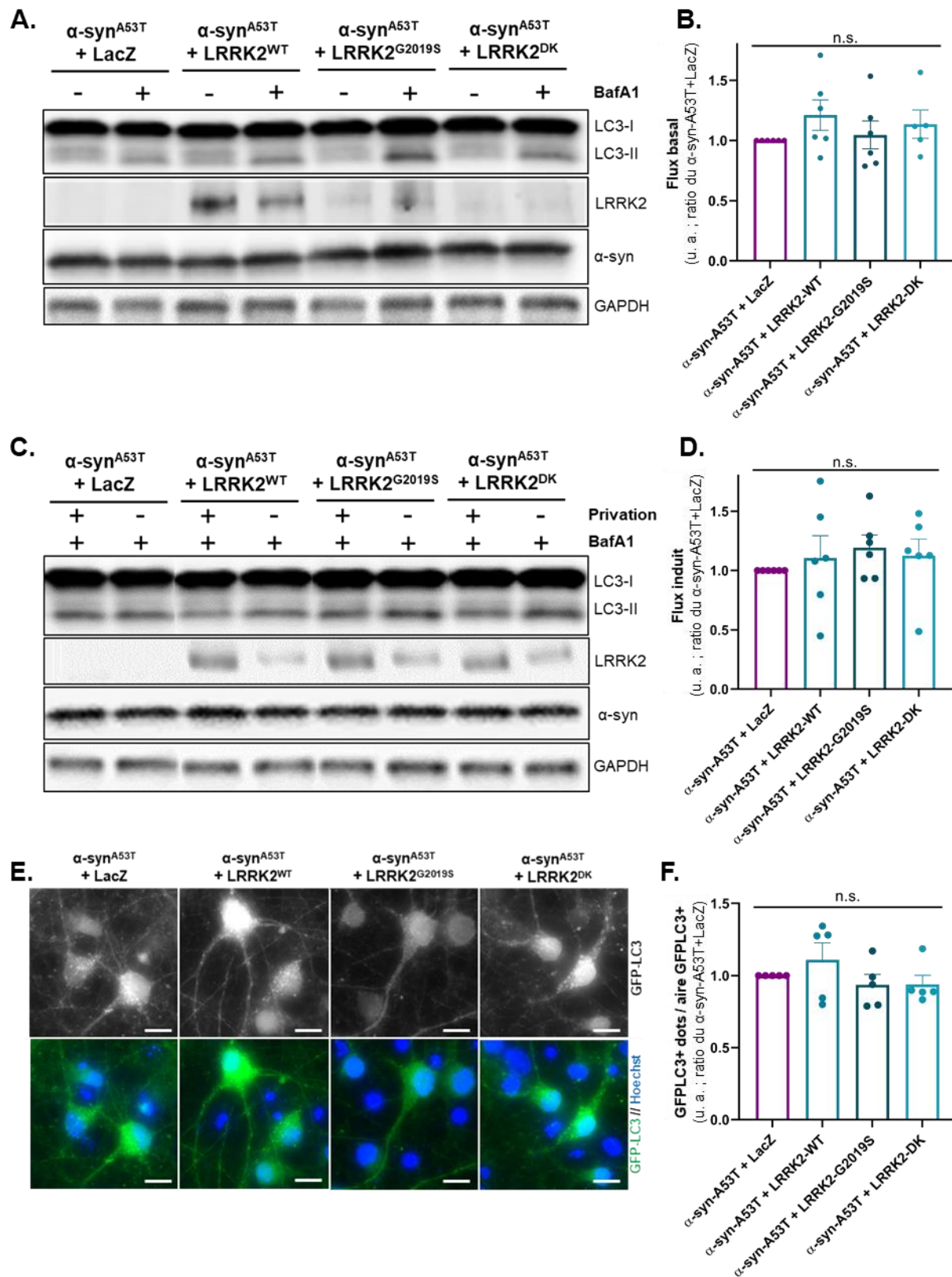


Figure 38 : Effet de l'expression combinée de l' α -syn^{A53T} et LRRK2 sur les flux autophagiques au sein de cultures neuronales pures

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ, un contrôle de charge virale. Au stade DIV4, les cultures de neurones ont été traitées à l'AraC (2 μ M). Au stade DIV14, ces neurones ont été privés en nutriments (Privation) et/ou traités avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4h. Ces neurones primaires ont ainsi soit été lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques, soit fixés dans une solution

RÉSULTATS

de formaldéhyde. **A. C.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de LC3B, LRRK2 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique basal, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de blocage du flux BafA1 rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=6 (5 pour la condition « α -syn^{A53T} + LRRK2^{DK} ») ; test de Kruskal-Wallis, test post-hoc de Dunn.* **D.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de privation et blocage du flux BafA1 rapportée à la condition BafA1 seule. *Moyenne +/- S.E.M ; n=6 ; test de Kruskal-Wallis, test post-hoc de Dunn.* **E.** Les neurones transduits ont subis une privation nutritive et un blocage du flux par la BafA1 (100nM) pendant 4 heures à DIV14. Puis, leurs noyaux ont été marqués par une solution de Hoechst. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 63X. *Barre d'échelle = 10 μ m* **F.** Représentation graphique de la quantification de l'aire occupée par les GFP-LC3 dots rapportée à l'aire totale GFP-LC3 positive. *Moyenne +/- S.E.M ; N=5 ; n=11 (à raison d'environ 84 neurones analysés par expérience) ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif*

En résumé, l' α -syn^{A53T} induit une diminution du flux autophagique basal. Elle permet également une plus grande accumulation somatique d'autophagosomes en réponse à une privation nutritive et un blocage du flux. L' α -syn apparait aussi favoriser le flux autophagique induit. Par ailleurs, bien que LRRK2 ne soit pas suffisante pour moduler seule les flux autophagiques, la co-expression de l' α -syn^{A53T} et LRRK2^{G2019S} augmente le flux autophagique basal et produit une plus forte accumulation d'autophagosomes dans le soma en réponse à une privation et un blocage du flux. Ainsi, ces résultats suggèrent que l'impact « protoxique » de LRRK2^{G2019S} ne se révélerait qu'en présence d'un autre facteur délétère, l' α -syn^{A53T}.

L'ensemble de ces éléments confirme donc l'existence d'une interaction fonctionnelle entre l' α -syn et LRRK2 au sein des processus autophagiques. Nous avons également souhaité analyser l'interaction fonctionnelle entre l' α -syn et LRRK2 dans le cadre d'une autre manifestation liée à la pathogénicité de l' α -syn, sa phosphorylation sur la S129, en lien avec le système autophagique.

III. Effet de LRRK2 sur la phosphorylation de l'alpha-synucléine dans les neurones

III.1. L' α -syn^{A53T} humaine peut être phosphorylée sur la Ser129 au sein de neurones corticaux primaires.

Il a été décrit que 90% de l' α -syn était phosphorylée sur la S129 au sein des CLs, alors que seulement 4% de l' α -syn apparaît phosphorylée au sein de cerveaux sains (Anderson *et al.*, 2006 ; Fujiwara *et al.*, 2002). LRRK2 pourrait – directement ou indirectement – moduler cette phosphorylation qui représente un véritable marqueur physiopathologique de la MP. Nous avons alors vérifié que l' α -syn pouvait être phosphorylée sur la S129 au sein de notre modèle d'expression de l' α -syn dans des neurones primaires corticaux en culture mixte. Il apparaît que les neurones transduits avec le contrôle de charge viral LacZ ne présentent ni de marquage de l' α -syn humaine ni de pS129 (**Figure 39**). Quant aux neurones transduits avec l' α -syn^{A53T}, ils présentent un marquage somatique de la pS129 et seuls quelques neurites apparaissent marqués alors que l' α -syn humaine s'exprime dans l'ensemble du neurone, du soma jusqu'aux neurites (**Figure 39**). Enfin, le marquage pS129 apparaît diffus et ne met en lumière aucun agrégat au sein des cellules transduites avec l' α -syn^{A53T} (**Figure 39**).

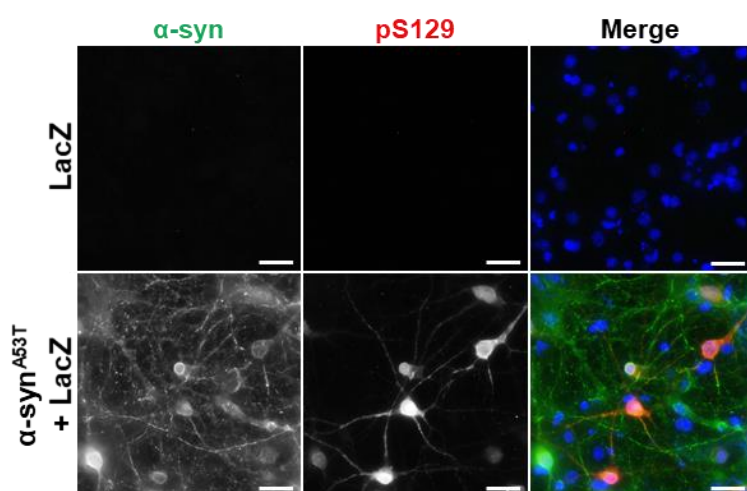


Figure 39 : L' α -syn^{A53T} humaine au sein de neurones corticaux primaires peut être phosphorylée sur la Ser129

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T} et/ou LacZ, un contrôle de charge viral. Au stade DIV14, ces neurones ont été fixés dans une solution de formaldéhyde puis ont été immunomarqués pour l' α -syn et la pS129. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 40X. Barre d'échelle = 20 μ m.

III.2. La phosphorylation de l' α -syn^{A53T} est dépendante de l'activité kinase de LRRK2.

Afin de déterminer l'impact de l'expression de LRRK2 sur la phosphorylation de l' α -syn, nous avons transduit des neurones corticaux primaires (en culture mixte) avec des vecteurs lentiviraux permettant l'expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} ou LacZ en tant que contrôle de charge virale. L'utilisation de ces trois formes différentes de LRRK2 nous permet de discriminer si la

fonction kinase de LRRK2 joue un rôle crucial dans cette phosphorylation. Ces neurones transduits ont ensuite été fixés à DIV14 et immunomarqués avec un anticorps dirigé contre NeuN – afin d’identifier les neurones au sein de ces cultures mixtes – ainsi qu’un anticorps dirigé contre la pS129 (**Figure 40A**). Nous observons qu’en présence de l’ α -syn^{A53T} et LacZ, une partie de l’ α -syn est phosphorylée sur la S129 par d’autres kinases que LRRK2. Quand nous avons co-exprimé l’ α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} cela induit une augmentation significative du pourcentage de neurones pS129-positifs par rapport à la co-expression avec LacZ, LRRK2^{WT} et LRRK2^{DK} (**Figure 40B**). De plus, puisqu’il n’existe pas de différence significative dans ce pourcentage de neurones pS129 positifs entre les conditions « α -syn^{A53T} + LacZ » et « α -syn^{A53T} + LRRK2^{WT} », cela suggère que la mutation G2019S est nécessaire à cette exacerbation de la phosphorylation de l’ α -syn. En outre, il n’existe également pas de différence significative dans ce pourcentage entre les conditions « α -syn^{A53T} + LacZ » et « α -syn^{A53T} + LRRK2^{DK} », indiquant que la fonction kinase de LRRK2 est fondamentale à la phosphorylation de l’ α -syn. Nous avons également vérifié l’importance de la fonction kinase de LRRK2 dans la phosphorylation de l’ α -syn par une approche pharmacologique, par traitement des neurones au MLI2, un inhibiteur sélectif de la fonction kinase de LRRK2 (Fell *et al.*, 2015). La dose de 300nM a été définie durant la thèse de Camille Gardier suite à un traitement en dose-réponse et l’observation de cette réponse sur la phosphorylation de LRRK2 par immunoempreinte. Dans nos expériences au sein des neurones co-exprimant l’ α -syn^{A53T} et LRRK2^{G2019S}, le traitement au MLI2 permet de diminuer significativement le pourcentage de neurones pS129-positifs (**Figure 40C**). Il apparaît que la fonction kinase de LRRK2 est bien responsable de l’exacerbation de la phosphorylation de l’ α -syn. Ceci est également confirmé par la perte de différences significatives dans le pourcentage de neurones pS129-positifs entre les neurones exprimant l’ α -syn et LacZ et ceux exprimant l’ α -syn et LRRK2^{G2019S} lorsqu’ils sont traités au MLI2 (**Figure 40D**). De ce fait, par l’utilisation d’approches à la fois génétique et pharmacologique, nos données montrent que la phosphorylation de l’ α -syn est dépendante de l’activité kinase de LRRK2.

III.3. La phosphorylation de l’ α -syn^{A53T} est dépendante de l’autophagie et du protéasome.

Comme montré précédemment, il apparaît que le marquage pS129 est principalement somatique, à la différence de l’ α -syn qui apparaît à la fois dans le soma et les neurites (**Figure 39**). Nous nous sommes alors demandés si cette différence d’expression résultait d’un défaut des systèmes de dégradation cellulaire. En effet, c’est au sein du soma que se situe notamment la majorité des lysosomes fonctionnels (Maday & Holzbaur, 2016). De plus, il a été décrit que la S129 pourrait servir de motif d’adressage de l’ α -syn aux systèmes de dégradation (Machiya *et al.*, 2010). Ainsi, ce marquage pS129 prépondérant dans le soma reflèterait la relocalisation de l’ α -syn vers le corps cellulaire neuronal afin d’y être dégradée. Cependant, en cas de co-expression de l’ α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S}, elle s’y accumulerait si le fonctionnement des systèmes de dégradation n’est pas optimal.

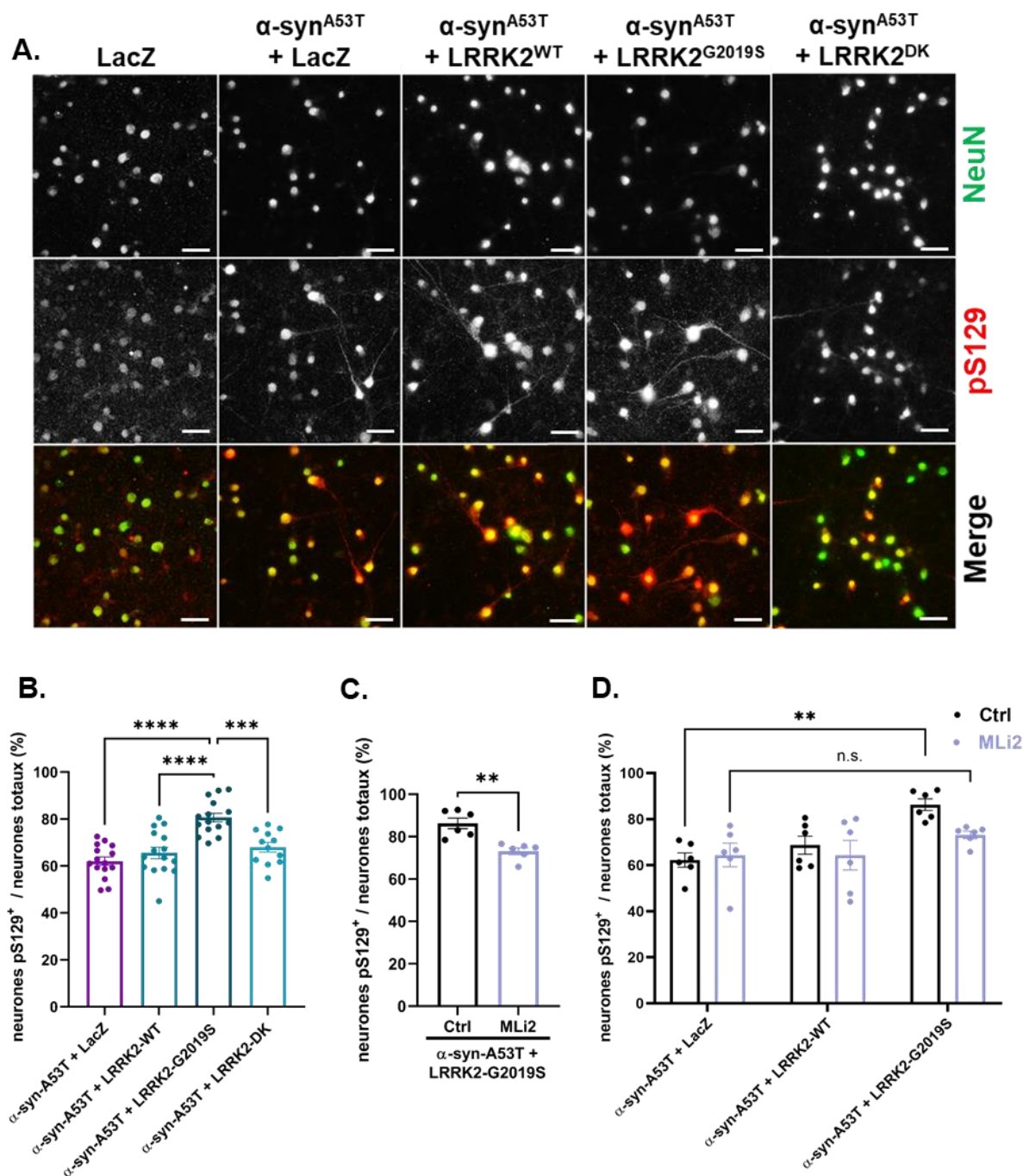


Figure 40 : LRRK2^{G2019S} favorise la phosphorylation de l' $\alpha\text{-syn}$ sur la Ser129, de façon kinase-dépendante

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' $\alpha\text{-syn}^{\text{A53T}}$, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ. Au stade DIV14, ces neurones ont été fixés dans une solution de formaldéhyde. **A.** L'immunomarquage de NeuN et pS129 a été réalisée sur les neurones transduits et fixés. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 40X. Barre d'échelle = 20 μm . **B.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, suivant la condition de transduction. $N=15$ (12 pour « $\alpha\text{-syn}^{\text{A53T}}$ + LRRK2^{DK} », $n=11$; ANOVA à unique facteur, test post-hoc de Tukey. **C.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, au sein de cultures neuronales transduites avec l' $\alpha\text{-syn}^{\text{A53T}}$ et LRRK2^{G2019S} et traités ou non au stade DIV13 au MLi2 (300nM). Moyenne +/- S.E.M; $N=6$, $n=11$; *t*-test non-apparié. **D.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, suivant la condition de transduction et traités ou non au stade DIV13 au MLi2 (300nM) pendant 24h. Moyenne +/- S.E.M; $N=6$, $n=11$; ANOVA à double facteurs, test post-hoc de Tukey.

RÉSULTATS

Nous avons vérifié cette hypothèse en traitant les neurones transduits avec de la BafA1 pour tester l'effet du flux autophagique sur la pS129 (**Figure 41A**). Ainsi, il s'avère que ce traitement n'a pas d'effet sur le pourcentage de neurones pS129-positifs en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LacZ, LRRK2^{WT} ou LRRK2^{DK} (**Figure 41B**). L'autophagie ne serait donc pas impliquée dans la régulation de la pS129 de l' α -syn dans ces conditions. Toutefois, en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S}, le pourcentage de neurones pS129-positifs en cas de traitement à la BafA1 est significativement diminué (**Figure 41B**). Ce résultat étant à l'encontre de notre hypothèse de travail (le blocage du flux autophagique par la BafA1 pourrait induire une augmentation de l'accumulation de pS129), nous nous sommes demandés si cette diminution pourrait être en lien avec une activation compensatoire d'un autre système de dégradation cellulaire : le protéasome. En effet, comme décrit en Introduction (en partie V.I.5.), l'autophagie peut s'activer en cas de défaut du protéasome, et inversement (Dikic, 2017). De façon intéressante, cette interdépendance a déjà été soulignée dans le cadre de l'étude de la pS129, où le blocage du flux autophagique a permis la prise en charge de l' α -syn pS129-positif par le protéasome, en vue de sa dégradation (Arawaka *et al.*, 2017). Nous avons alors vérifié cette hypothèse en analysant l'effet d'une inhibition du protéasome sur ce pourcentage de neurones pS129-positifs.

Au préalable, nous avons vérifié qu'un traitement à la Lactacystine (Lacta), un inhibiteur spécifique du protéasome (Klionsky *et al.*, 2021), est efficace au sein de notre modèle de culture primaire de neurones corticaux de rat. Nous avons ainsi pu visualiser par immunoempreinte une accumulation des protéines ubiquitinyliées en cas de traitement à la Lacta, démontrant son efficacité dans le blocage du protéasome au sein de notre modèle (**Figure 43A**). Nous avons alors examiné l'effet du blocage du protéasome par la Lacta sur le pourcentage de neurones pS129-positifs (**Figure 41C**). Le traitement à la Lacta induit l'augmentation significative du pourcentage de neurones pS129-positifs dans le cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LacZ ainsi qu'avec LRRK2^{WT} (**Figure 41D**). De ce fait, dans ces conditions d'expression, le protéasome jouerait un rôle dans la régulation du pourcentage de neurones présentant de l' α -syn pathologique. Toutefois, le blocage du protéasome n'a pas d'effet significatif sur ce pourcentage en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} ou LRRK2^{DK} (**Figure 41D**). Ceci indiquerait que dans ces conditions, la Lacta n'exercerait pas son effet inhibiteur, peut-être parce que le protéasome serait déjà bloqué par LRRK2^{G2019S/DK}. Ce blocage du protéasome serait alors indépendant de l'activité kinase de LRRK2. D'autre part, il se pourrait qu'un niveau de saturation ait été atteint et une plus grande augmentation du pourcentage de neurones présentant de l' α -syn pS129-positif ne serait alors pas possible dans ces conditions. Par ailleurs, cette absence d'augmentation du pourcentage de neurones pS129-positifs pourrait également être le reflet d'une activation compensatoire de l'autophagie (afin de prévenir l'accumulation d' α -syn pathologique) en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S/DK}.

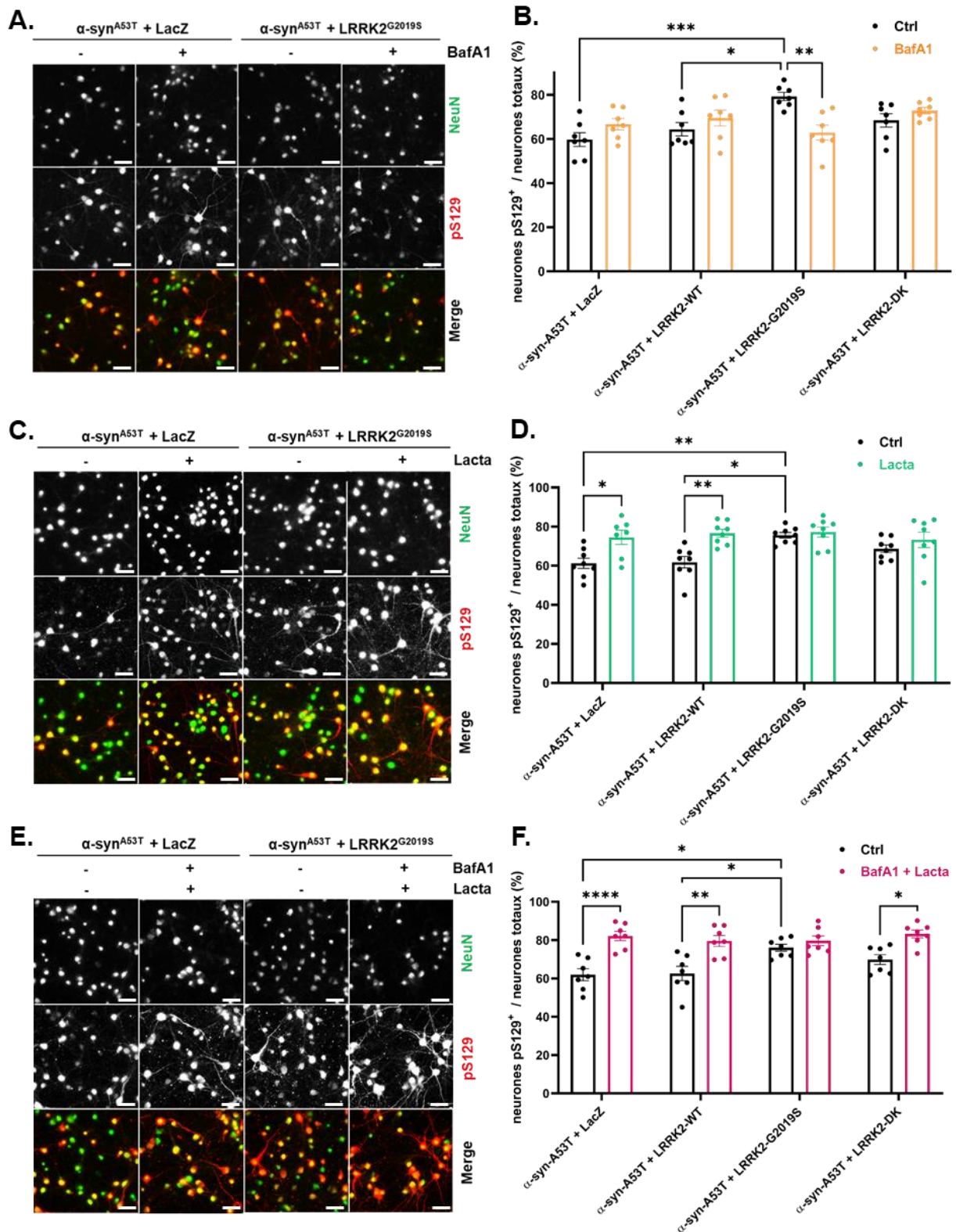


Figure 41 : La phosphorylation de l' α -syn en S129 apparait dépendante de l'autophagie et du protéasome

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ. Au stade DIV14, ces neurones ont été traités à la Bafilomycine A1 (BafA1) et/ou à la Lactacystine (Lacta) pendant 4 heures. Ils ont ensuite été fixés dans une solution de formaldéhyde. **A. C. E.** L'immunomarquage de NeuN et pS129 a été réalisée sur les neurones transduits, traités et fixés. Sont représentées des images acquises au microscope à épifluorescence au grossissement 40X. Barre d'échelle = 20 μ m. **B.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage

RÉSULTATS

de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, traités ou non à la BafA1 et suivant la condition de transduction. *Moyenne +/- S.E.M ; N=7, n=11 ; ANOVA à double facteurs, test post-hoc de Tukey.* **D.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, traités ou non à la Lacta et suivant la condition de transduction. *Moyenne +/- S.E.M ; N=8, n=11 ; ANOVA à double facteurs, test post-hoc de Tukey.* **F.** Représentation graphique de la quantification du pourcentage de neurones pS129-positifs sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs, traités ou non à la BafA1 et Lacta ; et suivant la condition de transduction. *Moyenne +/- S.E.M ; N=7, n=11 ; ANOVA à double facteurs, test post-hoc de Tukey*

Pour vérifier l'association de l'autophagie et du protéasome dans la régulation de la phosphorylation de l' α -syn sur la S129, nous avons traité les neurones transduits avec à la fois la BafA1 et la Lacta afin de bloquer ces deux systèmes de dégradation cellulaire (**Figure 41E**). Ce co-traitement nous permet alors de vérifier s'il existait des phénomènes de compensation entre ces deux voies de dégradation en cas de blocage seul du flux autophagique ou du protéasome. Ainsi, dans ce cas de double blocage, le pourcentage de neurones pS129-positifs est significativement augmenté en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LacZ ou LRRK2^{WT}, à un niveau identique au cas du blocage seul du protéasome (**Figure 41F**). Ceci confirme que le protéasome prendrait part à la régulation de l'accumulation de pS129 dans les neurones, sans que l'autophagie n'intervienne. De plus, alors que le pourcentage de neurone pS129-positifs n'apparaissait pas impacté par un blocage seul du flux autophagique ou du protéasome, la BafA1 associée à la Lacta permet d'augmenter significativement le pourcentage de neurones présentant de l' α -syn pathologique en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{DK} (**Figure 41F**). Ceci démontre que ces deux voies de dégradation cellulaire agissent conjointement dans ce phénomène. Enfin, en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S}, ce co-traitement ne permet pas de modification du pourcentage de neurones pS129-positifs (**Figure 41F**). Cette absence d'élévation peut s'expliquer de deux façons. Dans un premier cas, le pourcentage de neurones présentant de l' α -syn pathologique ne pourrait pas être augmenté d'avantage puisqu'un seuil de saturation a pu être atteint rien qu'en co-exprimant l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S}. Dans un second cas, l'association de la BafA1 avec la Lacta ne peut pas avoir d'effet car la simple co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} pourrait favoriser le blocage à la fois de l'autophagie et du protéasome. L'inhibition du protéasome serait toutefois plus modeste puisque le traitement à la BafA1 seule a tout de même un impact sur le pourcentage de neurones pS129-positifs en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} (**Figure 41B**). Il existerait ainsi un phénomène de compensation du protéasome face au blocage du flux autophagique, mais l'inverse ne serait pas possible, en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S}.

En conclusion, l'ensemble de ces données obtenues par l'analyse d'immunomarquage démontrent que LRRK2^{G2019S} favorise de façon kinase-dépendante la phosphorylation de l' α -syn sur la S129, décrite comme étant une forme pathologique de la protéine. De plus, cette accumulation somatique d' α -syn phosphorylée demeure dépendante des voies de dégradation de l'autophagie et du protéasome. Dans un dernier axe de résultats, nous avons alors examiné l'impact de l' α -syn et LRRK2 sur la coopération entre l'autophagie et le protéasome.

IV. Effet conjoint de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur la coopération entre l'autophagie et le protéasome

IV.1. Effet de l' α -syn^{A53T} et LRRK2 sur le protéasome, en réponse au blocage du flux autophagique

Dans une approche initiale d'analyse de l'effet de l' α -syn et LRRK2 sur le protéasome en réponse au blocage du flux autophagique, nous avons vérifié par immunoempreinte l'impact de leur expression sur l'accumulation de protéines ubiquitinylées en réponse à un traitement de blocage du flux à la BafA1 (**Figure 42A**). Nous avons alors effectué le rapport de la quantification de l'expression normalisée de l'ubiquitine en condition BafA1 rapportée à son expression en condition contrôle (**Figure 42B**). Il apparaît que ni l' α -syn, ni LRRK2 n'a d'effet sur l'accumulation de protéines ubiquitinylées en réponse au blocage du flux autophagique.

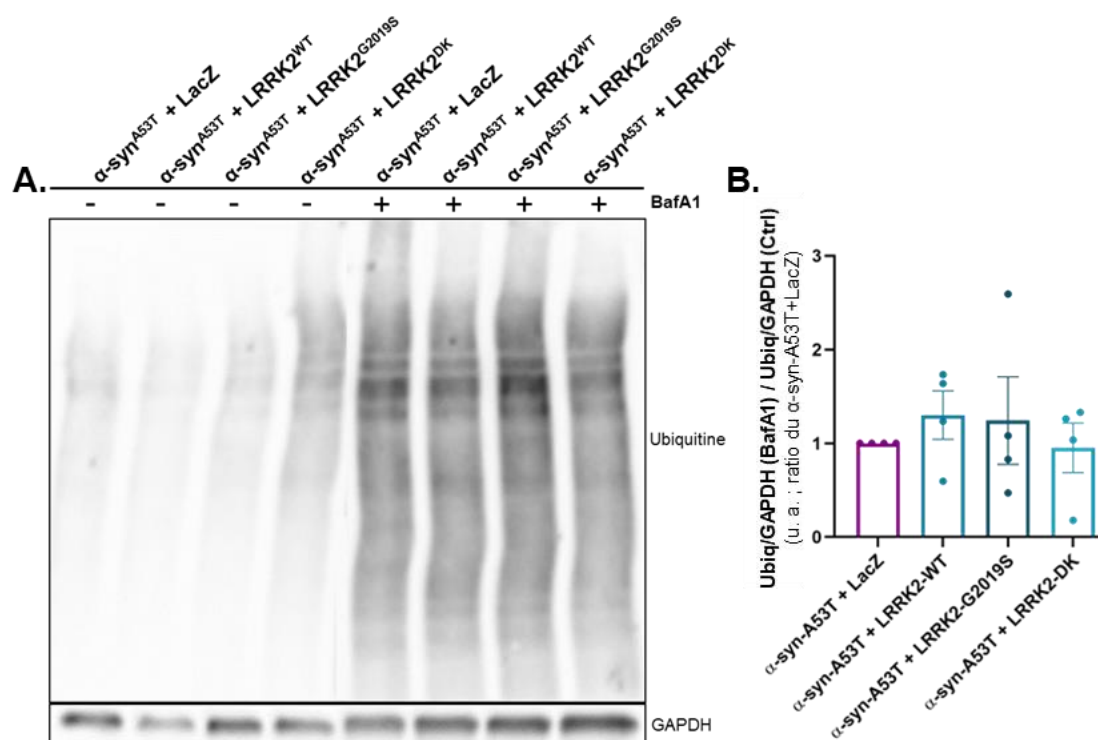


Figure 42 : Effet de l' α -syn et LRRK2 sur le protéasome, en réponse au blocage du flux autophagique

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ. Au stade DIV14, ces neurones ont été traités (ou non) avec 100nM de Bafilomycine A1 (BafA1) pendant 4 heures puis lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de l'Ubiquitine (ne sont représentées que les protéines ubiquitinylées faisant plus de 50kDa) et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. *Il est à noter que l'expression de l' α -syn et LRRK2 a été vérifiée dans une autre série d'immunoempreintes.* **B.** Représentation graphique de l'accumulation de protéines ubiquitinylées suite au blocage du protéasome, résultant de la quantification de l'expression de l'Ubiquitine rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de traitement BafA1, rapportée à la condition contrôle. *Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey.*

IV.2. Effet de l' α -syn^{A53T} et LRRK2 sur l'autophagie, en réponse au blocage du protéasome

En premier lieu, nous avons étudié par immunoempreinte si le traitement à la Lacta pouvait induire l'autophagie au sein de notre modèle de culture primaire de neurones corticaux de rat. Nous avons ainsi traité des neurones primaires avec de la Lacta et analysé l'effet de ce traitement par immunoempreinte (**Figure 43A**). Tout d'abord, nous avons confirmé que la Lacta était bien capable de bloquer le protéasome puisque ce traitement occasionne une accumulation de protéines ubiquitinylées (**Figure 43A**) et le rapport d'expression de ces protéines en condition traitée sur la condition contrôle est largement supérieur à 1 (moyenne de 2,95) (**Figure 43B**). Nous avons également pu quantifier l'expression de LC3-II en condition de blocage du protéasome, rapportée à son expression en condition contrôle, nous permettant de mettre en lumière la potentielle activation de l'autophagie en cas de blocage du protéasome (**Figure 43C**). Il apparaît que le traitement à la Lacta permettrait d'induire un flux autophagique puisque le rapport mentionné précédemment est supérieur à 1 (moyenne de 1,14) (**Figure 43C**). Ainsi, l'ensemble de ces données démontre que la Lacta est un outil de choix dans l'inhibition du protéasome au sein de notre modèle de neurones primaires, et que ce blocage pourrait permettre l'induction d'un flux autophagique.

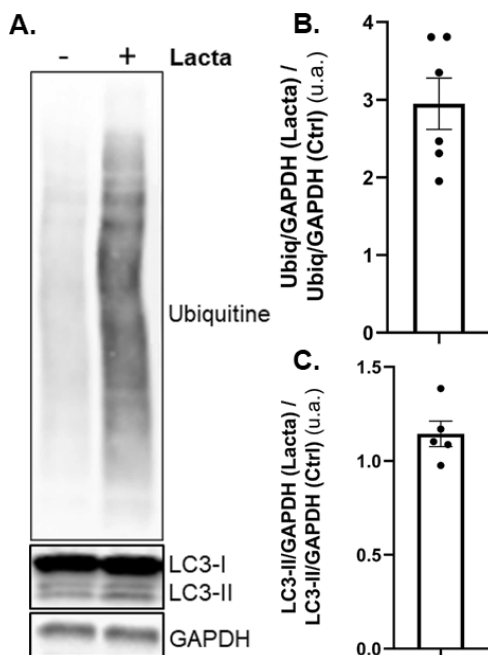


Figure 43 : Effet de la Lactacystine au sein de neurones corticaux primaires

Au stade DIV14, des neurones primaires ont été traités (ou non) avec 5 μ M de Lactacystine (Lacta) pendant 4 heures puis lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de l'Ubiquitine (ne sont représentées que les protéines ubiquitinylées faisant plus de 50kDa), LC3B et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'accumulation de protéines ubiquitinylées suite au blocage du protéasome, résultant de la quantification de l'expression de l'Ubiquitine rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de traitement à la Lacta, rapportée à la condition contrôle. Moyenne +/- S.E.M; n=6. **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit par le blocage du protéasome, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de traitement à la Lacta, rapportée à la condition contrôle. Moyenne +/- S.E.M; n=4. u. a. = unité arbitraire ; Ubiqu = Ubiquitine

Suivant les données précédentes concernant la phosphorylation de l' α -syn sur la S129 (partie III.3), il apparaît que la co-expression de l' α -syn et LRRK2, et notamment en cas de mutation G2019S, pourrait avoir un impact sur le protéasome. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons transduit des neurones primaires corticaux avec des vecteurs lentiviraux permettant l'expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} ou LacZ. Ces neurones ont ensuite été traités à DIV14 avec de la Lacta afin de bloquer le protéasome. Nous avons alors étudié l'effet de ce blocage par immunoempreinte

(Figure 44A). D'une part, LRRK2 ne semble pas moduler l'effet de l' α -syn sur l'accumulation de protéines ubiquitinylées (Figure 44B). D'autre part, LRRK2 ne modulerait pas non plus l'effet de l' α -syn sur l'induction du flux autophagique en compensation du blocage du protéasome (Figure 44C).

En conclusion, ces études par immunoempreinte laissent présager que l'interaction entre l' α -syn et LRRK2 ne semble pas avoir d'impact sur l'interdépendance entre l'autophagie et le protéasome. Toutefois, il s'agit ici de résultats préliminaires à une analyse qui devra être complexifiée, notamment en étudiant d'autres paramètres. Ceci sera développé dans la Discussion.

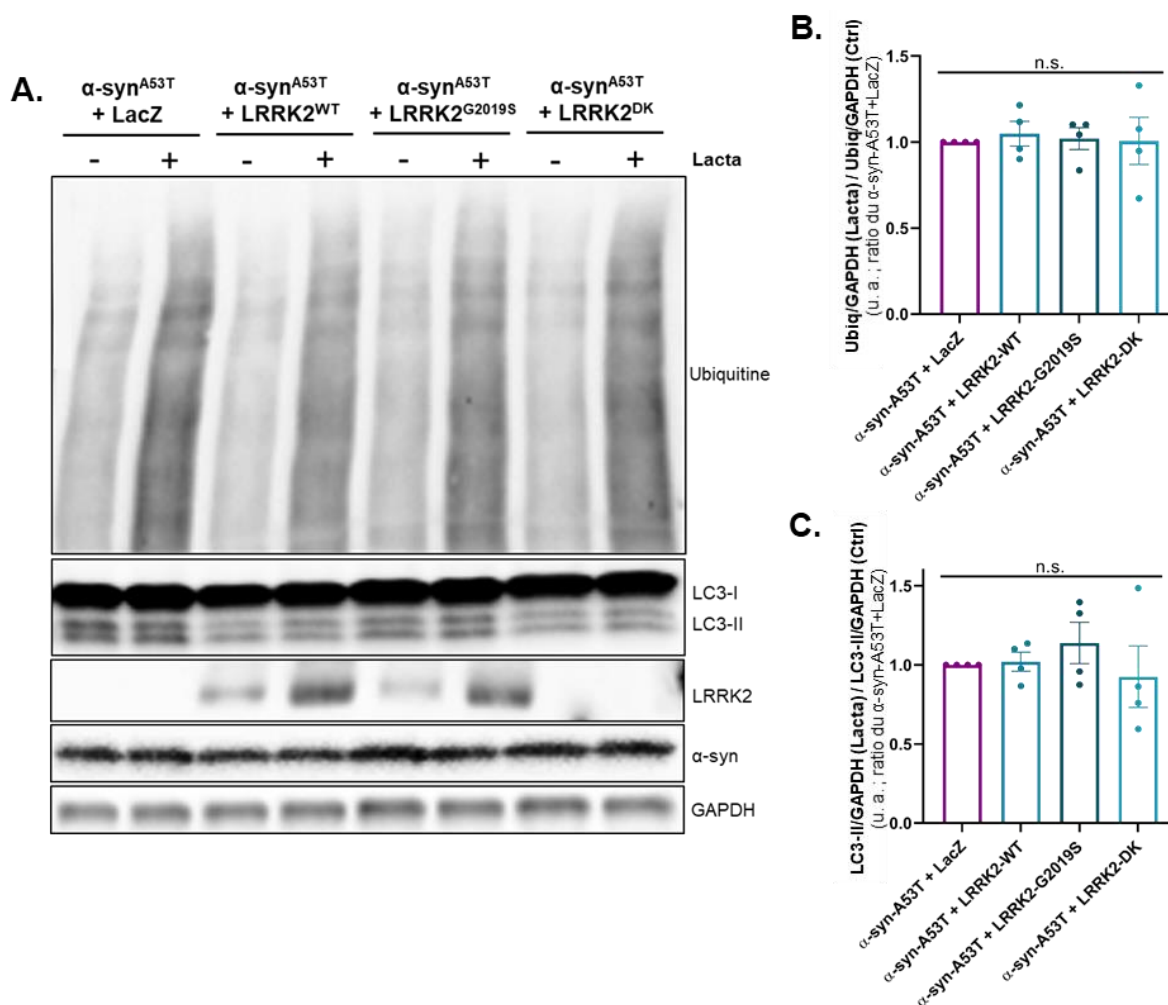


Figure 44 : Effet de l'expression de l' α -syn et LRRK2 en réponse au blocage du protéasome

Au stade DIV1, des neurones primaires ont été transduits avec des vecteurs lentiviraux codant pour l' α -syn^{A53T}, LRRK2^{WT}, LRRK2^{G2019S}, LRRK2^{DK} et/ou LacZ, un contrôle de charge viral. Au stade DIV14, ces neurones ont été traités (ou non) avec 5 μ M de Lactacystine (Lacta) pendant 4 heures puis lysés afin d'en récupérer les extraits protéiques. **A.** Les extraits protéiques ont été séparés par SDS-PAGE et l'immunoempreinte de l'Ubiquitine (ne sont représentées que les protéines ubiquitinylées faisant plus de 50kDa), LC3B, α -syn LRRK2 et GAPDH a été réalisée sur les fractions NP40 solubles. **B.** Représentation graphique de l'accumulation de protéines ubiquitinylées suite au blocage du protéasome, résultant de la quantification de l'expression de l'Ubiquitine rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de traitement à la Lacta, rapportée à la condition contrôle. Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey. **C.** Représentation graphique de l'évaluation du flux autophagique induit par le blocage du protéasome, résultant de la quantification de l'expression de LC3-II rapportée au contrôle de charge GAPDH, en condition de traitement à la Lacta, rapportée à la condition contrôle. Moyenne +/- S.E.M ; n=4 ; ANOVA à facteur unique, test post-hoc de Tukey. u. a. = unité arbitraire ; n.s. = non-significatif.

DISCUSSION

I. Modèle d'étude de l'autophagie au sein de neurones primaires : un modèle à parfaire ?

I.1. Culture primaire de neurones corticaux de rat : avantages et limites

Pour étudier l'effet de l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques neuronaux, notre premier objectif a été de développer un modèle d'étude de l'autophagie au sein de cultures primaires de neurones corticaux de rat. Nous avons ainsi utilisé des neurones primaires pour nous placer au plus proche de la physiopathologie de la MP dans une approche *in vitro*, ce qui ne serait pas le cas en choisissant une lignée cellulaire qui, bien que neuronale, ne reproduit pas totalement toute la complexité de la physiologie des neurones. Nous avons opté pour l'utilisation de neurones corticaux qui permet d'obtenir une culture homogène de neurones principalement glutamatergiques. Les neurones DAergiques sont les plus affectés dans le cas de la MP. La culture de neurones DAergique était une autre alternative, mais comparée à l'homogénéité des cultures corticales, la dissection du mésencéphale ne permet d'obtenir qu'entre 10 et 20% de neurones DAergiques une fois mis en culture (Gaven *et al.*, 2014). Le choix de neurones corticaux reste approprié puisque le cortex présente également des CLs en phase tardive de la MP (Braak *et al.*, 2003). Nous avons traité et analysé ces neurones au stade DIV14, correspondant à un état mature des neurones qui détiennent à la fois leur polarité somato-dendritique et expriment également leurs récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) les rendant sensibles à l'excitotoxicité (Cheng *et al.*, 1999). De plus, les synapses sont véritablement développées et actives à ce stade, en comparaison avec des neurones immatures au stade DIV5 par exemple (Chang & Reynolds, 2006). Dans le cas de notre modèle, cette activité est également soutenue par la mise en culture des neurones dans du BrainPhys™, milieu décrit comme favorisant l'activité synaptique des neurones (Bardy *et al.*, 2015). Ceci est d'autant plus important à mettre en lien avec notre étude de l' α -syn, décrite comme étant une protéine agissant à la synapse. Toutefois, la majorité des études de l'autophagie au sein de neurones primaires s'effectue à des stades de maturation précoce (Benito-Cuesta *et al.*, 2017). Il devient ainsi nécessaire de prendre en compte la maturité des neurones primaires, mais également l'influence d'autres cellules possiblement présentes au sein de cultures si elles ne sont pas pures. En effet, il est reconnu que les neurones se basent notamment sur le soutien des astrocytes pour leur apport énergétique (Saab *et al.*, 2016). C'est pourquoi nous avons évalué la proportion d'autres types cellulaires, notamment d'astrocytes, au sein des cultures primaires neuronales mixtes. Dans nos cultures, les astrocytes représentent une cellule sur cinq au stade de maturation neuronale DIV14. Ceci sera discuté ultérieurement (dans le cadre de l'impact de l'expression de l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques)

mais cette proportion conséquente en astrocyte influe sur la réponse des neurones face aux traitements modulant l'autophagie, notamment concernant le flux basal.

I.2. De la difficulté à identifier le meilleur modèle d'étude de l'autophagie neuronale...

Afin d'étudier l'impact de l' α -syn et LRRK2 sur l'autophagie, nous devons développer un modèle grâce auquel nous pourrions moduler l'autophagie afin de discriminer le rôle de nos deux protéines d'intérêt au sein du processus.

D'une part, nous avons pris le parti de la privation nutritive, par incubation dans de l'EBSS, qui est un milieu de référence pour induire l'autophagie *in vitro* (Klionsky *et al.*, 2021). Toutefois, il s'avère que cette privation n'a que peu d'effet sur l'induction de l'autophagie neuronale. Ceci est en accord avec les résultats d'autres équipes, l'autophagie ne serait pas induite suite à un stress de privation en nutriments au sein des neurones (Kulkarni *et al.*, 2019 ; Kuma & Mizushima, 2010). Dans les neurones, l'autophagie serait régulée différemment des autres types cellulaires et serait induite notamment en réponse à la présence d'organites endommagés ou bien pour favoriser le remodelage neuritique plutôt que pour permettre la génération de nutriments tels que les AA (Chu, 2006 ; Maday & Holzbaur, 2016). Face à un stress nutritif, à défaut de favoriser la voie autophagique, les neurones se reposeraient sur leurs cellules de soutien, les cellules gliales et notamment les astrocytes (Alirezaei *et al.*, 2008). Par ailleurs, nous avons également évalué si les neurones répondaient mieux, ou du moins différemment, en jouant directement sur mTOR, acteur majeur de l'initiation de l'autophagie. Nous avons notamment traité les neurones primaires à la Rapamycine ou à la Torin1, deux inhibiteurs de mTOR, sans obtenir de réponse autophagique améliorée par rapport à la privation nutritive (*résultats non-montrés*), comme cela avait déjà pu être décrit au sein de neurones primaires (Maday & Holzbaur, 2016). En outre, il s'avère également que la transduction des neurones pourrait favoriser l'activation de voies de stress, et notamment favoriser l'induction de l'autophagie (Klionsky *et al.*, 2021). Pour évaluer ce biais, nous utilisons la construction LacZ comme contrôle de charge virale et de transduction. Nos données concernant les flux autophagiques, analysés par immunoempreinte, incluent donc les contrôles appropriés. En parallèle, nous avons validé notre modèle d'étude de l'autophagie au sein d'astrocytes primaires. De la même façon que les neurones corticaux, nos résultats soulignent que les astrocytes répondent difficilement à la privation nutritive. Ceci semble cohérent avec ce qui est généralement décrit dans la littérature, ces cellules gliales survivant pendant plusieurs jours à ce type de privation, notamment en induisant la lipolyse pour survivre (Korenić *et al.*, 2015). Toutefois, l'autophagie reste essentielle à ce type cellulaire, en participant au contrôle-qualité des protéines agrégées ou encore à la différenciation des astrocytes durant le développement (Ortiz-Rodriguez & Arevalo, 2020). Ainsi, la privation nutritive n'est pas le mode d'induction le plus optimal du processus autophagique au sein de cellules primaires du SNC. Il serait alors envisageable de tester d'autres modes d'activation de l'autophagie dans les neurones. Ainsi, par une stratégie lentivirale, il serait possible d'induire

l'autophagie par surexpression d'acteurs de l'initiation du processus tels que Beclin1 (Nascimento-Ferreira *et al.*, 2011) ou Atg5 (Leiva-Rodríguez *et al.*, 2018).

D'autre part, l'utilisation des drogues modulant l'autophagie nécessite une grande précision. En effet, il a été décrit que leur effet peut devenir non-spécifique de l'autophagie en cas de traitement long (supérieur à quatre heures) et peut alors agir sur d'autres mécanismes tels que le protéasome ou le trafic des endosomes (Barth *et al.*, 2010 ; Klionsky *et al.*, 2008). De plus, et notamment concernant les composés inhibant le lysosome, leur concentration doit être correctement régulée afin d'éviter toute cytotoxicité (Benito-Cuesta *et al.*, 2017). C'est pourquoi nous avons opté pour la BafA1, contrairement à la Chloroquine (CQ) qui s'est révélée toxique notamment en cas de combinaison avec une privation nutritive et d'autant plus au sein des astrocytes primaires (*résultats non-montrés*). De plus, la CQ a été décrite comme pouvant induire d'autres altérations cellulaires, notamment au niveau de l'appareil de Golgi (Mauthe *et al.*, 2018).

I.3. La variation d'expression de LC3 : le meilleur paramètre d'étude de l'autophagie ?

Dans le cadre de la mise au point de notre modèle d'étude du processus autophagique, nous avons pris en compte l'analyse de l'expression de deux acteurs de l'autophagie : p62 et LC3. D'une part, l'analyse de l'expression de p62 ne nous a pas apporté de résultats convaincants concernant sa modulation en lien avec une privation nutritive et/ou un blocage du flux à la BafA1, que cela soit dans les neurones mais aussi dans les astrocytes primaires. Ceci est en accord avec des données obtenues récemment par l'équipe de Sandra Maday, qui tendent à indiquer que p62 ne serait pas un bon indicateur du suivi du flux autophagique (Kulkarni *et al.*, 2019). Ainsi, à la fois par immunoempreinte sur des astrocytes et des neurones primaires, son équipe n'a pu visualiser une augmentation significative de l'expression de p62 qu'en cas de blocage du flux par la BafA1 couplé à une induction de l'autophagie, et ce résultat apparaît dépendant du milieu choisi pour induire ce stress autophagique (Kulkarni *et al.*, 2019). Par ailleurs, il apparaît que p62 pourrait être régulée par d'autres voies, notamment celles des caspases en étant un substrat des caspases 6 et 8 (Klionsky *et al.*, 2021). La protéine a également été liée au stress oxydant via la voie Keap1-Nrf2 (Jiang *et al.*, 2015 ; Rusten & Stenmark, 2010), le protéasome (Kocaturk & Gozuacik, 2018), la voie du NF- κ B (Nuclear-factor kappa B) (Moscat & Diaz-Meco, 2009) ou encore à l'oncogène *Ras* (Barth *et al.*, 2010). La variation d'expression de p62 est donc liée à de multiples autres facteurs que notre modèle d'étude de l'autophagie. Enfin, dans le cas de l'analyse par immunoempreinte, il se peut que la protéine soit mal extraite dans nos conditions de lyse. Toutefois, l'utilisation d'autres tampons de lyse ne nous a pas permis d'obtenir une meilleure extraction de p62.

D'autre part, et comme décrit en Introduction (plus de détails en partie V.1.3.2.), LC3 est une protéine adaptatrice de l'autophagie et sa forme LC3-II, liée aux autophagosomes, représente un marqueur spécifique de ces derniers (Kabeya *et al.*, 2000). Toutefois, il est fondamental d'effectuer

DISCUSSION

plusieurs contrôles afin d'aboutir à une véritable conclusion sur l'induction (ou à l'inverse, le blocage) du processus. Notamment, l'augmentation de l'expression de LC3-II peut correspondre à la fois à une induction du processus, incitant la formation d'autophagosomes et donc une élévation de l'expression de LC3-II, mais aussi au blocage du processus, résultant en une accumulation d'autophagosomes et donc également de LC3-II. Afin de discriminer au mieux la signification de l'augmentation de l'expression de LC3-II, nous effectuons donc un traitement de blocage du flux à la BafA1 additionné ou non d'une privation nutritive que nous analysons notamment par immunoempreinte. Toutefois, et comme expliqué dans les Résultats, il est difficile de discriminer les autophagosomes par un immunomarquage de LC3. L'utilisation de la construction GFP-LC3 nous a alors permis de mettre en évidence les autophagosomes et d'autant plus leur accumulation en cas de blocage du flux autophagique. Puisque c'est en cas de privation et de blocage du flux qu'est observé le plus de points correspondant aux autophagosomes, nous avons étudié l'accumulation d'autophagosomes GFP-LC3-positifs dans cette condition. Ceci nous permet également de vérifier s'il existe un potentiel défaut de transport et de maturation des autophagosomes, suivant la quantité d'accumulation dans le soma neuronal, puisque les autophagosomes mûrissent durant le transport rétrograde axonal jusqu'à atteindre le soma pour fusionner avec les lysosomes qui y sont présents. Cependant, cette stratégie présente aussi des limites. D'une part, il a été décrit que GFP-LC3 pouvait s'incorporer au sein d'agrégats protéiques, indépendamment du processus autophagique (Kuma *et al.*, 2007), sans doute par son interaction avec p62 qui peut prendre en charge les agrégats de protéines (Bjørkøy *et al.*, 2005). Cette donnée n'est pas négligeable dans le contexte d'études des MNDs. Néanmoins, notre étude sur la phosphorylation de l' α -syn nous montre que le marquage de la pS129 est diffus, et ne correspondrait donc pas à des agrégats de la protéine. Toutefois, afin de déterminer la présence de ces agrégats GFP-LC3-positifs qui ne peuvent être distingués des autophagosomes, il serait intéressant d'utiliser une forme mutante de la construction, GFP-LC3^{G120A}. La présence d'un résidu glycine en partie carboxyterminale bloque la maturation de la protéine vers la forme LC3-II, ce qui l'empêche de s'associer aux autophagosomes : ainsi, seule de l'autofluorescence ou des agrégats GFP-LC3^{G120A}-positifs seront visualisables (Mizushima *et al.*, 2010). D'autre part, la construction GFP-LC3 ne permet de révéler que les autophagosomes. En effet, la GFP est sensible au pH et s'éteint à pH acide (Klionsky *et al.*, 2021). Ceci entrave alors la mise en évidence des autolysosomes, des autophagosomes en cours de fusion avec le lysosome, mais aussi possiblement les autophagosomes en fin de maturation qui se sont acidifiés. L'utilisation de la construction mCherry-GFP-LC3 permettrait d'éviter ce problème et ainsi de visualiser à la fois les autophagosomes (qui apparaîtront en jaune) mais aussi les autolysosomes (qui apparaîtront en rouge). Ceci ne serait cependant possible qu'en condition contrôle ou de privation, puisque l'utilisation de la BafA1 (comme montré dans les Résultats en **Figure 27**) inhibe l'acidification du pH.

II. Interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2 dans les flux autophagiques : une analyse à complexifier

Afin d'évaluer l'impact de l'expression de l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques, nous avons au préalable mesuré l'effet de chaque protéine seule. L'analyse a été réalisée à la fois au sein de cultures mixtes et pures de neurones corticaux afin d'estimer l'importance de l'environnement cellulaire (notamment de la présence d'astrocytes) sur la réponse des neurones exprimant l' α -syn et/ou LRRK2 et également soumis à différents stress autophagiques. L'objectif global de cette étude était de discerner les étapes du processus qui étaient potentiellement impactées par l'expression de l' α -syn et/ou LRRK2.

II.1. L'alpha-synucléine : véritable bloqueur de l'autophagie ?

Au sein de cultures primaires mixtes de neurones corticaux, il apparaît par immunoempreinte que l' α -syn n'a pas d'effet sur les flux autophagiques basal et induit. Ce résultat peut s'expliquer par la forte proportion en astrocytes à DIV14 (comme montré dans les Résultats en **Figure 30**), stade de maturation auquel les cultures neuronales sont analysées. Les immunoempreintes réalisées reflètent alors l'ensemble des protéines issues du lysat cellulaire de neurones mais aussi d'astrocytes. Ainsi, dans ces conditions, l'effet de l' α -syn dans les neurones peut difficilement être mis en évidence car il a pu être dilué dans les protéines totales, ne permettant pas d'obtenir de résultat significatif concernant le rôle de l' α -syn sur les flux autophagiques. Toutefois, grâce à la transduction des neurones avec la construction GFP-LC3, nous avons pu observer une diminution significative de l'aire occupée par les autophagosomes GFP-LC3-positifs en cas de privation nutritive et de blocage du flux (**Figure 33**). Contrairement à l'étude par immunoempreinte, l'analyse du GFP-LC3 par microscopie nous permet d'observer le rôle de l' α -syn spécifiquement au sein des neurones, en lien avec leur environnement cellulaire. Il serait toutefois intéressant de reproduire cette approche au sein de cultures pures de neurones. Ceci nous permettra de vérifier une potentielle influence de la présence d'astrocytes sur l'effet de l' α -syn et sur l'accumulation neuronale d'autophagosomes. De plus, cette analyse de l'accumulation d'autophagosomes ne nous permet pas de conclure sur l'impact de l' α -syn sur le flux autophagique induit. Pour cela, il faudrait reproduire ces expériences avec une condition supplémentaire de neurones traités à la BafA1 seule. De la même manière que pour nos analyses par immunoempreinte, ceci nous permettra d'obtenir l'accumulation d'autophagosomes en cas d'induction de l'autophagie et de blocage du flux rapportée à son accumulation en cas de blocage du flux seul, mettant en lumière le flux autophagique induit. En outre, et afin de s'affranchir de l'effet de dilution que pourrait apporter les cultures mixtes, nous avons également analysé par immunoempreinte l'effet de l' α -syn au sein de cultures neuronales pures. Dans ce cas, nous avons pu montrer que la protéine exerçait un rôle tantôt inhibiteur du flux autophagique basal, et tantôt activateur du flux autophagique induit (**Figure 34**). Cette deuxième donnée peut paraître contradictoire vis-à-vis de celle énoncée précédemment concernant la contribution de l' α -syn dans l'affaiblissement de l'aire occupée par les autophagosomes GFP-LC3-positifs en cas de privation et blocage du flux. Toutefois, dans cette autre étude, nous nous sommes concentrés sur l'accumulation des

DISCUSSION

autophagosomes au sein du soma neuronal, contrairement au lysat cellulaire utilisé pour l'analyse par immunoempreinte du flux autophagique induit qui prend en compte la totalité des protéines sans discrimination du compartiment cellulaire. Face à une privation nutritive, une formation accrue d'autophagosomes a majoritairement lieu au sein des terminaisons neuritiques, jusqu'à rejoindre le soma neuronal pour fusionner avec des lysosomes matures et ainsi poursuivre l'étape de dégradation des cargos. Toutefois, si le trafic des autophagosomes est perturbé, les autophagosomes s'accumuleront d'autant moins dans le soma. Dès lors, l' α -syn pourrait potentiellement favoriser la formation d'autophagosomes (d'où l'augmentation significative du flux autophagique induit), mais favoriserait également une dysfonction du trafic de ces derniers (d'où la diminution significative de l'accumulation d'autophagosomes dans le soma en cas de privation et blocage du flux). Cette hypothèse est en accord avec les résultats obtenus précédemment dans diverses études : d'une part au sein de neurones primaires mis en contact de Pffs, ce qui permet l'induction de la formation d'autophagosomes et leur accumulation suite à un défaut de maturation (Tanik *et al.*, 2013) ; d'autre part, le rôle négatif de l' α -syn sur la maturation des autophagosomes a déjà été rapporté (Button *et al.*, 2017 ; Fujikake *et al.*, 2018 ; Winslow *et al.*, 2010). En outre, une étude basée sur l'utilisation d'un modèle génétique chez la drosophile a montré que l' α -syn humaine participe à l'altération de la maturation des autophagosomes en jouant sur une stabilisation anormale du réseau d'actine (Sarkar *et al.*, 2021). L'ensemble de ces données restent, bien entendu, à vérifier et à confirmer en analysant d'autres acteurs de la voie autophagique (ceci sera développé en partie Perspectives).

Par ailleurs, l'emploi de la forme mutée A53T de l' α -syn nous permet de recréer une forme de synucléinopathie. Toutefois, il serait intéressant de reproduire l'ensemble des manipulations réalisées au cours de cette thèse avec l' α -syn^{WT}, afin de vérifier que les données obtenues sont bien dues à la mutation A53T et non à la simple surexpression de la protéine au sein des neurones primaires.

II.2. LRRK2 et flux autophagique : nécessité d'un environnement propice à l'exercice de son rôle potentiellement délétère ?

Dans l'objectif de caractériser l'impact de la coopération de l' α -syn et LRRK2 dans les flux autophagiques, nous avons également évalué l'effet de l'expression seule de LRRK2 sur ces flux. L'utilisation de ses trois formes - WT, G2019S et DK - nous permet de discriminer l'importance de l'activité kinase de la protéine dans les impacts qui lui sont attribués. Ainsi, que cela soit au sein de cultures neuronales mixtes ou pures, LRRK2 ne semble n'avoir d'impact ni sur le flux basal, ni sur le flux induit, ni sur l'accumulation somatique d'autophagosomes en cas de privation et blocage du flux. Nos données sont à mettre en relation avec celles de la littérature qui, comme énoncées en Introduction, apparaissent contradictoire. Une partie de cette discordance peut résider par l'abondance de modèles expérimentaux choisis. En se basant uniquement sur les modèles de neurones primaires surexprimant LRRK2, l'ensemble de ces données tendent vers un rôle inhibiteur de LRRK2 sur le flux autophagique neuronale. Il a notamment été montré que sa mutation G2019S induisait une accumulation de corps

multivésiculaires ainsi que la surcharge des lysosomes (MacLeod *et al.*, 2006). De plus, LRRK2^{G2019S} inhibe à la fois la formation (Wallings *et al.*, 2019) mais aussi le transport axonal des autophagosomes (Boecker *et al.*, 2021). LRRK2^{G2019S} induit également la dysfonction des lysosomes (Schapansky *et al.*, 2018). Notre analyse de l'effet de LRRK2 sur les flux autophagiques mérite alors d'être approfondie en prenant en compte d'autres paramètres impliqués dans le déroulement du processus autophagique. Notamment, il est nécessaire d'évaluer l'effet de LRRK2 sur le trafic vésiculaire, en lien avec les nombreuses descriptions établies entre LRRK2 et les substrats de son activité kinase, tels que les protéines de la famille des Rab (Steger *et al.*, 2016), mais également en lien avec son rôle dans la stabilisation des microtubules par interaction avec l' α/β -tubuline (Gandhi *et al.*, 2008). Le rôle de LRRK2 dans le flux autophagique pourrait également se retrouver au niveau du lysosome, puisque LRRK2 peut d'une part se lier à cet organelle (Dodson *et al.*, 2012) et peut d'autre part affaiblir l'activité lysosomale en cas de mutation G2019S (Obergasteiger *et al.*, 2019 ; Schapansky *et al.*, 2018). Dans le cadre de notre étude, la fonctionnalité de cet organelle est difficilement analysable de par notre traitement à la BafA1 qui inhibe sa fonction. Il serait alors envisageable d'évaluer le nombre de lysosomes et leur localisation par un immunomarquage de Lamp1. Cela serait également possible par l'utilisation de la sonde fluorescente LysoTrackerTM (que nous avons utilisée dans l'évaluation de l'efficacité de la BafA1 sur nos cultures), en conditions contrôle et de privation nutritive. La fonctionnalité de ces organites pourrait également être évaluée en mesurant l'activité des cathepsines lysosomales dans ces deux conditions.

Nos données sur l'absence d'effet de LRRK2 sur l'autophagie sont également à corroborer avec celles obtenues par Camille Gardier au cours de sa thèse qui a montré que LRRK2 n'aurait qu'une modeste influence sur la viabilité neuronale au sein de notre modèle *in vitro*, dans laquelle la protéine y est pourtant surexprimée. De plus, Noémie Cresto durant sa thèse au sein de notre équipe n'a pu montrer *in vivo* d'impact délétère de LRRK2 sur les neurones DAergiques de la SNpc de rat qu'au bout de vingt-cinq semaines post-injection. Notre modèle *in vitro* représenterait alors un modèle précoce de la pathologie, dans lequel la pathogénicité de LRRK2^{G2019S} ne conduirait qu'à des modifications mineures de l'homéostasie neuronale (à ce temps de culture, du moins). L'hypothèse est compatible avec le fait que les porteurs de LRRK2^{G2019S} développent tardivement la MP, comme pour les formes sporadiques de la pathologie (Corti *et al.*, 2011). De plus, pour des raisons inconnues, un bon nombre de porteurs de mutations de LRRK2 ne développe pas la MP (Tolosa *et al.*, 2020). Par conséquent, nous émettons l'hypothèse selon laquelle LRRK2 pourrait nécessiter un environnement cellulaire particulier et/ou l'action de facteurs intermédiaires afin d'y exercer son rôle délétère. Cette hypothèse avait déjà été suggérée par l'équipe de Veerle Baekelandt, qui n'a pas réussi à obtenir d'effet significatif de l'expression seule de LRRK2 sur la viabilité cellulaire, l'agrégation de l' α -syn ou encore l'arborisation neuritique au sein de cellules SH-SY5Y (Lobbestael *et al.*, 2020). L'effet de LRRK2 pourrait ainsi nécessiter des mécanismes supplémentaires liés au vieillissement physiologique par exemple. Bien que difficilement modélisable *in vitro*, ces processus pourraient être expérimentés *in vivo* chez des animaux âgés. De plus, l'impact potentiellement nocif de LRRK2 pourrait requérir un environnement cellulaire oxydant, tel que celui retrouvé au sein des neurones DAergiques. Ceci est notamment souligné par deux études menées respectivement par l'équipe de Gonzalez-Polo en 2014 et celle de Valina Dawson en 2016. La première

DISCUSSION

a montré au sein de fibroblastes de patients que l'exposition au MPP⁺ de ces cellules favorisait l'effet néfaste de LRRK2^{G2019S} sur la viabilité cellulaire et des dérèglements de l'autophagie (Yakhine-Diop *et al.*, 2014). La seconde étude a, quant à elle, montré chez des souris transgéniques exposées au MPTP le renforcement de l'impact nocif de LRRK2^{G2019S} sur la neurodégénérescence DAergiques (Karuppagounder *et al.*, 2016). Cet environnement oxydant pourrait alors être modélisé *in vitro* au sein de nos cultures primaires qui pourraient être traitées avec de la roténone par exemple. De plus, il est important de souligner que LRRK2 pourrait ne pas jouer son rôle sur l'autophagie dans un contexte *in vitro* car LRRK2 aurait besoin de l'ensemble des interactions cellulaires présentes au sein du cerveau afin d'exercer sa pathogénicité. En outre, la pathogénicité de LRRK2 pourrait nécessiter l'intervention de facteurs à la fois génétique et environnementaux, ce qui corrobore avec la pénétrance incomplète de LRRK2 (Corti *et al.*, 2011) ainsi que la variabilité neuropathologique observée chez les patients porteurs de mutation de LRRK2 (Dauer & Ho, 2010). Finalement, ce contexte spécifique pourrait se retrouver dans sa co-expression avec l' α -syn, confirmant d'autant plus l'intérêt de mon sujet de thèse.

II.3. LRRK2 pourrait prévenir le blocage du flux autophagique favorisée par l' α -synucléine : pour un réel bénéfice ?

L'analyse par immunoempreinte de la coopération entre l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques a permis de révéler le potentiel rôle protecteur de LRRK2 envers le blocage exercé par l' α -syn sur l'autophagie. En effet, comme montré dans les Résultats en **Figure 37**, il apparaît que LRRK2^{G2019S} permettrait d'augmenter le flux autophagique basal en cas de co-expression avec l' α -syn^{A53T} et que cet effet serait potentiellement dépendant de son activité kinase. Ceci n'est toutefois pas retrouvé concernant le flux autophagique induit dans nos conditions. De la même façon, LRRK2^{G2019S} favorise une accumulation plus importante d'autophagosomes dans le soma neuronal en présence de l' α -syn, en comparaison avec la condition de co-expression de l' α -syn avec le contrôle de charge viral LacZ, suggérant que LRRK2^{G2019S} pourrait potentiellement rétablir le trafic et la maturation des autophagosomes nécessaires à leur transport jusqu'au soma. Cette hypothèse est notamment soutenue par l'interaction qui existe entre LRRK2 et l' α / β -tubuline (Gandhi *et al.*, 2008). LRRK2 pourrait ainsi moduler la stabilité des microtubules (Law *et al.*, 2014). Dans nos conditions, cet effet serait alors indépendant de son activité kinase puisque cette plus forte accumulation d'autophagosomes est également retrouvée en cas de co-expression de l' α -syn avec LRRK2^{DK}. Néanmoins, il a été décrit que le domaine kinase de LRRK2 serait fondamental à son impact sur le système des microtubules en favorisant sa polymérisation (Deniston *et al.*, 2020 ; Gandhi *et al.*, 2008 ; Kett *et al.*, 2012). Notre hypothèse reste donc à vérifier. Enfin, ces résultats concernant l'accumulation plus importante d'autophagosomes n'ont pas été retrouvés au sein de cultures neuronales pures, suggérant le rôle probable des astrocytes dans l'interaction fonctionnelle entre l' α -syn et LRRK2 sur les flux autophagiques.

Néanmoins, nous pouvons tout de même nous questionner sur le rôle bénéfique que détiendrait cette augmentation du flux autophagique neuronal. D'une part, cette contribution pourrait en fait être

le reflet d'une plus forte demande de recyclage par autophagie d'éléments intracellulaires potentiellement toxiques à l'intégrité de la cellule tels que des organites endommagés. Ainsi, la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} pourraient par exemple induire des dommages aux mitochondries, et ainsi favoriser la mitophagie. Toutefois, Camille Gardier a pu montrer dans sa thèse que la co-expression de l' α -syn avec LRRK2 n'impactaient que faiblement l'homéostasie mitochondriale : seules la production mitochondriale d'ATP et la distance parcourue par les mitochondries au sein des axones étaient modulées par LRRK2 ; mais pas la respiration cellulaire, le potentiel de membrane mitochondrial ou encore la concentration cellulaire totale en ATP. D'autre part, une suractivation de l'autophagie pourrait être délétère. En effet, bien que décrite à l'origine comme favorisant la survie de la cellule (comme décrit en Introduction, en partie V.I.1.), l'autophagie a été liée à un type de mort cellulaire programmée nommée « mort cellulaire de type 2 » - le type 1 correspondant à l'apoptose et le type 3 d'autres types de mort dont la nécrose (Maiuri *et al.*, 2007). Ce paradoxe du rôle de l'autophagie est également à mettre en lien avec sa dualité d'effet au sein de pathologies liées au SNC. En effet, il est décrit que l'induction de l'autophagie serait protectrice dans le cas de MNDs alors qu'elle apparaît délétère pour les neurones dans le cas d'autres affections telles que l'ischémie cérébrale, où l'inhibition de l'autophagie est dans ce cas neuroprotectrice (Puyal *et al.*, 2009). Enfin, il a été démontré qu'une induction prolongée et anormale de l'autophagie favorise la mort neuronale (Bains & Heidenreich, 2009; Chung *et al.*, 2018). Dès lors, une suractivation de l'autophagie pourrait entraîner une perte de contrôle du processus, qui favoriserait la sur-digestion d'éléments intracellulaires indispensables au fonctionnement de la cellule mais aussi l'activation d'acteurs de la mort cellulaire tels que p53 (Maiuri *et al.*, 2007). De ce fait, il apparaît essentiel de déterminer si cette suractivation de l'autophagie pourrait favoriser la mort des neurones. Néanmoins, des premières analyses réalisées par Camille Gardier avaient pu montrer que ni l' α -syn (WT ou mutée A53T), ni sa co-expression avec LRRK2 n'impactaient significativement la viabilité cellulaire dans les cultures de neurones corticaux. Il faudrait ainsi reproduire ses expériences mais en induisant l'autophagie (par incubation dans de l'EBSS) de ces neurones transduits.

III. Effet de LRRK2 sur la phosphorylation de l'alpha-synucléine dans les neurones

III.1. LRRK2 favorise la phosphorylation de l'alpha-synucléine, en lien avec son activité kinase.

Afin de caractériser comment LRRK2 pouvait moduler les effets neurotoxiques de l'α-syn, nous avons évalué si LRRK2 pouvait favoriser une forme de l'α-syn décrite comme pathologique : phosphorylée sur la S129. Cette modification post-traductionnelle est d'autant plus intéressante à prendre en compte dans le cadre de notre étude. En effet, d'une part, il est possible de faire le lien entre la pS129 et l'activité kinase exacerbée de LRRK2^{G2019S}. D'autre part, la pS129 est très fortement retrouvée dans le cerveau de patients atteints de la MP, en comparaison avec des personnes saines. Nous avons ainsi pu confirmer par immunofluorescence les données obtenues par Camille Gardier au cours de sa thèse, qui ont montré que l'expression de LRRK2^{G2019S} permet d'augmenter significativement le pourcentage de neurones (transduits également avec l'α-syn) présentant de l'α-syn pS129-positif sur l'ensemble des neurones NeuN-positifs. Cet effet apparaît alors véritablement dépendant de son activité kinase. D'une part, cette exacerbation n'est pas retrouvée en cas de co-expression de l'α-syn avec LRRK2^{DK}, dont l'activité kinase est génétiquement invalidée. D'autre part, le traitement des neurones au MLI2, inhibiteur spécifique de l'activité kinase de LRRK2, permet de contraindre l'effet de LRRK2^{G2019S} sur la phosphorylation de l'α-syn, démontrant ici pharmacologiquement le rôle indéniable du domaine kinase de LRRK2 dans cet effet. Ces données corroborent de nombreuses autres études à la fois *in vitro* et *in vivo* (Bieri *et al.*, 2019 ; Henderson *et al.*, 2018 ; Longo *et al.*, 2017 ; Novello *et al.*, 2018 ; Obergasteiger *et al.*, 2019 ; Volpicelli-Daley *et al.*, 2016). Toutefois, et suivant les données de la littérature, il apparaît peu probable que LRRK2 phosphoryle directement l'α-syn mais effectuerait sans doute son rôle via un intermédiaire. En outre, et bien que la pS129 ait été associée à une forme pathologique de l'α-syn, et comme cité précédemment, Camille Gardier n'a pas pu l'associer à la mort cellulaire. Ceci peut être lié au fait que le marquage pS129 apparaît diffus au sein des neurones, dans nos cultures, avec une localisation préférentiellement somatique, et ne semble donc pas en lien avec des agrégats de l'α-syn. Cette relocalisation somatique de l'α-syn due à l'expression de LRRK2^{G2019S} avait déjà été décrite *in vivo*, ce qui favorisait l'agrégation de l'α-syn (Lin *et al.*, 2009). Là encore, il se pourrait que la perte d'environnement cérébral lié à notre modèle *in vitro* ne permet pas la formation d'agrégats d'α-syn malgré son niveau de surexpression, contrairement aux modèles *in vivo* développés au laboratoire (Cresto *et al.*, 2021). En outre, il se pourrait également que les neurones primaires analysés à DIV14 ne soient pas assez « âgés » pour véritablement observer ces agrégats. Ainsi, notre modèle ne permettrait donc que de reproduire une forme légère et précoce de la pathologie. Ceci est en adéquation avec l'hypothèse que nous avons formulée afin d'expliquer l'absence d'effet de LRRK2 sur les flux autophagiques.

III.2. La phosphorylation de l'alpha-synucléine apparait dépendante de l'autophagie et du protéasome.

Comme cité précédemment, le marquage pS129 est diffus et essentiellement somatique, contrairement à celui de l' α -syn qui se révèle à la fois dans le soma mais aussi dans les neurites. Cette différence d'expression suggère une redistribution de la localisation de l' α -syn en lien avec sa modification traductionnelle. Notamment, nous avons émis l'hypothèse que cette localisation préférentiellement somatique pouvait être liée à un défaut des systèmes de dégradation. En effet, et comme indiqué en Introduction (en partie V.1.6.), c'est dans ce compartiment cellulaire que les lysosomes fonctionnels se localisent de préférence au sein des neurones. De plus, si l' α -syn phosphorylée en S129 n'apparait pas agrégée au sein de notre modèle, il se pourrait que cette modification post-traductionnelle intervienne avant la formation d'agrégats de la protéine. La pS129 pourrait alors jouer le rôle de motif d'adressage de l' α -syn soluble vers les voies de dégradation telles que l'autophagie, permettant ainsi sa dégradation avant qu'elle ne s'agrège. De plus, il a été montré que la formation d'autolysosomes était nécessaire à la clairance de l' α -syn pS129-positif, et que la diminution de l'activité des lysosomes induisait une accumulation de cette α -syn phosphorylée (Bravo-San Pedro *et al.*, 2013). Nous avons ainsi examiné cette hypothèse en bloquant le flux autophagique avec la BafA1 et nous avons ainsi évalué l'effet de ce traitement sur le pourcentage de neurones pS129-positifs. De façon intéressante, il apparait que la BafA1 ne permet pas d'augmenter ce pourcentage mais, à l'inverse, elle favorise sa diminution en cas de co-expression de l' α -syn avec LRRK2^{G2019S}. Nous nous sommes alors demandés si ce résultat était le reflet d'un phénomène compensatoire au blocage du flux autophagique : l'activation du protéasome. Comme cité en Introduction (en partie V.1.5.), les voies de l'autophagie et du protéasome apparaissent interdépendantes. En effet, il a été décrit que l'inhibition du protéasome pouvait activer l'autophagie (Dikic, 2017). Bien que l'inverse soit relativement peu rapporté, certaines données montrent que le protéasome pourrait également s'activer en cas de blocage de l'autophagie (Tannous *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2013). De plus, l' α -syn phosphorylée en S129 peut être dégradée par cette voie, et notamment en répercussion du blocage pharmacologique du flux autophagique (Arawaka *et al.*, 2017; Machiya *et al.*, 2010). Ainsi, nous avons confirmé cette hypothèse de compensation entre l'autophagie et le protéasome en traitant les neurones primaires avec la Lactacystine (inhibiteur du protéasome) additionné ou non de BafA1. Le blocage seul du protéasome permet alors d'augmenter le pourcentage de neurones pS129-positifs en cas de co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LacZ ou LRRK2^{WT}, mais pas avec LRRK2^{G2019S} ni LRRK2^{DK}. Cela suggère que le protéasome jouerait un rôle dans la régulation du motif pS129 mais pas en cas d'expression de LRRK2^{G2019S/DK}. La forme mutée G2019S de LRRK2 pourrait elle-même déjà jouer un rôle bloqueur du protéasome, et cet effet serait indépendant de son activité kinase. La combinaison des traitements à la Lacta et BafA1 a ainsi pu confirmer que la diminution du pourcentage de neurones pS129-positifs en cas de co-expression de l' α -syn avec LRRK2^{G2019S} était véritablement due à une activation compensatoire du protéasome, puisque ce pourcentage n'est pas modifié dans cette condition de co-traitement. Puisqu'en cas de co-traitement avec les deux molécules, mais pas en cas de traitement avec une seule des deux, ce pourcentage augmente significativement

DISCUSSION

lorsque les cellules co-expriment l' α -syn avec LRRK2^{DK}, un effet de compensation serait également retrouvé dans cette condition d'expression. Enfin, nous avons souhaité vérifier l'effet de l' α -syn et LRRK2 sur l'interaction entre les mécanismes de l'autophagie et du protéasome (par immunoempreinte), mais nous n'avons cependant pas pu mettre en lumière d'impact de ces deux protéines d'intérêt sur ces phénomènes de compensation. Nous avons également entrepris une analyse par mesure de l'activité du protéasome en réponse à l'expression de l' α -syn et LRRK2 en lien avec un traitement (ou non) à la BafA1, mais cette étude n'a pour l'heure pas permis de nous fournir de résultats convaincants (*résultats non-montrés*).

Finalement, il apparait que la phosphorylation de l' α -syn en S129 est dépendante de LRRK2^{G2019S} mais aussi des voies de l'autophagie et du protéasome. Toutefois, nous ne savons pas si ces voies de dégradation prennent directement en charge l' α -syn phosphorylée ou si elles jouent plutôt sur la régulation de kinases/phosphatases de l' α -syn. Notamment, il a pu être montré que le blocage du protéasome permet d'augmenter le marquage pS129 au sein de cellules SH-SY5Y, par augmentation de l'activité de la caséine kinase 2 (Waxman & Giasson, 2008). En outre, le rôle de cette modification post-traductionnelle reste incompris. Bien que décrit comme permettant d'augmenter sa capacité d'agrégation (Shin & Chung, 2020), elle n'a pas toujours été associée à son accumulation et/ou agrégation (Sato *et al.*, 2011). Enfin, et comme indiqué en Introduction (en partie II.4.2.1), cette pS129 ne semble pas directement liée à la neurotoxicité de l' α -syn. Ainsi, l'ensemble de nos données concernant l'effet de LRRK2 sur la phosphorylation de l' α -syn souligne qu'il existe une véritable interaction fonctionnelle entre ces protéines, sans pour autant démontrer clairement dans quelle mesure cette interaction serait *in fine* délétère à la cellule.

CONCLUSION

Au cours de cette thèse, nous avons pu mettre au point un modèle d'étude de l'autophagie neuronale au sein de neurones primaires corticaux de rat. Ce modèle combiné à l'approche de surexpression de l' α -syn et LRRK2 nous a permis d'identifier l'impact de ces deux protéines liées à la MP sur les processus autophagiques. Ainsi, il apparaît que l' α -syn^{A53T} induit d'une part une diminution du flux autophagique basal neuronal et d'autre part une accumulation somatique plus forte d'autophagosomes en réponse à une privation nutritive et un blocage pharmacologique du flux, tandis qu'elle favorise également le flux autophagique induit. Ces données suggèrent que cette protéine pourrait concéder une perturbation des systèmes de trafic des autophagosomes. En effet, bien qu'ils soient d'autant plus synthétisés face à un stress autophagique, ces autophagosomes ne pourraient devenir matures et accéder à l'espace de dégradation que représente le soma neuronal. L'ensemble de ces résultats démontre le rôle bloqueur de l' α -syn dans l'autophagie. A propos de LRRK2, nous avons pu mettre en évidence que son rôle au sein du processus autophagique serait dépendant d'autres conditions favorables à l'exécution de sa pathogénicité, puisque son expression seule ne module aucun facteur dans nos expériences. Enfin, il s'avère que la co-expression de l' α -syn^{A53T} avec LRRK2^{G2019S} promeut le flux autophagique basal - de façon kinase-dépendante - et induit également une plus forte accumulation d'autophagosomes dans le soma en réponse à une privation et un blocage du flux - de façon kinase-indépendante. Ainsi, LRRK2^{G2019S} pourrait contrecarrer les effets délétères de l' α -syn^{A53T} sur l'autophagie neuronale. Néanmoins, des questions demeurent quant aux bénéfices que représente cet effet apparemment protecteur de LRRK2. Cet effet pourrait refléter des dommages cellulaires importants qui favorisent alors l'induction de l'autophagie ou montrer qu'une suractivation de l'autophagie pourrait *in fine* être délétère pour la cellule, comme le suggèrent diverses données de la littérature. Enfin, ces éléments confirment qu'il existe une interaction fonctionnelle entre l' α -syn et LRRK2 au sein du processus autophagique, bien que le préjudice de cette coopération reste toutefois à confirmer. Par ailleurs, nous avons également démontré cette interaction fonctionnelle dans la phosphorylation de l' α -syn. En effet, il apparaît que LRRK2^{G2019S} favorise de façon kinase-dépendante la forme décrite comme pathologique de l' α -syn, phosphorylée sur la S129. De plus, cette accumulation somatique d' α -syn phosphorylée demeure dépendante des voies de dégradation de l'autophagie et du protéasome. Toutefois, l'impact de ces deux protéines liées à la MP dans l'interdépendance de ces voies reste à confirmer. Finalement, l'ensemble de cette thèse a permis de montrer l'interaction de l' α -syn et LRRK2 dans la MP, au sein de deux phénomènes pouvant impacter négativement la survie neuronale : des déséquilibres du processus autophagique ainsi que la promotion de forme pathologique de l' α -syn (Figure 45).

CONCLUSION

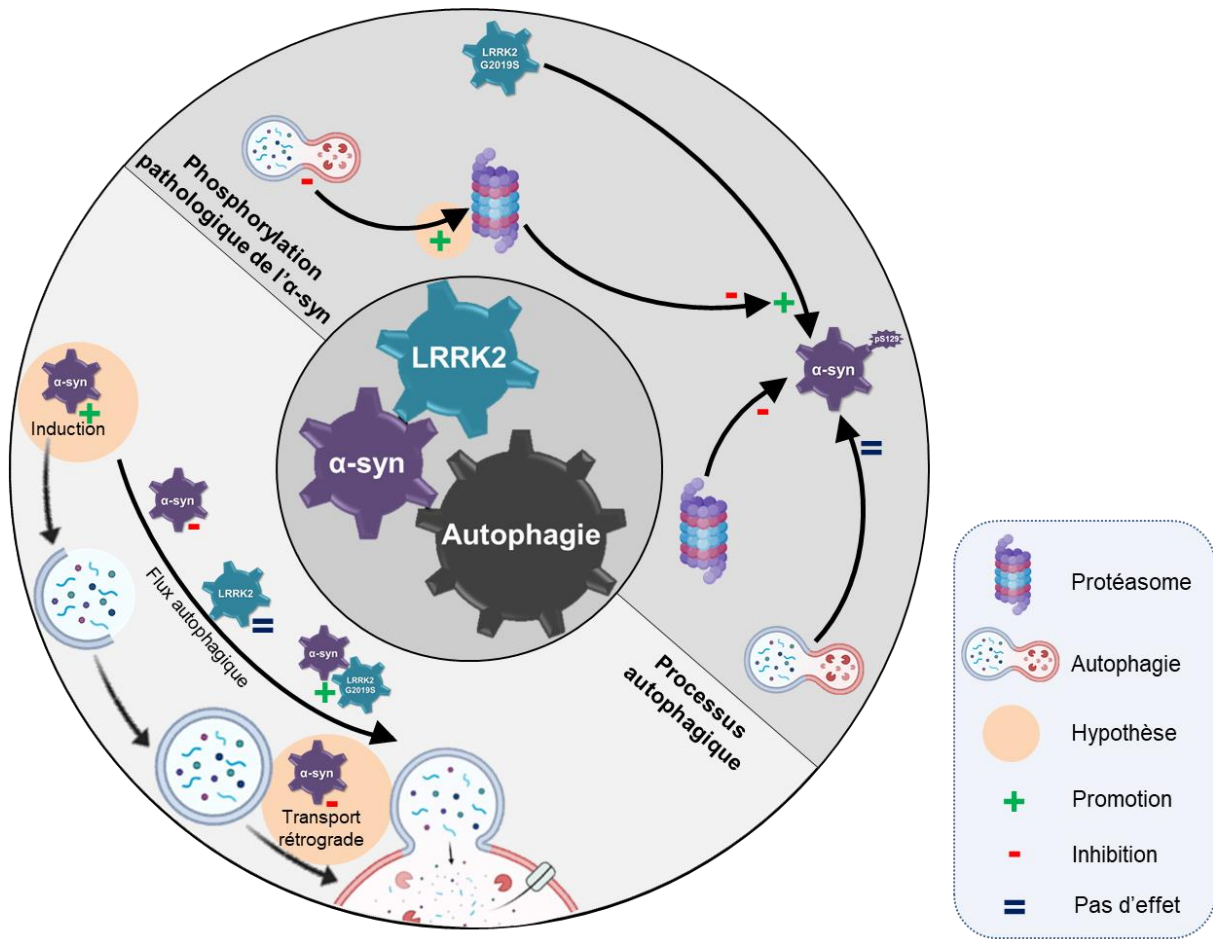


Figure 45 : Schéma récapitulatif des résultats démontrant l'interaction fonctionnelle entre l'alpha-synucléine et LRRK2 en lien avec l'autophagie

PERSPECTIVES

Poursuivre l'analyse de l'impact de l'alpha-synucléine et LRRK2 sur les flux autophagiques

Afin de compléter la validation de notre modèle d'autophagie, il devient nécessaire d'étudier la variation de l'expression d'autres acteurs de la voie autophagique, en lien avec nos traitements. Lors d'études préliminaires, nous avons étudié la modulation d'expression de Beclin1 et mTOR (ainsi que sa forme phosphorylée associée) mais nous n'avons pas observé de modification de l'expression de ces protéines suite à une privation nutritive et/ou au blocage du flux par la BafA1 (*résultats non-montrés*). D'autres acteurs moléculaires de la voie pourraient être analysés, depuis l'initiation du processus (complexe de protéines Atg) jusqu'aux lysosomes (LAMP1) et leur activité (cathepsines). En outre, et afin de conclure sur l'induction de l'autophagie et vérifier que la modulation de ces acteurs est bel et bien liée à l'activation du processus, il serait nécessaire d'effectuer par exemple un contrôle négatif à l'aide d'une stratégie par ARN interférence ciblant un acteur de l'initiation du processus (tel qu'Atg5 ou Atg7), ou bien à l'aide d'une approche pharmacologique telle que le 3-MA (3-méthyladénine), un inhibiteur de la PI3K (Klionsky *et al.*, 2021). Toutefois, et d'autant plus dans le cas des neurones, il reste essentiel de mieux comprendre par quelle voie d'induction est activée l'autophagie pour ainsi l'inhiber au mieux.

TFEB, une autre clé dans l'interaction entre l'alpha-synucléine et LRRK2 dans l'autophagie ?

En lien avec l'étude de l'interaction entre l' α -syn et LRRK2 au sein des processus autophagiques, il serait également intéressant de vérifier leur impact conjoint sur la régulation de TFEB. Régulateur majeur du processus autophagique, TFEB est retrouvé en condition basale phosphorylé (notamment via mTORC1 ou l'AMPK) et apparaît séquestré dans le cytoplasme, notamment par son interaction avec la protéine 14-3-3 (Decressac *et al.*, 2013). Un stress autophagique permet alors sa déphosphorylation (notamment via la calcineurine), ce qui entraîne sa translocation nucléaire. Il participe ainsi à la transcription des gènes du réseau CLEAR (Coordinated Lysosomal Expression and Regulation), qui prennent part à de multiples mécanismes du métabolisme et de la clairance cellulaire (autophagie, biogenèse lysosomale, endocytose...), mais régule aussi sa propre expression par une boucle d'autorégulation (Martini-Stoica *et al.*, 2016). L'analyse de la modulation de l'expression de TFEB est d'autant plus intéressante dans le cas de la MP puisque sa surexpression par vecteur viral produit un effet neurotrophique, en lien avec une plus grande production de DA libérée vers le ST, et une neuroprotection des neurones DAergiques chez des souris traitées au MPTP (Torra *et al.*, 2018). Une diminution du taux nucléaire de TFEB dans le mésencéphale de patients parkinsoniens a été rapportée (Decressac *et al.*, 2013). Sa surexpression au sein de la SNpc de rat favorise : 1/ une neuroprotection ainsi

qu'une élévation de la libération de DA et 2/ une élimination des oligomères d' α -syn (Decressac *et al.*, 2013). De plus, il a été observé qu'à la fois l' α -syn (Xu *et al.*, 2002) mais aussi LRRK2 (Nichols *et al.*, 2010) pouvaient interagir avec 14-3-3 qui interagit également avec TFEB (comme cité précédemment). Ceci laisse présager qu'il pourrait exister un complexe multiprotéique composé de l' α -syn, LRRK2, 14-3-3 et TFEB au sein du cytoplasme. Ce complexe pourrait également exister au sein mêmes des CLs dans lesquels l' α -syn et LRRK2 peuvent être co-localisés (Alegre-Abarrategui *et al.*, 2008), ainsi que l' α -syn et TFEB (Decressac *et al.*, 2013). Enfin, et puisque l'activité kinase de LRRK2 est exacerbée en cas de mutation G2019S, il reste envisageable que TFEB pourrait être un des substrats de cette première. LRRK2^{G2019S} pourrait favoriser la séquestration de TFEB au cytoplasme, empêchant ainsi la transcription de gènes cibles prenant part à la biogenèse lysosomale. Cette hypothèse reste cependant à considérer avec prudence puisqu'aucune donnée à l'heure actuelle ne montre ce rôle de LRRK2 envers TFEB.

Des analyses préliminaires par fractionnement subcellulaire nous ont permis de vérifier par immunoempreinte (à la fois au sein de neurones et d'astrocytes primaires) qu'effectivement TFEB était délocalisé au noyau en cas de privation nutritive (*résultats non-montrés*). L'ensemble de ces analyses doit cependant être confirmé afin, par la suite, d'examiner l'impact potentiel de l' α -syn et LRRK2 sur cette translocation. Les résultats d'expériences pilotes sur la relocalisation au noyau de TFEB n'ayant pas été concluants, nous envisageons une nouvelle approche par transduction des neurones primaires avec une construction TFEB-GFP qui nous permettrait d'une part de vérifier cette séquestration potentielle de TFEB au cytoplasme par l' α -syn et LRRK2, mais également d'estimer par vidéomicroscopie time-lapse si ces dernières modulent la translocation nucléaire de ce facteur de transcription. Notre hypothèse de complexe macromoléculaire composé de l' α -syn, LRRK2, 14-3-3 et TFEB pourra être évaluée par une approche de co-immunoprécipitation. Enfin, l'effet de la co-expression de l' α -syn et LRRK2 sur TFEB pourra également être mesurée en explorant par qPCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne quantitative en temps réel) la régulation transcriptionnelle produite par TFEB.

Analyser l'effet de LRRK2 au sein des astrocytes

Bien que les neurones soient les cellules les plus enclines à la mort cellulaire dans le cas de la MP, la prise en compte des cellules gliales – et notamment des astrocytes – est un élément de choix dans la caractérisation des dysfonctionnements associés à cette pathologie. Il a notamment été montré que l' α -syn pouvait s'accumuler au sein de ces cellules, en plus des neurones, chez les patients atteints de la MP (Braak *et al.*, 2007; Wakabayashi *et al.*, 2000). Les astrocytes apparaissent alors capables d'internaliser l' α -syn au sein de leurs lysosomes, et sont également capables de la transférer vers un autre astrocyte ou un neurone (Loria *et al.*, 2017). De plus, il apparaît essentiel de prendre en compte le rôle de LRRK2 au sein de ces cellules où elle y est le plus exprimée dans le SNC et elle y agirait notamment sur la régulation de leurs lysosomes (Henderson *et al.*, 2018 ; Henry *et al.*, 2015). De plus, il a été montré que les astrocytes dérivés de CSPis de patients porteurs de LRRK2^{G2019S} apparaissent atrophiés (Ramos González *et al.*, 2021) et présentent une accumulation d' α -syn ainsi que des défauts d'autophagie (di Domenico *et al.*, 2019). De plus, leur co-culture avec des neurones DAergiques dérivés de CSPis

contrôles entraîne la propagation de l' α -syn issue des astrocytes vers les neurones, favorisant leur neurodégénérescence (di Domenico *et al.*, 2019). Cela peut notamment s'expliquer, d'une part, par le fait que ces astrocytes détiennent une plus faible capacité à internaliser et à dégrader l' α -syn via la voie endolysosomale (Henry *et al.*, 2015 ; Streubel-Gallasch *et al.*, 2021) ; et, d'autre part, par la plus forte expression d' α -syn au sein de ces astrocytes porteurs de LRRK2^{G2019S} (Sonninen *et al.*, 2020). Ainsi, les astrocytes pourraient jouer un rôle dans la pathogénicité associée à LRRK2. Il serait particulièrement intéressant d'étudier LRRK2 au sein d'astrocytes primaires, pour vérifier en premier lieu si elle a un impact sur les flux autophagiques astrocytaires, et en lien ou non avec l'activité kinase exacerbée par la mutation G2019S. Ceci est d'autant plus intéressant à vérifier puisqu'il a pu être montré que l'inhibition de l'activité kinase de LRRK2 au sein des astrocytes avait permis d'induire l'autophagie (Booth *et al.*, 2017 ; Manzoni *et al.*, 2013).

Dans le cours de ce projet de thèse, nous avons mis en place un modèle d'expression de LRRK2 dans les astrocytes primaires, en transduisant ces derniers avec les mêmes vecteurs que ceux utilisés pour les neurones. Le but était de mettre au point une lignée astrocytaire exprimant de façon stable les différentes formes de LRRK2 que nous avons en notre possession. Bien qu'ils soient capables d'exprimer le transgène (mais à des titres viraux bien plus forts que ceux utilisés pour les neurones), il est apparu par immunomarquage que les astrocytes primaires de rat exprimaient LRRK2 humaine de façon très hétérogène. Nous n'avons pas poussé plus loin nos investigations mais il serait intéressant de reprendre cette approche mais en utilisant un vecteur lentiviral où LRRK2 serait sous le contrôle d'un promoteur astrocytaire tel que la GFAP. Au final, nous pourrions étudier l'effet d'astrocytes exprimant LRRK2^{WT/G2019S/DK} sur des neurones primaires transduits avec l' α -syn, au sein de co-cultures. Cela nous permettrait de vérifier les flux autophagiques au sein de ces deux types cellulaires, mais également de vérifier si LRRK2 exprimée par les astrocytes pourrait avoir un impact sur la phosphorylation de la S129 de l' α -syn neuronale.

Etudier *in vivo* l'effet de l'alpha-synucléine et LRRK2 dans les processus autophagiques

Bien que les neurones primaires représentent un modèle judicieux dans la caractérisation de mécanismes cellulaires et moléculaires, leur système clos ne permet pas de reproduire toute la complexité du SNC. De par la présence d'astrocytes notamment, nos cultures neuronales mixtes sont légèrement plus proche de l'environnement cellulaire du cerveau, mais il se peut également que ces astrocytes ne jouent véritablement pas l'ensemble de leur rôle sur les neurones. Nos données obtenues *in vitro* restent ainsi relativement éloignées de la complexité physiologique d'un organisme entier. Il serait ainsi envisageable d'établir une approche *in vivo* de la coopération de l' α -syn et LRRK2 dans l'autophagie. Il est en effet possible d'induire l'autophagie *in vivo* par privation alimentaire même si cette technique s'avère peu fructueuse pour induire l'autophagie dans le cerveau (Mizushima *et al.*, 2004). Ceci peut s'expliquer par le fait que le cerveau dispose de mécanismes uniques de protection afin de

PERSPECTIVES

préserver la neurotransmission, fortement dépendante du niveau d'ATP (Boland & Nixon, 2006). Cet organe va d'abord puiser dans des réserves de glucose et de corps cétoniques jusqu'à l'apport énergétique supplémentaire par le foie et les muscles notamment (Rabinowitz & White, 2010). L'autophagie peut alors s'induire par injection de tréhalose ou de rapamycine (Castillo *et al.*, 2013), mais aussi de CQ afin de bloquer le flux autophagique (Masson *et al.*, 2020). Ceci pourrait être effectué chez des animaux injectés par stéréotaxie dans la SNpc avec des vecteurs viraux codant pour l' α -syn et LRRK2, à la manière du modèle développé par Noémie Cresto chez le rat. Puisqu'il n'existe pas de rat transgénique exprimant de façon endogène le GFP-LC3 (ou mCherry-GFP-LC3), cette construction pourrait être exprimée par injection (rétro-orbitale, intra-cérébro-ventriculaire ou encore par stéréotaxie).

BIBLIOGRAPHIE

- Aasly, J. O., Johansen, K. K., Brønstad, G., Warø, B. J., Majbour, N. K., Varghese, S., Alzahmi, F., Paleologou, K. E., Amer, D. A. M., Al-Hayani, A., & El-Agnaf, O. M. A. (2014). Elevated levels of cerebrospinal fluid α -synuclein oligomers in healthy asymptomatic LRRK2 mutation carriers. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00248>
- Aasly, J. O., Vilariño-Güell, C., Dachsel, J. C., Webber, P. J., West, A. B., Haugarvoll, K., Johansen, K. K., Toft, M., Nutt, J. G., Payami, H., Kachergus, J. M., Lincoln, S. J., Felic, A., Wider, C., Soto-Ortolaza, A. I., Cobb, S. A., White, L. R., Ross, O. A., & Farrer, M. J. (2010). Novel pathogenic LRRK2 p.Asn1437His substitution in familial Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 25(13), 2156-2163. <https://doi.org/10.1002/mds.23265>
- Abeliovich, A., Schmitz, Y., Fariñas, I., Choi-Lundberg, D., Ho, W.-H., Castillo, P. E., Shinsky, N., Verdugo, J. M. G., Armanini, M., Ryan, A., Hynes, M., Phillips, H., Sulzer, D., & Rosenthal, A. (2000). Mice Lacking α -Synuclein Display Functional Deficits in the Nigrostriatal Dopamine System. *Neuron*, 25(1), 239-252. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80886-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80886-7)
- Aboutin, S., Bousset, L., Loria, F., Zhu, S., de Chaumont, F., Pieri, L., Olivo-Marin, J.-C., Melki, R., & Zurzolo, C. (2016). Tunneling nanotubes spread fibrillar α -synuclein by intercellular trafficking of lysosomes. *The EMBO Journal*, 35(19), 2120-2138. <https://doi.org/10.15252/embj.201593411>
- Adams, R. D., Vanbogaert, L., & Vandereecken, H. (1964). STRIATO-NIGRAL DEGENERATION. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 23, 584-608.
- Agin-Lieb, J., Cortes, E., Vonsattel, J.-P., Marder, K., & Alcalay, R. N. (2020). Movement disorders rounds: A case of missing pathology in a patient with LRRK2 Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 74, 76-77. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.11.006>
- Ahmed, I., Liang, Y., Schools, S., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Savitt, J. M. (2012). Development and characterization of a new Parkinson's disease model resulting from impaired autophagy. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32(46), 16503-16509. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0209-12.2012>
- Ahn, B.-H., Rhim, H., Kim, S. Y., Sung, Y.-M., Lee, M.-Y., Choi, J.-Y., Wolozin, B., Chang, J.-S., Lee, Y. H., Kwon, T. K., Chung, K. C., Yoon, S.-H., Hahn, S. J., Kim, M.-S., Jo, Y.-H., & Min, D. S. (2002). α -Synuclein Interacts with Phospholipase D Isozymes and Inhibits Pervanadate-induced Phospholipase D Activation in Human Embryonic Kidney-293 Cells*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(14), 12334-12342. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110414200>
- Ahn, K. J., Paik, S. R., Chung, K. C., & Kim, J. (2006). Amino acid sequence motifs and mechanistic features of the membrane translocation of α -synuclein. *Journal of Neurochemistry*, 97(1), 265-279. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03731.x>
- Albanese, F., Novello, S., & Morari, M. (2019). Autophagy and LRRK2 in the Aging Brain. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01352>
- Alegre-Abarrategui, J., Ansorge, O., Esiri, M., & Wade-Martins, R. (2008). LRRK2 is a component of granular alpha-synuclein pathology in the brainstem of Parkinson's disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 34(3), 272-283. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2007.00888.x>
- Alegre-Abarrategui, J., Christian, H., Lufino, M. M. P., Mutihac, R., Venda, L. L., Ansorge, O., & Wade-Martins, R. (2009). LRRK2 regulates autophagic activity and localizes to specific membrane microdomains in a novel human genomic reporter cellular model. *Human Molecular Genetics*, 18(21), 4022-4034. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp346>
- Alessi, D. R., & Sammler, E. (2018). LRRK2 kinase in Parkinson's disease. *Science (New York, N.Y.)*, 360(6384), 36-37. <https://doi.org/10.1126/science.aar5683>
- Aleyasin, H., Rousseaux, M. W. C., Marcogliese, P. C., Hewitt, S. J., Irrcher, I., Joselin, A. P., Parsanejad, M., Kim, R. H., Rizzu, P., Callaghan, S. M., Slack, R. S., Mak, T. W., & Park, D. S. (2010). DJ-1 protects the nigrostriatal axis from the neurotoxin MPTP by modulation of the AKT pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), 3186-3191. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914876107>
- Alfaro, I. E., Albornoz, A., Molina, A., Moreno, J., Cordero, K., Criollo, A., & Budini, M. (2019). Chaperone Mediated Autophagy in the Crosstalk of Neurodegenerative Diseases and Metabolic Disorders. *Frontiers in Endocrinology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00778>
- Alim, M. A., Hossain, M. S., Arima, K., Takeda, K., Izumiya, Y., Nakamura, M., Kaji, H., Shinoda, T., Hisanaga, S., & Ueda, K. (2002). Tubulin Seeds α -Synuclein Fibril Formation*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(3), 2112-2117. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102981200>
- Alirezai, M., Kioussis, W. B., Flynn, C. T., Brady, N. R., & Fox, H. S. (2008). Disruption of neuronal autophagy by infected microglia results in neurodegeneration. *PLoS One*, 3(8), e2906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002906>
- Allen Reish, H. E., & Standaert, D. G. (2015). Role of α -synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 5(1), 1-19. <https://doi.org/10.3233/JPD-140491>
- Alvarez-Erviti, L., Rodriguez-Oroz, M. C., Cooper, J. M., Caballero, C., Ferrer, I., Obeso, J. A., & Schapira, A. H. V. (2010). Chaperone-Mediated Autophagy Markers in Parkinson Disease Brains. *Archives of Neurology*, 67(12), 1464-1472. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.198>
- Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Schapira, A. H., Gardiner, C., Sargent, I. L., Wood, M. J. A., & Cooper, J. M. (2011). Lysosomal dysfunction increases exosome-mediated alpha-synuclein release and transmission. *Neurobiology of Disease*, 42(3), 360-367. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.01.029>

BIBLIOGRAPHIE

- Ambroso, M. R., Hegde, B. G., & Langen, R. (2014). Endophilin A1 induces different membrane shapes using a conformational switch that is regulated by phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(19), 6982-6987. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402233111>
- Ancolio, K., Alves da Costa, C., Uéda, K., & Checler, F. (2000). α -Synuclein and the Parkinson's disease-related mutant Ala53Thr- α -synuclein do not undergo proteasomal degradation in HEK293 and neuronal cells. *Neuroscience Letters*, *285*(2), 79-82. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01049-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01049-1)
- Andersen, J. K. (2009). Arvid Carlsson: An Early Pioneer in Translational Medicine. *Science Translational Medicine*, *1*(2), 2ps3-2ps3. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000149>
- Andersen, M. A., Christensen, K. V., Badolo, L., Smith, G. P., Jeggo, R., Jensen, P. H., Andersen, K. J., & Sotty, F. (2018). Parkinson's disease-like burst firing activity in subthalamic nucleus induced by AAV- α -synuclein is normalized by LRRK2 modulation. *Neurobiology of Disease*, *116*, 13-27. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.04.011>
- Anderson, J. P., Walker, D. E., Goldstein, J. M., de Laat, R., Banducci, K., Caccavello, R. J., Barbour, R., Huang, J., Kling, K., Lee, M., Diep, L., Keim, P. S., Shen, X., Chataway, T., Schlossmacher, M. G., Seubert, P., Schenk, D., Sinha, S., Gai, W. P., & Chilcote, T. J. (2006). Phosphorylation of Ser-129 Is the Dominant Pathological Modification of α -Synuclein in Familial and Sporadic Lewy Body Disease*. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(40), 29739-29752. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600933200>
- Anglade, P., Vyas, S., Javoy-Agid, F., Herrero, M. T., Michel, P. P., Marquez, J., Mouatt-Prigent, A., Ruberg, M., Hirsch, E. C., & Agid, Y. (1997). Apoptosis and autophagy in nigral neurons of patients with Parkinson's disease. *Histology and Histopathology*, *12*(1), 25-31.
- Apetri, M. M., Harkes, R., Subramaniam, V., Canters, G. W., Schmidt, T., & Aartsma, T. J. (2016). Direct Observation of α -Synuclein Amyloid Aggregates in Endocytic Vesicles of Neuroblastoma Cells. *PLOS ONE*, *11*(4), e0153020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153020>
- Arawaka, S., Sato, H., Sasaki, A., Koyama, S., & Kato, T. (2017). Mechanisms underlying extensive Ser129-phosphorylation in α -synuclein aggregates. *Acta Neuropathologica Communications*, *5*(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0452-6>
- Arduíno, D. M., Raquel Esteves, A., Cortes, L., Silva, D. F., Patel, B., Grazina, M., Swerdlow, R. H., Oliveira, C. R., & Cardoso, S. M. (2012). Mitochondrial metabolism in Parkinson's disease impairs quality control autophagy by hampering microtubule-dependent traffic. *Human Molecular Genetics*, *21*(21), 4680-4702. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds309>
- Ariga, H., Takahashi-Niki, K., Kato, I., Maita, H., Niki, T., & Iguchi-Ariga, S. M. M. (2013). Neuroprotective function of DJ-1 in Parkinson's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2013*, 683920. <https://doi.org/10.1155/2013/683920>
- Arranz, A. M., Delbroek, L., Van Kolen, K., Guimarães, M. R., Mandemakers, W., Daneels, G., Matta, S., Calafate, S., Shaban, H., Baatsen, P., De Bock, P.-J., Gevaert, K., Vanden Berghe, P., Verstreken, P., De Strooper, B., & Moechars, D. (2015). LRRK2 functions in synaptic vesicle endocytosis through a kinase-dependent mechanism. *Journal of Cell Science*, *128*(3), 541-552. <https://doi.org/10.1242/jcs.158196>
- Atashrazm, F., & Dzamko, N. (2016). LRRK2 inhibitors and their potential in the treatment of Parkinson's disease: Current perspectives. *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*, *8*, 177-189. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S102191>
- Athanasopoulos, P. S., Heumann, R., & Kortholt, A. (2018). The role of (auto)-phosphorylation in the complex activation mechanism of LRRK2. *Biological Chemistry*, *399*(7), 643-647. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0332>
- Ayers, J. I., Brooks, M. M., Rutherford, N. J., Howard, J. K., Sorrentino, Z. A., Riffe, C. J., & Giasson, B. I. (2017). Robust Central Nervous System Pathology in Transgenic Mice following Peripheral Injection of α -Synuclein Fibrils. *Journal of Virology*, *91*(2). <https://doi.org/10.1128/JVI.02095-16>
- Azeredo da Silveira, S., Schneider, B. L., Cifuentes-Diaz, C., Sage, D., Abbas-Terki, T., Iwatsubo, T., Unser, M., & Aebischer, P. (2009). Phosphorylation does not prompt, nor prevent, the formation of α -synuclein toxic species in a rat model of Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, *18*(5), 872-887. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn417>
- Baba, M., Nakajo, S., Tu, P. H., Tomita, T., Nakaya, K., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q., & Iwatsubo, T. (1998). Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *The American Journal of Pathology*, *152*(4), 879-884.
- Bae, E.-J., Kim, D.-K., Kim, C., Mante, M., Adame, A., Rockenstein, E., Ulusoy, A., Klinkenberg, M., Jeong, G. R., Bae, J. R., Lee, C., Lee, H.-J., Lee, B.-D., Monte, D. A. D., Masliah, E., & Lee, S.-J. (2018). LRRK2 kinase regulates α -synuclein propagation via RAB35 phosphorylation. *Nature Communications*, *9*(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05958-z>
- Bains, M., & Heidenreich, K. A. (2009). Live-cell imaging of autophagy induction and autophagosome-lysosome fusion in primary cultured neurons. *Methods in enzymology*, *453*, 145-158. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)04007-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)04007-X)
- Balducci, C., Pierguidi, L., Persichetti, E., Parnetti, L., Sbaragli, M., Tassi, C., Orlacchio, A., Calabresi, P., Beccari, T., & Rossi, A. (2007). Lysosomal hydrolases in cerebrospinal fluid from subjects with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *22*(10), 1481-1484. <https://doi.org/10.1002/mds.21399>
- Bang, Y., Kang, B. Y., & Choi, H. J. (2014). Preconditioning stimulus of proteasome inhibitor enhances aggresome formation and autophagy in differentiated SH-SY5Y cells. *Neuroscience Letters*, *566*, 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.02.056>
- Baptista, M. A. S., Merchant, K., Barrett, T., Bhargava, S., Bryce, D. K., Ellis, J. M., Estrada, A. A., Fell, M. J., Fiske, B. K., Fuji, R. N., Galatsis, P., Henry, A. G., Hill, S., Hirst, W., Houle, C., Kennedy, M. E., Liu, X., Maddess, M. L., Markgraf, C., ... Sherer, T. B. (2020). LRRK2 inhibitors induce reversible changes in nonhuman primate lungs without measurable pulmonary deficits. *Science Translational Medicine*, *12*(540). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav0820>
- Barbeau, A., Dallaire, L., Buu, N. T., Poirier, J., & Rucinska, E. (1985). Comparative behavioral, biochemical and pigmentary effects of MPTP, MPP+ and paraquat in rana pipiens. *Life Sciences*, *37*(16), 1529-1538. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(85\)90185-7](https://doi.org/10.1016/0024-3205(85)90185-7)
- Bardy, C., Hurk, M. van den, Eames, T., Marchand, C., Hernandez, R. V., Kellogg, M., Gorris, M., Galet, B., Palomares, V., Brown, J., Bang, A. G., Mertens, J., Böhnke, L., Boyer, L., Simon, S., & Gage, F. H. (2015). Neuronal medium that supports basic synaptic functions and

- activity of human neurons in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(20), E2725-E2734. <https://doi.org/10.1073/pnas.1504393112>
- Barker, R. A., Drouin-Ouellet, J., & Parmar, M. (2015). Cell-based therapies for Parkinson disease—Past insights and future potential. *Nature Reviews Neurology*, *11*(9), 492-503. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2015.123>
- Bartels, T., Choi, J. G., & Selkoe, D. J. (2011). α -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. *Nature*, *477*(7362), 107-110. <https://doi.org/10.1038/nature10324>
- Barth, S., Glick, D., & Macleod, K. F. (2010). Autophagy: Assays and artifacts. *The Journal of Pathology*, *221*(2), 117-124. <https://doi.org/10.1002/path.2694>
- Bartus, R. T., & Johnson, E. M. (2017). Clinical tests of neurotrophic factors for human neurodegenerative diseases, part 2: Where do we stand and where must we go next? *Neurobiology of Disease*, *97*(Pt B), 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.03.026>
- Bartzokis, G., Cummings, J. L., Sultzer, D., Henderson, V. W., Nuechterlein, K. H., & Mintz, J. (2003). White matter structural integrity in healthy aging adults and patients with Alzheimer disease: A magnetic resonance imaging study. *Archives of Neurology*, *60*(3), 393-398. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.3.393>
- Beccano-Kelly, D. A., Kuhlmann, N., Taternikov, I., Volta, M., Munsie, L. N., Chou, P., Cao, L.-P., Han, H., Tapia, L., Farrer, M. J., & Milnerwood, A. J. (2014). Synaptic function is modulated by LRRK2 and glutamate release is increased in cortical neurons of G2019S LRRK2 knock-in mice. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00301>
- Bedford, C., Sears, C., Perez-Carrion, M., Piccoli, G., & Condliffe, S. B. (2016). LRRK2 Regulates Voltage-Gated Calcium Channel Function. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00035>
- Belluzzi, E., Gonnelli, A., Cirnar, M.-D., Marte, A., Plotegher, N., Russo, I., Civiero, L., Cogo, S., Carrion, M. P., Franchin, C., Arrigoni, G., Beltramini, M., Bubacco, L., Onofri, F., Piccoli, G., & Greggio, E. (2016). LRRK2 phosphorylates pre-synaptic N-ethylmaleimide sensitive fusion (NSF) protein enhancing its ATPase activity and SNARE complex disassembling rate. *Molecular Neurodegeneration*, *11*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0066-z>
- Bendor, J. T., Logan, T. P., & Edwards, R. H. (2013). The function of α -synuclein. *Neuron*, *79*(6), 1044-1066. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.09.004>
- Bengoa-Vergniory, N., Roberts, R. F., Wade-Martins, R., & Alegre-Abarrategui, J. (2017). Alpha-synuclein oligomers: A new hope. *Acta Neuropathologica*, *134*(6), 819-838. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1755-1>
- Benito-Cuesta, I., Diez, H., Ordoñez, L., & Wandosell, F. (2017). Assessment of Autophagy in Neurons and Brain Tissue. *Cells*, *6*(3). <https://doi.org/10.3390/cells6030025>
- Bennett, M. C., Bishop, J. F., Leng, Y., Chock, P. B., Chase, T. N., & Mouradian, M. M. (1999). Degradation of alpha-synuclein by proteasome. *The Journal of Biological Chemistry*, *274*(48), 33855-33858. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.48.33855>
- Benskey, M. J., Sellnow, R. C., Sandoval, I. M., Sortwell, C. E., Lipton, J. W., & Manfredsson, F. P. (2018). Silencing Alpha Synuclein in Mature Nigral Neurons Results in Rapid Neuroinflammation and Subsequent Toxicity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *11*, 36. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00036>
- Berg, D., Holzmann, C., & Riess, O. (2003). 14-3-3 proteins in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, *4*(9), 752-762. <https://doi.org/10.1038/nrn1197>
- Berg, D., Schweitzer, K. J., Leitner, P., Zimprich, A., Lichtner, P., Belcredi, P., Brüssel, T., Schulte, C., Maass, S., Nägele, T., Wszolek, Z. K., & Gasser, T. (2005). Type and frequency of mutations in the LRRK2 gene in familial and sporadic Parkinson's disease*. *Brain*, *128*(12), 3000-3011. <https://doi.org/10.1093/brain/awh666>
- Berger, Z., Smith, K. A., & Lavoie, M. J. (2010). Membrane localization of LRRK2 is associated with increased formation of the highly active LRRK2 dimer and changes in its phosphorylation. *Biochemistry*, *49*(26), 5511-5523. <https://doi.org/10.1021/bi100157u>
- Bertini, I., Gupta, Y. K., Luchinat, C., Parigi, G., Peana, M., Sgheri, L., & Yuan, J. (2007). Paramagnetism-Based NMR Restraints Provide Maximum Allowed Probabilities for the Different Conformations of Partially Independent Protein Domains. *Journal of the American Chemical Society*, *129*(42), 12786-12794. <https://doi.org/10.1021/ja0726613>
- Berwick, D. C., Heaton, G. R., Azeggagh, S., & Harvey, K. (2019). LRRK2 Biology from structure to dysfunction: Research progresses, but the themes remain the same. *Molecular Neurodegeneration*, *14*(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0344-2>
- Betarbet, R., Sherer, T. B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A. V., & Greenamyre, J. T. (2000). Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, *3*(12), 1301-1306. <https://doi.org/10.1038/81834>
- Bezard, E., Gross, C. E., Fournier, M. C., Dovero, S., Bloch, B., & Jaber, M. (1999). Absence of MPTP-induced neuronal death in mice lacking the dopamine transporter. *Experimental Neurology*, *155*(2), 268-273. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6995>
- Bian, M., Liu, J., Hong, X., Yu, M., Huang, Y., Sheng, Z., Fei, J., & Huang, F. (2012). Overexpression of Parkin Ameliorates Dopaminergic Neurodegeneration Induced by 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine in Mice. *PLOS ONE*, *7*(6), e39953. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039953>
- Bieri, G., Brahic, M., Bousset, L., Couthouis, J., Kramer, N. J., Ma, R., Nakayama, L., Monbureau, M., Defensor, E., Schüle, B., Shamloo, M., Melki, R., & Gitler, A. D. (2019). LRRK2 modifies α -syn pathology and spread in mouse models and human neurons. *Acta Neuropathologica*, *137*(6), 961-980. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01995-0>
- Bingol, B., & Sheng, M. (2011). Deconstruction for Reconstruction: The Role of Proteolysis in Neural Plasticity and Disease. *Neuron*, *69*(1), 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.006>
- Binolfi, A., Rasia, R. M., Bertocini, C. W., Ceolin, M., Zweckstetter, M., Griesinger, C., Jovin, T. M., & Fernández, C. O. (2006). Interaction of α -Synuclein with Divalent Metal Ions Reveals Key Differences: A Link between Structure, Binding Specificity and Fibrillation Enhancement. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(30), 9893-9901. <https://doi.org/10.1021/ja0618649>

BIBLIOGRAPHIE

- Biogen. (2021). *A Phase 1 Single- and Multiple-Ascending-Dose Study to Assess the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of BIIB094 Administered Intrathecally to Adults With Parkinson's Disease* (Clinical trial registration N° NCT03976349). clinicaltrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03976349>
- Biosa, A., Trancikova, A., Civiero, L., Glauser, L., Bubacco, L., Greggio, E., & Moore, D. J. (2013). GTPase activity regulates kinase activity and cellular phenotypes of Parkinson's disease-associated LRRK2. *Human Molecular Genetics*, *22*(6), 1140-1156. <https://doi.org/10.1093/hmg/dd522>
- Bisbal, M., & Sanchez, M. (2019). Neurotoxicity of the pesticide rotenone on neuronal polarization: A mechanistic approach. *Neural Regeneration Research*, *14*(5), 762-766. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.249847>
- Biskup, S., Moore, D. J., Celsi, F., Higashi, S., West, A. B., Andrabi, S. A., Kurkinen, K., Yu, S.-W., Savitt, J. M., Waldvogel, H. J., Faull, R. L. M., Emson, P. C., Torp, R., Ottersen, O. P., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2006). Localization of LRRK2 to membranous and vesicular structures in mammalian brain. *Annals of Neurology*, *60*(5), 557-569. <https://doi.org/10.1002/ana.21019>
- Björklund, A., Björklund, T., & Kirik, D. (2009). Gene therapy for dopamine replacement in Parkinson's disease. *Science Translational Medicine*, *1*(2), 2ps2. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000350>
- Bjørkøy, G., Lamark, T., Brech, A., Outzen, H., Perander, M., Øvervatn, A., Stenmark, H., & Johansen, T. (2005). P62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *The Journal of Cell Biology*, *171*(4), 603-614. <https://doi.org/10.1083/jcb.200507002>
- Blanca Ramírez, M., Ordóñez, A. J. L., Fdez, E., Madero-Pérez, J., Gonnelli, A., Drouyer, M., Chartier-Harlin, M.-C., Taymans, J.-M., Bubacco, L., Greggio, E., & Hilfiker, S. (2017). GTP binding regulates cellular localization of Parkinson's disease-associated LRRK2. *Human Molecular Genetics*, *26*(14), 2747-2767. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx161>
- Blauwendraat, C., Nalls, M. A., & Singleton, A. B. (2020). The genetic architecture of Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*, *19*(2), 170-178. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30287-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30287-X)
- Bloem, B. R., Okun, M. S., & Klein, C. (2021). Parkinson's disease. *The Lancet*, *0*(0). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)
- Boecker, C. A., Goldsmith, J., Dou, D., Cajka, G. G., & Holzbaur, E. L. F. (2021). Increased LRRK2 kinase activity alters neuronal autophagy by disrupting the axonal transport of autophagosomes. *Current Biology: CB*. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.02.061>
- Bolam, & Pissadaki. (2012). *Living on the edge with too many mouths to feed: Why dopamine neurons die*. <https://www.ncbi-nlm-nih-gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC3504389/>
- Boland, B., & Nixon, R. A. (2006). Neuronal macroautophagy: From development to degeneration. *Molecular Aspects of Medicine*, *27*(5-6), 503-519. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2006.08.009>
- Bonello, F., Hassoun, S.-M., Mouton-Liger, F., Shin, Y. S., Muscat, A., Tesson, C., Lesage, S., Beart, P. M., Brice, A., Krupp, J., Corvol, J.-C., & Corti, O. (2019). LRRK2 impairs PINK1/Parkin-dependent mitophagy via its kinase activity: Pathologic insights into Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, *28*(10), 1645-1660. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz004>
- Bonifati, V., Rizzu, P., Squitieri, F., Krieger, E., Vanacore, N., van Swieten, J. C., Brice, A., van Duijn, C. M., Oostra, B., Meco, G., & Heutink, P. (2003). DJ-1(PARK7), a novel gene for autosomalrecessive, early onset parkinsonism. *Neurological Sciences*, *24*(3), 159-160. <https://doi.org/10.1007/s10072-003-0108-0>
- Booth, H. D. E., Hirst, W. D., & Wade-Martins, R. (2017). The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends in Neurosciences*, *40*(6), 358-370. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.001>
- Borghetti, R., Marchese, R., Negro, A., Marinelli, L., Forloni, G., Zaccaro, D., Abbruzzese, G., & Tabaton, M. (2000). Full length α -synuclein is present in cerebrospinal fluid from Parkinson's disease and normal subjects. *Neuroscience Letters*, *287*(1), 65-67. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01153-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01153-8)
- Bosgraaf, L., & Van Haastert, P. J. M. (2003). Roc, a Ras/GTPase domain in complex proteins. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1643*(1-3), 5-10. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.08.008>
- Bouman, L., Schlierf, A., Lutz, A. K., Shan, J., Deinlein, A., Kast, J., Galehdar, Z., Palmisano, V., Patenge, N., Berg, D., Gasser, T., Augustin, R., Trümbach, D., Irrcher, I., Park, D. S., Wurst, W., Kilberg, M. S., Tatzelt, J., & Winklhofer, K. F. (2011). Parkin is transcriptionally regulated by ATF4: Evidence for an interconnection between mitochondrial stress and ER stress. *Cell Death and Differentiation*, *18*(5), 769-782. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.142>
- Bousset, L., Pieri, L., Ruiz-Arlandis, G., Gath, J., Jensen, P. H., Habenstein, B., Madiona, K., Olieric, V., Böckmann, A., Meier, B. H., & Melki, R. (2013). Structural and functional characterization of two alpha-synuclein strains. *Nature Communications*, *4*(1), 2575. <https://doi.org/10.1038/ncomms3575>
- Boya, P., González-Polo, R.-A., Casares, N., Perfettini, J.-L., Dessen, P., Larochette, N., Métivier, D., Meley, D., Souquere, S., Yoshimori, T., Pierron, G., Codogno, P., & Kroemer, G. (2005). Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, *25*(3), 1025-1040. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.3.1025-1040.2005>
- Braak, H., Ghebremedhin, E., Rüb, U., Bratzke, H., & Del Tredici, K. (2004). Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and Tissue Research*, *318*(1), 121-134. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0956-9>
- Braak, H., Sastre, M., & Del Tredici, K. (2007). Development of alpha-synuclein immunoreactive astrocytes in the forebrain parallels stages of intraneuronal pathology in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica*, *114*(3), 231-241. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0244-3>
- Braak, H., Tredici, K. D., Rüb, U., de Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, *24*(2), 197-211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)
- Bras, J. M., Guerreiro, R. J., Ribeiro, M. H., Januario, C., Morgado, A., Oliveira, C. R., Cunha, L., Hardy, J., & Singleton, A. (2005). G2019S dardarin substitution is a common cause of Parkinson's disease in a Portuguese cohort. *Movement Disorders*, *20*(12), 1653-1655. <https://doi.org/10.1002/mds.20682>

- Bravo-San Pedro, J. M., Niso-Santano, M., Gómez-Sánchez, R., Pizarro-Estrella, E., Aiastui-Pujana, A., Gorostidi, A., Climent, V., López de Maturana, R., Sanchez-Pernaute, R., López de Munain, A., Fuentes, J. M., & González-Polo, R. A. (2013). The LRRK2 G2019S mutant exacerbates basal autophagy through activation of the MEK/ERK pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *70*(1), 121-136. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1061-y>
- Brooks, D. J. (2010). Imaging dopamine transporters in Parkinson's disease. *Biomarkers in Medicine*, *4*(5), 651-660. <https://doi.org/10.2217/bmm.10.86>
- Brucale, M., Sandal, M., Di Maio, S., Rampioni, A., Tessari, I., Tosatto, L., Bisaglia, M., Bubacco, L., & Samorì, B. (2009). Pathogenic Mutations Shift the Equilibria of α -Synuclein Single Molecules towards Structured Conformers. *ChemBioChem*, *10*(1), 176-183. <https://doi.org/10.1002/cbic.200800581>
- Brundin, P., Dave, K. D., & Kordower, J. H. (2017). Therapeutic approaches to target alpha-synuclein pathology. *Experimental Neurology*, *298*, 225-235. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.003>
- Brys, M., Fanning, L., Hung, S., Ellenbogen, A., Penner, N., Yang, M., Welch, M., Koenig, E., David, E., Fox, T., Makh, S., Aldred, J., Goodman, I., Pepinsky, B., Liu, Y., Graham, D., Weihofen, A., & Cedarbaum, J. M. (2019). Randomized phase I clinical trial of anti- α -synuclein antibody BLIB054. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *34*(8), 1154-1163. <https://doi.org/10.1002/mds.27738>
- Bucci, C., Thomsen, P., Nicoziani, P., McCarthy, J., & van Deurs, B. (2000). Rab7: A key to lysosome biogenesis. *Molecular Biology of the Cell*, *11*(2), 467-480. <https://doi.org/10.1091/mbc.11.2.467>
- Buck, K., Landeck, N., Ulusoy, A., Majbour, N. K., El-Agnaf, O. M. A., & Kirik, D. (2015). Ser129 phosphorylation of endogenous α -synuclein induced by overexpression of polo-like kinases 2 and 3 in nigral dopamine neurons is not detrimental to their survival and function. *Neurobiology of Disease*, *78*, 100-114. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.008>
- Büeler, H. (2009). Impaired mitochondrial dynamics and function in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, *218*(2), 235-246. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.03.006>
- Buhat, D. M. L., & Tan, E.-K. (2014). Genetic testing of LRRK2 in Parkinson's disease: Is there a clinical role? *Parkinsonism & Related Disorders*, *20*, S54-S56. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(13\)70015-4](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(13)70015-4)
- Bujak, A. L., Crane, J. D., Lally, J. S., Ford, R. J., Kang, S. J., Rebalka, I. A., Green, A. E., Kemp, B. E., Hawke, T. J., Schertzner, J. D., & Steinberg, G. R. (2015). AMPK activation of muscle autophagy prevents fasting-induced hypoglycemia and myopathy during aging. *Cell Metabolism*, *21*(6), 883-890. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.016>
- Bunge, M. B. (1973). FINE STRUCTURE OF NERVE FIBERS AND GROWTH CONES OF ISOLATED SYMPATHETIC NEURONS IN CULTURE. *Journal of Cell Biology*, *56*(3), 713-735. <https://doi.org/10.1083/jcb.56.3.713>
- Burré, J. (2015). The Synaptic Function of α -Synuclein. *Journal of Parkinson's Disease*, *5*(4), 699-713. <https://doi.org/10.3233/JPD-150642>
- Burré, J., Sharma, M., & Südhof, T. C. (2012). Systematic Mutagenesis of α -Synuclein Reveals Distinct Sequence Requirements for Physiological and Pathological Activities. *Journal of Neuroscience*, *32*(43), 15227-15242. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3545-12.2012>
- Burré, J., Sharma, M., & Südhof, T. C. (2014). α -Synuclein assembles into higher-order multimers upon membrane binding to promote SNARE complex formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(40), E4274-E4283. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416598111>
- Burré, J., Sharma, M., & Südhof, T. C. (2015). Definition of a Molecular Pathway Mediating α -Synuclein Neurotoxicity. *Journal of Neuroscience*, *35*(13), 5221-5232. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4650-14.2015>
- Burré, J., Sharma, M., & Südhof, T. C. (2018). Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *8*(3). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024091>
- Burré, J., Sharma, M., Tsetsenis, T., Buchman, V., Etherton, M. R., & Südhof, T. C. (2010). α -Synuclein Promotes SNARE-Complex Assembly in Vivo and in Vitro. *Science*, *329*(5999), 1663-1667. <https://doi.org/10.1126/science.1195227>
- Burré, J., Vivona, S., Diao, J., Sharma, M., Brunger, A. T., & Südhof, T. C. (2013). Properties of native brain α -synuclein. *Nature*, *498*(7453), E4-E6. <https://doi.org/10.1038/nature12125>
- Button, R. W., Roberts, S. L., Willis, T. L., Hanemann, C. O., & Luo, S. (2017). Accumulation of autophagosomes confers cytotoxicity. *Journal of Biological Chemistry*, *292*(33), 13599-13614. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.782276>
- Cabezas, R., Avila, M. F., Torrente, D., SantosEl-Bachá, R., Morales, L., Gonzalez, J., & Barreto, G. E. (2013). Astrocytes Role in Parkinson: A Double-Edged Sword. In *Neurodegenerative Diseases*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/54305>
- Cabin, D. E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N. B., Gottschalk, W., Mcllwain, K. L., Orrison, B., Chen, A., Ellis, C. E., Paylor, R., Lu, B., & Nussbaum, R. L. (2002). Synaptic Vesicle Depletion Correlates with Attenuated Synaptic Responses to Prolonged Repetitive Stimulation in Mice Lacking α -Synuclein. *Journal of Neuroscience*, *22*(20), 8797-8807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-20-08797.2002>
- Calì, T., Ottolini, D., Negro, A., & Brini, M. (2012). α -Synuclein Controls Mitochondrial Calcium Homeostasis by Enhancing Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Interactions*. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(22), 17914-17929. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.302794>
- Campbell, B. C. V., McLean, C. A., Culvenor, J. G., Gai, W. P., Blumbergs, P. C., Jäkälä, P., Beyreuther, K., Masters, C. L., & Li, Q.-X. (2001). The solubility of α -synuclein in multiple system atrophy differs from that of dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, *76*(1), 87-96. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00021.x>
- Can, A., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., Bhat, S., & Gould, T. D. (2012). The tail suspension test. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *59*, e3769. <https://doi.org/10.3791/3769>

BIBLIOGRAPHIE

- Cao, Y.-L., Yang, Y.-P., Mao, C.-J., Zhang, X.-Q., Wang, C.-T., Yang, J., Lv, D.-J., Wang, F., Hu, L.-F., & Liu, C.-F. (2017). A role of BAG3 in regulating SNCA/α-synuclein clearance via selective macroautophagy. *Neurobiology of Aging*, *60*, 104-115. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.08.023>
- Carlsson, A., & Waldeck, B. (1958). A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine). *Acta Physiologica Scandinavica*, *44*(3-4), 293-298. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1958.tb01628.x>
- Casarejos, M. J., Menéndez, J., Solano, R. M., Rodríguez-Navarro, J. A., Yébenes, J. G. de, & Mena, M. A. (2006). Susceptibility to rotenone is increased in neurons from parkin null mice and is reduced by minocycline. *Journal of Neurochemistry*, *97*(4), 934-946. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03777.x>
- Castellano, B. M., Thelen, A. M., Moldavski, O., Feltes, M., Welle, R. E. N. van der, Mydock-McGrane, L., Jiang, X., Eijkeren, R. J. van, Davis, O. B., Louie, S. M., Perera, R. M., Covey, D. F., Nomura, D. K., Ory, D. S., & Zoncu, R. (2017). Lysosomal cholesterol activates mTORC1 via an SLC38A9–Niemann-Pick C1 signaling complex. *Science*, *355*(6331), 1306-1311. <https://doi.org/10.1126/science.aag1417>
- Castillo, K., Valenzuela, V., Matus, S., Nassif, M., Oñate, M., Fuentealba, Y., Encina, G., Irrazabal, T., Parsons, G., Court, F. A., Schneider, B. L., Armentano, D., & Hetz, C. (2013). Measurement of autophagy flux in the nervous system in vivo. *Cell Death & Disease*, *4*(11), e917. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.421>
- Cebollero, E., Vaart, A. van der, & Reggiori, F. (2012). Understanding phosphatidylinositol-3-phosphate dynamics during autophagosome biogenesis. *Autophagy*, *8*(12), 1868-1870. <https://doi.org/10.4161/auto.22162>
- Chandra, S., Chen, X., Rizo, J., Jahn, R., & Südhof, T. C. (2003). A Broken α-Helix in Folded α-Synuclein*. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(17), 15313-15318. <https://doi.org/10.1074/jbc.M213128200>
- Chang, D., Nalls, M. A., Hallgrímsson, I. B., Hunkapiller, J., van der Brug, M., Cai, F., International Parkinson's Disease Genomics Consortium, 23andMe Research Team, Kerchner, G. A., Ayalon, G., Bingol, B., Sheng, M., Hinds, D., Behrens, T. W., Singleton, A. B., Bhangale, T. R., & Graham, R. R. (2017). A meta-analysis of genome-wide association studies identifies 17 new Parkinson's disease risk loci. *Nature Genetics*, *49*(10), 1511-1516. <https://doi.org/10.1038/ng.3955>
- Chang, D. T. W., & Reynolds, I. J. (2006). Mitochondrial trafficking and morphology in healthy and injured neurons. *Progress in Neurobiology*, *80*(5), 241-268. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2006.09.003>
- Charcot, J.-M. (1825-1893) A. du texte. (1875). *Leçons sur les maladies du système nerveux: Faites à la Salpêtrière. Tome 2 / par J.-M. Charcot, ...; recueillies et publ. par Bourneville, ...* <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k98763k>
- Chau, K.-Y., Ching, H. L., Schapira, A. H. V., & Cooper, J. M. (2009). Relationship between alpha synuclein phosphorylation, proteasomal inhibition and cell death: Relevance to Parkinson's disease pathogenesis. *Journal of Neurochemistry*, *110*(3), 1005-1013. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06191.x>
- Chaudhuri, K. R., & Schapira, A. H. (2009). Non-motor symptoms of Parkinson's disease: Dopaminergic pathophysiology and treatment. *The Lancet Neurology*, *8*(5), 464-474. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70068-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70068-7)
- Chen, H., & Ritz, B. (2018). The Search for Environmental Causes of Parkinson's Disease: Moving Forward. *Journal of Parkinson's Disease*, *8*(s1), S9-S17. <https://doi.org/10.3233/JPD-181493>
- Chen, L., Cagniard, B., Mathews, T., Jones, S., Koh, H. C., Ding, Y., Carvey, P. M., Ling, Z., Kang, U. J., & Zhuang, X. (2005). Age-dependent motor deficits and dopaminergic dysfunction in DJ-1 null mice. *The Journal of Biological Chemistry*, *280*(22), 21418-21426. <https://doi.org/10.1074/jbc.M41395200>
- Chen, L., & Feany, M. B. (2005). α-Synuclein phosphorylation controls neurotoxicity and inclusion formation in a Drosophila model of Parkinson disease. *Nature Neuroscience*, *8*(5), 657-663. <https://doi.org/10.1038/nn1443>
- Chen, L., Wei, Y., Wang, X., & He, R. (2010). Ribosylation Rapidly Induces α-Synuclein to Form Highly Cytotoxic Molten Globules of Advanced Glycation End Products. *PLOS ONE*, *5*(2), e9052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009052>
- Chen, M.-L., & Wu, R.-M. (2018). LRRK 2 gene mutations in the pathophysiology of the ROCO domain and therapeutic targets for Parkinson's disease: A review. *Journal of Biomedical Science*, *25*(1), 52. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0454-0>
- Chen, R. H. C., Wislet-Gendebien, S., Samuel, F., Visanji, N. P., Zhang, G., Marsilio, D., Langman, T., Fraser, P. E., & Tandon, A. (2013). α-Synuclein Membrane Association Is Regulated by the Rab3a Recycling Machinery and Presynaptic Activity*, ♦. *Journal of Biological Chemistry*, *288*(11), 7438-7449. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.439497>
- Chen, S. W., Drakulic, S., Deas, E., Ouberai, M., Aprile, F. A., Arranz, R., Ness, S., Roodveldt, C., Guillems, T., De-Genst, E. J., Klenerman, D., Wood, N. W., Knowles, T. P. J., Alfonso, C., Rivas, G., Abramov, A. Y., Valpuesta, J. M., Dobson, C. M., & Cremades, N. (2015). Structural characterization of toxic oligomers that are kinetically trapped during α-synuclein fibril formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(16), E1994-2003. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421204112>
- Cheng, C., Fass, D. M., & Reynolds, I. J. (1999). Emergence of excitotoxicity in cultured forebrain neurons coincides with larger glutamate-stimulated [Ca²⁺]_i increases and NMDA receptor mRNA levels. *Brain Research*, *849*(1), 97-108. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01995-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01995-2)
- Cheng, X.-T., Xie, Y.-X., Zhou, B., Huang, N., Farfel-Becker, T., & Sheng, Z.-H. (2018). Revisiting LAMP1 as a marker for degradative autophagy-lysosomal organelles in the nervous system. *Autophagy*, *14*(8), 1472-1474. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1482147>
- Cheng, X.-T., Zhou, B., Lin, M.-Y., Cai, Q., & Sheng, Z.-H. (2015). Axonal autophagosomes recruit dynein for retrograde transport through fusion with late endosomes. *Journal of Cell Biology*, *209*(3), 377-386. <https://doi.org/10.1083/jcb.201412046>
- Chia, R., Haddock, S., Beilina, A., Rudenko, I. N., Mamais, A., Kaganovich, A., Li, Y., Kumaran, R., Nalls, M. A., & Cookson, M. R. (2014). Phosphorylation of LRRK2 by casein kinase 1α regulates trans-Golgi clustering via differential interaction with ARHGAP7. *Nature Communications*, *5*, 5827. <https://doi.org/10.1038/ncomms6827>

- Chia, S. J., Tan, E.-K., & Chao, Y.-X. (2020). Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7). <https://doi.org/10.3390/ijms21072464>
- Chiang, H. L., & Dice, J. F. (1988). Peptide sequences that target proteins for enhanced degradation during serum withdrawal. *Journal of Biological Chemistry*, 263(14), 6797-6805. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)68713-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)68713-7)
- Chinta, S. J., & Andersen, J. K. (2005). Dopaminergic neurons. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(5), 942-946. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.09.009>
- Choi, A. M. K., Ryter, S. W., & Levine, B. (2013). Autophagy in Human Health and Disease. *New England Journal of Medicine*, 368(7), 651-662. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1205406>
- Choi, Choi, & Kim. (2014). Large α -synuclein oligomers inhibit neuronal SNARE-mediated vesicle docking—PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/proxy.insermbiblio.inist.fr/23431141/>
- Choi, H., Merceron, C., Mangiavini, L., Seifert, E. L., Schipani, E., Shapiro, I. M., & Risbud, M. V. (2016). Hypoxia promotes noncanonical autophagy in nucleus pulposus cells independent of MTOR and HIF1A signaling. *Autophagy*, 12(9), 1631-1646. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1192753>
- Chougar, L., Pyatigorskaya, N., Degos, B., Grabli, D., & Lehericy, S. (2020). The Role of Magnetic Resonance Imaging for the Diagnosis of Atypical Parkinsonism. *Frontiers in Neurology*, 11, 665. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00665>
- Chu, C. T. (2006). Autophagic stress in neuronal injury and disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 65(5), 423-432. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000229233.75253.be>
- Chu, Y., Buchman, A. S., Olanow, C. W., & Kordower, J. H. (2018). Do subjects with minimal motor features have prodromal Parkinson disease? *Annals of Neurology*, 83(3), 562-574. <https://doi.org/10.1002/ana.25179>
- Chu, Y., Dodiya, H., Aebischer, P., Olanow, C. W., & Kordower, J. H. (2009). Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: Relationship to alpha-synuclein inclusions. *Neurobiology of Disease*, 35(3), 385-398. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.05.023>
- Chu, Y., & Kordower, J. H. (2007). Age-associated increases of α -synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease? *Neurobiology of Disease*, 25(1), 134-149. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.08.021>
- Chung, Y., Lee, J., Jung, S., Lee, Y., Cho, J. W., & Oh, Y. J. (2018). Dysregulated autophagy contributes to caspase-dependent neuronal apoptosis. *Cell Death & Disease*, 9(12). <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1229-y>
- Civiero, L., Vancraenenbroeck, R., Belluzzi, E., Beilina, A., Lobbestael, E., Reyniers, L., Gao, F., Micetic, I., De Maeyer, M., Bubacco, L., Baekelandt, V., Cookson, M. R., Greggio, E., & Taymans, J.-M. (2012). Biochemical characterization of highly purified leucine-rich repeat kinases 1 and 2 demonstrates formation of homodimers. *PLoS One*, 7(8), e43472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043472>
- Clark, D. G., McElligott, T. F., & Hurst, E. W. (1966). The toxicity of paraquat. *British Journal of Industrial Medicine*, 23(2), 126-132. <https://doi.org/10.1136/oem.23.2.126>
- Clayton, D. F., & George, J. M. (1998). The synucleins: A family of proteins involved in synaptic function, plasticity, neurodegeneration and disease. *Trends in Neurosciences*, 21(6), 249-254. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(97\)01213-7](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(97)01213-7)
- Cole, N. B., DiEuliis, D., Leo, P., Mitchell, D. C., & Nussbaum, R. L. (2008). Mitochondrial translocation of α -synuclein is promoted by intracellular acidification. *Experimental Cell Research*, 314(10), 2076-2089. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.03.012>
- Colla, E., Coune, P., Liu, Y., Pletnikova, O., Troncoso, J. C., Iwatsubo, T., Schneider, B. L., & Lee, M. K. (2012). Endoplasmic Reticulum Stress Is Important for the Manifestations of α -Synucleinopathy In Vivo. *Journal of Neuroscience*, 32(10), 3306-3320. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5367-11.2012>
- Conway, K. A., Harper, J. D., & Lansbury, P. T. (1998). Accelerated in vitro fibril formation by a mutant α -synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nature Medicine*, 4(11), 1318-1320. <https://doi.org/10.1038/3311>
- Cooper, A. A., Gitler, A. D., Cashikar, A., Haynes, C. M., Hill, K. J., Bhullar, B., Liu, K., Xu, K., Strathearn, K. E., Liu, F., Cao, S., Caldwell, K. A., Caldwell, G. A., Marsischky, G., Kolodner, R. D., LaBaer, J., Rochet, J.-C., Bonini, N. M., & Lindquist, S. (2006). α -Synuclein Blocks ER-Golgi Traffic and Rab1 Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. *Science*, 313(5785), 324-328. <https://doi.org/10.1126/science.1129462>
- Cooper, J. F., & Van Raamsdonk, J. M. (2018). Modeling Parkinson's Disease in *C. elegans*. *Journal of Parkinson's Disease*, 8(1), 17-32. <https://doi.org/10.3233/JPD-171258>
- Corti, O., Lesage, S., & Brice, A. (2011). What Genetics Tells us About the Causes and Mechanisms of Parkinson's Disease. *Physiological Reviews*, 91(4), 1161-1218. <https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2010>
- Cremades, N., Chen, S. W., & Dobson, C. M. (2017). Structural Characteristics of α -Synuclein Oligomers. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 329, 79-143. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.08.010>
- Cresto, N., Gaillard, M.-C., Gardier, C., Gubinelli, F., Diguët, E., Bellet, D., Legroux, L., Mitja, J., Auregan, G., Guillermier, M., Josephine, C., Jan, C., Dufour, N., Joliot, A., Hantraye, P., Bonvento, G., Déglon, N., Bemelmans, A.-P., Cambon, K., ... Brouillet, E. (2020). The C-terminal domain of LRRK2 with the G2019S mutation is sufficient to produce neurodegeneration of dopaminergic neurons in vivo. *Neurobiology of Disease*, 134, 104614. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104614>
- Cresto, N., Gardier, C., Gaillard, M.-C., Gubinelli, F., Roost, P., Molina, D., Josephine, C., Dufour, N., Auregan, G., Guillermier, M., Bernier, S., Jan, C., Gipchtein, P., Hantraye, P., Chartier-Harlin, M.-C., Bonvento, G., Van Camp, N., Taymans, J.-M., Cambon, K., ... Brouillet, E. (2021). The C-Terminal Domain of LRRK2 with the G2019S Substitution Increases Mutant A53T α -Synuclein Toxicity in Dopaminergic Neurons In Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6760. <https://doi.org/10.3390/ijms22136760>
- Cresto, N., Gardier, C., Gubinelli, F., Gaillard, M.-C., Liot, G., West, A. B., & Brouillet, E. (2019). The Unlikely Partnership Between LRRK2 and α -Synuclein in Parkinson's Disease. *The European journal of neuroscience*, 49(3), 339-363. <https://doi.org/10.1111/ejn.14182>

BIBLIOGRAPHIE

- Crowther, R. A., Jakes, R., Spillantini, M. G., & Goedert, M. (1998). Synthetic filaments assembled from C-terminally truncated α -synuclein. *FEBS Letters*, *436*(3), 309-312. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01146-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01146-6)
- Cuervo. (2004). *Impaired Degradation of Mutant α -Synuclein by Chaperone-Mediated Autophagy* | *Science*. <https://science.sciencemag.org.proxy.insermbiblio.inist.fr/content/305/5688/1292>
- Cuervo, A. M., & Dice, J. F. (1996). A receptor for the selective uptake and degradation of proteins by lysosomes. *Science (New York, N.Y.)*, *273*(5274), 501-503. <https://doi.org/10.1126/science.273.5274.501>
- Cuervo, A. M., & Dice, J. F. (2000). Age-related Decline in Chaperone-mediated Autophagy*. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(40), 31505-31513. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002102200>
- Dagda, R. K., Pien, I., Wang, R., Zhu, J., Wang, K. Z. Q., Callio, J., Banerjee, T. D., Dagda, R. Y., & Chu, C. T. (2014). Beyond the mitochondrion: Cytosolic PINK1 remodels dendrites through Protein Kinase A. *Journal of Neurochemistry*, *128*(6), 864-877. <https://doi.org/10.1111/jnc.12494>
- Daher, J. P. L., Abdelmotilib, H. A., Hu, X., Volpicelli-Daley, L. A., Moehle, M. S., Fraser, K. B., Needle, E., Chen, Y., Steyn, S. J., Galatsis, P., Hirst, W. D., & West, A. B. (2015). Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Pharmacological Inhibition Abates α -Synuclein Gene-induced Neurodegeneration. *The Journal of Biological Chemistry*, *290*(32), 19433-19444. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.660001>
- Daher, J. P. L., Pletnikova, O., Biskup, S., Musso, A., Gellhaar, S., Galter, D., Troncoso, J. C., Lee, M. K., Dawson, T. M., Dawson, V. L., & Moore, D. J. (2012). Neurodegenerative phenotypes in an A53T α -synuclein transgenic mouse model are independent of LRRK2. *Human Molecular Genetics*, *21*(11), 2420-2431. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds057>
- Daher, J. P. L., Volpicelli-Daley, L. A., Blackburn, J. P., Moehle, M. S., & West, A. B. (2014). Abrogation of α -synuclein-mediated dopaminergic neurodegeneration in LRRK2-deficient rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(25), 9289-9294. <https://doi.org/10.1073/pnas.1403215111>
- Danielson, S. R., Held, J. M., Schilling, B., Oo, M., Gibson, B. W., & Andersen, J. K. (2009). Preferentially increased nitration of alpha-synuclein at tyrosine-39 in a cellular oxidative model of Parkinson's disease. *Analytical Chemistry*, *81*(18), 7823-7828. <https://doi.org/10.1021/ac901176t>
- Danzer, K. M., Kranich, L. R., Ruf, W. P., Cagsal-Getkin, O., Winslow, A. R., Zhu, L., Vanderburg, C. R., & McLean, P. J. (2012). Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Molecular Neurodegeneration*, *7*(1), 42. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-42>
- Dauer, W. (2003). *Parkinson's disease: Mechanisms and models*. - PubMed—NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12971891>
- Dauer, W., & Ho, C. C.-Y. (2010). The biology and pathology of the familial Parkinson's disease protein LRRK2. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *25* Suppl 1, S40-43. <https://doi.org/10.1002/mds.22717>
- Dauer, W., Kholodilov, N., Vila, M., Trillat, A.-C., Goodchild, R., Larsen, K. E., Staal, R., Tieu, K., Schmitz, Y., Yuan, C. A., Rocha, M., Jackson-Lewis, V., Hersch, S., Sulzer, D., Przedborski, S., Burke, R., & Hen, R. (2002). Resistance of α -synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(22), 14524-14529. <https://doi.org/10.1073/pnas.172514599>
- Davidson, W. S., Jonas, A., Clayton, D. F., & George, J. M. (1998). Stabilization of α -Synuclein Secondary Structure upon Binding to Synthetic Membranes*. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(16), 9443-9449. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.16.9443>
- Davies, P., Hinkle, K. M., Sukar, N. N., Sepulveda, B., Mesias, R., Serrano, G., Alessi, D. R., Beach, T. G., Benson, D. L., White, C. L., III, Cowell, R. M., Das, S. S., West, A. B., & Melrose, H. L. (2013). Comprehensive characterization and optimization of anti-LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2) monoclonal antibodies. *Biochemical Journal*, *453*(1), 101-113. <https://doi.org/10.1042/BJ20121742>
- Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2010). The role of parkin in familial and sporadic Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *25* Suppl 1, S32-39. <https://doi.org/10.1002/mds.22798>
- De Duve, C., Pressman, B. C., Gianetto, R., Wattiaux, R., & Appelmans, F. (1955). Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *The Biochemical Journal*, *60*(4), 604-617. <https://doi.org/10.1042/bj0600604>
- De Miranda, B. R., Castro, S. L., Rocha, E. M., Bodle, C. R., Johnson, K. E., & Greenamyre, J. T. (2021). The industrial solvent trichloroethylene induces LRRK2 kinase activity and dopaminergic neurodegeneration in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, *153*, 105312. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105312>
- De Wit, T., Baekelandt, V., & Lobbstaël, E. (2018). LRRK2 Phosphorylation: Behind the Scenes. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *24*(5), 486-500. <https://doi.org/10.1177/1073858418756309>
- Decressac, M., Mattsson, B., Weikop, P., Lundblad, M., Jakobsson, J., & Björklund, A. (2013). TFEB-mediated autophagy rescues midbrain dopamine neurons from α -synuclein toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(19), E1817-E1826. <https://doi.org/10.1073/pnas.1305623110>
- Dehay, B., Bové, J., Rodríguez-Muela, N., Perier, C., Recasens, A., Boya, P., & Vila, M. (2010). Pathogenic Lysosomal Depletion in Parkinson's Disease. *The Journal of Neuroscience*, *30*(37), 12535-12544. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1920-10.2010>
- Del Tredici, K., Hawkes, C. H., Ghebremedhin, E., & Braak, H. (2010). Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica*, *119*(6), 703-713. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0665-2>
- Deng, H., Wang, P., & Jankovic, J. (2018). The genetics of Parkinson disease. *Ageing Research Reviews*, *42*, 72-85. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.12.007>
- Deng, X., Dzamko, N., Prescott, A., Davies, P., Liu, Q., Yang, Q., Lee, J.-D., Patricelli, M. P., Nomanbhoy, T. K., Alessi, D. R., & Gray, N. S. (2011). Characterization of a selective inhibitor of the Parkinson's disease kinase LRRK2. *Nature Chemical Biology*, *7*(4), 203-205. <https://doi.org/10.1038/nchembio.538>

- Deniston, C. K., Salogiannis, J., Mathea, S., Snead, D. M., Lahiri, I., Matyszewski, M., Donosa, O., Watanabe, R., Böhning, J., Shiao, A. K., Knapp, S., Villa, E., Reck-Peterson, S. L., & Leschziner, A. E. (2020). Structure of LRRK2 in Parkinson's disease and model for microtubule interaction. *Nature*, *588*(7837), 344-349. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2673-2>
- Deshpande, P., Flinkman, D., Hong, Y., Goltseva, E., Siino, V., Sun, L., Peltonen, S., Elo, L. L., Kaasinen, V., James, P., & Coffey, E. T. (2020). Protein synthesis is suppressed in sporadic and familial Parkinson's disease by LRRK2. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *34*(11), 14217-14233. <https://doi.org/10.1096/fj.202001046R>
- Desplats, P., Lee, H.-J., Bae, E.-J., Patrick, C., Rockenstein, E., Crews, L., Spencer, B., Masliah, E., & Lee, S.-J. (2009). Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of α -synuclein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(31), 13010-13015. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903691106>
- Devi, L., Raghavendran, V., Prabhu, B. M., Avadhani, N. G., & Anandatheerthavarada, H. K. (2008). Mitochondrial Import and Accumulation of α -Synuclein Impair Complex I in Human Dopaminergic Neuronal Cultures and Parkinson Disease Brain*. *Journal of Biological Chemistry*, *283*(14), 9089-9100. <https://doi.org/10.1074/jbc.M710012200>
- Devine, M. J., Gwinn, K., Singleton, A., & Hardy, J. (2011). Parkinson's Disease and α -synuclein Expression. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, *26*(12), 2160-2168. <https://doi.org/10.1002/mds.23948>
- Devine, M. J., Ryten, M., Vodicka, P., Thomson, A. J., Burdon, T., Houlden, H., Cavaleri, F., Nagano, M., Drummond, N. J., Taanman, J.-W., Schapira, A. H., Gwinn, K., Hardy, J., Lewis, P. A., & Kunath, T. (2011). Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the α -synuclein locus. *Nature Communications*, *2*, 440. <https://doi.org/10.1038/ncomms1453>
- Deyaert, E., Wauters, L., Guaitoli, G., Konijnenberg, A., Leemans, M., Terheyden, S., Petrovic, A., Gallardo, R., Nederveen-Schippers, L. M., Athanasopoulos, P. S., Pots, H., Van Haastert, P. J. M., Sobott, F., Gloeckner, C. J., Efremov, R., Kortholt, A., & Versées, W. (2017). A homologue of the Parkinson's disease-associated protein LRRK2 undergoes a monomer-dimer transition during GTP turnover. *Nature Communications*, *8*(1), 1008. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01103-4>
- Di Fonzo, A., Rohé, C. F., Ferreira, J., Chien, H. F., Vacca, L., Stocchi, F., Guedes, L., Fabrizio, E., Manfredi, M., Vanacore, N., Goldwurm, S., Breedveld, G., Sampaio, C., Meco, G., Barbosa, E., Oostra, B. A., & Bonifati, V. (2005). A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *The Lancet*, *365*(9457), 412-415. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17829-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17829-5)
- Di Fonzo, A., Wu-Chou, Y.-H., Lu, C.-S., van Doeselaar, M., Simons, E. J., Rohé, C. F., Chang, H.-C., Chen, R.-S., Weng, Y.-H., Vanacore, N., Breedveld, G. J., Oostra, B. A., & Bonifati, V. (2006). A common missense variant in the LRRK2 gene, Gly2385Arg, associated with Parkinson's disease risk in Taiwan. *Neurogenetics*, *7*(3), 133-138. <https://doi.org/10.1007/s10048-006-0041-5>
- Diao, J., Burré, J., Vivona, S., Cipriano, D. J., Sharma, M., Kyoung, M., Südhof, T. C., & Brunger, A. T. (2013). Native α -synuclein induces clustering of synaptic-vesicle mimics via binding to phospholipids and synaptobrevin-2/VAMP2. *eLife*, *2*, e00592. <https://doi.org/10.7554/eLife.00592>
- Dickson, D. W. (2007). Linking Selective Vulnerability to Cell Death Mechanisms in Parkinson's Disease. *The American Journal of Pathology*, *170*(1), 16-19. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.061011>
- di Domenico, A., Carola, G., Calatayud, C., Pons-Espinal, M., Muñoz, J. P., Richaud-Patin, Y., Fernandez-Carasa, I., Gut, M., Faella, A., Parameswaran, J., Soriano, J., Ferrer, I., Tolosa, E., Zorzano, A., Cuervo, A. M., Raya, A., & Consiglio, A. (2019). Patient-Specific iPSC-Derived Astrocytes Contribute to Non-Cell-Autonomous Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *Stem Cell Reports*, *12*(2), 213-229. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.12.011>
- Dikic, I. (2017). Proteasomal and Autophagic Degradation Systems. *Annual Review of Biochemistry*, *86*, 193-224. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044908>
- Dikic, I., & Elazar, Z. (2018). Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *19*(6), 349-364. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0003-4>
- Dinter, E., Saridaki, T., Nippold, M., Plum, S., Diederichs, L., Komnig, D., Fensky, L., May, C., Marcus, K., Voigt, A., Schulz, J. B., & Falkenburger, B. H. (2016). Rab7 induces clearance of α -synuclein aggregates. *Journal of Neurochemistry*, *138*(5), 758-774. <https://doi.org/10.1111/jnc.13712>
- Djaldetti, R., Hassin-Baer, S., Farrer, M. J., Vilariño-Güell, C., Ross, O. A., Kolianov, V., Yust-Katz, S., Treves, T. A., Barhum, Y., Hulihan, M., & Melamed, E. (2008). Clinical characteristics of Parkinson's disease among Jewish Ethnic groups in Israel. *Journal of Neural Transmission*, *115*(9), 1279-1284. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0074-z>
- Dodson, M. W., Leung, L. K., Lone, M., Lizzio, M. A., & Guo, M. (2014). Novel ethyl methanesulfonate (EMS)-induced null alleles of the *Drosophila* homolog of LRRK2 reveal a crucial role in endolysosomal functions and autophagy in vivo. *Disease Models & Mechanisms*, *7*(12), 1351-1363. <https://doi.org/10.1242/dmm.017020>
- Dodson, M. W., Zhang, T., Jiang, C., Chen, S., & Guo, M. (2012). Roles of the *Drosophila* LRRK2 homolog in Rab7-dependent lysosomal positioning. *Human Molecular Genetics*, *21*(6), 1350-1363. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr573>
- Dou, Z., Pan, J.-A., Dbouk, H. A., Ballou, L. M., DeLeon, J. L., Fan, Y., Chen, J.-S., Liang, Z., Li, G., Backer, J. M., Lin, R. Z., & Zong, W.-X. (2013). Class IA PI3K p110 β Subunit Promotes Autophagy through Rab5 Small GTPase in Response to Growth Factor Limitation. *Molecular Cell*, *50*(1), 29-42. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.022>
- Dougherty, M. K., & Morrison, D. K. (2004). Unlocking the code of 14-3-3. *Journal of Cell Science*, *117*(Pt 10), 1875-1884. <https://doi.org/10.1242/jcs.01171>
- Drouin-Ouellet, J., Pircs, K., Legault, E. M., Birtele, M., Nilsson, F., Shrigley, S., Pereira, M., Storm, P., Sharma, Y., Vuono, R., Stoker, T. B., Jakobsson, J., Barker, R. A., & Parmar, M. (2021). Age-related pathological impairments in induced neurons derived from patients with idiopathic Parkinson's disease. *BioRxiv*, 2021.04.23.441070. <https://doi.org/10.1101/2021.04.23.441070>

BIBLIOGRAPHIE

- Duffy, M. F., Collier, T. J., Patterson, J. R., Kemp, C. J., Luk, K. C., Tansey, M. G., Paumier, K. L., Kanaan, N. M., Fischer, D. L., Polinski, N. K., Barth, O. L., Howe, J. W., Vaikath, N. N., Majbour, N. K., El-Agnaf, O. M. A., & Sortwell, C. E. (2018). Lewy body-like alpha-synuclein inclusions trigger reactive microgliosis prior to nigral degeneration. *Journal of Neuroinflammation*, *15*(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1171-z>
- Dzamko, N., Deak, M., Hentati, F., Reith, A. D., Prescott, A. R., Alessi, D. R., & Nichols, R. J. (2010). Inhibition of LRRK2 kinase activity leads to dephosphorylation of Ser910/Ser935, disruption of 14-3-3 binding and altered cytoplasmic localization. *Biochemical Journal*, *430*(3), 405-413. <https://doi.org/10.1042/BJ20100784>
- Dzamko, N., Gysbers, A. M., Bandopadhyay, R., Bolliger, M. F., Uchino, A., Zhao, Y., Takao, M., Wauters, S., Berg, W. D. J. van de, Takahashi-Fujigasaki, J., Nichols, R. J., Holton, J. L., Murayama, S., & Halliday, G. M. (2017). LRRK2 levels and phosphorylation in Parkinson's disease brain and cases with restricted Lewy bodies. *Movement Disorders*, *32*(3), 423-432. <https://doi.org/10.1002/mds.26892>
- Dzamko, N., Inesta-Vaquera, F., Zhang, J., Xie, C., Cai, H., Arthur, S., Tan, L., Choi, H., Gray, N., Cohen, P., Pedrioli, P., Clark, K., & Alessi, D. R. (2012). The IkkappaB Kinase Family Phosphorylates the Parkinson's Disease Kinase LRRK2 at Ser935 and Ser910 during Toll-Like Receptor Signaling. *PLOS ONE*, *7*(6), e39132. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039132>
- Dzamko, N. L. (2017). LRRK2 and the Immune System. In H. J. Rideout (Éd.), *Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2)* (p. 123-143). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49969-7_7
- Egan, D. F., Shackelford, D. B., Mihaylova, M. M., Gelino, S., Kohnz, R. A., Mair, W., Vasquez, D. S., Joshi, A., Gwinn, D. M., Taylor, R., Asara, J. M., Fitzpatrick, J., Dillin, A., Viollet, B., Kundu, M., Hansen, M., & Shaw, R. J. (2011). Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science (New York, N.Y.)*, *331*(6016), 456-461. <https://doi.org/10.1126/science.1196371>
- Eguchi, T., Kuwahara, T., Sakurai, M., Komori, T., Fujimoto, T., Ito, G., Yoshimura, S., Harada, A., Fukuda, M., Koike, M., & Iwatsubo, T. (2018). LRRK2 and its substrate Rab GTPases are sequentially targeted onto stressed lysosomes and maintain their homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(39), E9115-E9124. <https://doi.org/10.1073/pnas.1812196115>
- Ehringer, H., & Hornykiewicz, O. (1960). [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]. *Klinische Wochenschrift*, *38*, 1236-1239. <https://doi.org/10.1007/BF01485901>
- El Haddad, S., Serrano, A., Moal, F., Normand, T., Robin, C., Charpentier, S., Valery, A., Brulé-Morabito, F., Auzou, P., Mollet, L., Ozsancak, C., & Legrand, A. (2020). Disturbed expression of autophagy genes in blood of Parkinson's disease patients. *Gene*, *738*, 144454. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144454>
- El-Agnaf, O. M. A., Salem, S. A., Paleologou, K. E., Cooper, L. J., Fullwood, N. J., Gibson, M. J., Curran, M. D., Court, J. A., Mann, D. M. A., Ikeda, S.-I., Cookson, M. R., Hardy, J., & Allsop, D. (2003). α -Synuclein implicated in Parkinson's disease is present in extracellular biological fluids, including human plasma. *The FASEB Journal*, *17*(13), 1-16. <https://doi.org/10.1096/fj.03-0098fje>
- Ellis, C. E., Murphy, E. J., Mitchell, D. C., Golovko, M. Y., Scaglia, F., Barceló-Coblijn, G. C., & Nussbaum, R. L. (2005). Mitochondrial Lipid Abnormality and Electron Transport Chain Impairment in Mice Lacking α -Synuclein. *Molecular and Cellular Biology*, *25*(22), 10190-10201. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.22.10190-10201.2005>
- Ellis, C. E., Schwartzberg, P. L., Grider, T. L., Fink, D. W., & Nussbaum, R. L. (2001). α -Synuclein Is Phosphorylated by Members of the Src Family of Protein-tyrosine Kinases*. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(6), 3879-3884. <https://doi.org/10.1074/jbc.M010316200>
- Emmanouilidou, E., Melachroinou, K., Roumeliotis, T., Garbis, S. D., Ntzouni, M., Margaritis, L. H., Stefanis, L., & Vekrellis, K. (2010). Cell-Produced α -Synuclein Is Secreted in a Calcium-Dependent Manner by Exosomes and Impacts Neuronal Survival. *Journal of Neuroscience*, *30*(20), 6838-6851. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010>
- Erskine, D., Patterson, L., Alexandris, A., Hanson, P. S., McKeith, I. G., Attems, J., & Morris, C. M. (2018). Regional levels of physiological α -synuclein are directly associated with Lewy body pathology. *Acta Neuropathologica*, *135*(1), 153-154. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1787-6>
- Espay, A. J., LeWitt, P. A., & Kaufmann, H. (2014). Norepinephrine deficiency in Parkinson's disease: The case for noradrenergic enhancement. *Movement Disorders*, *29*(14), 1710-1719. <https://doi.org/10.1002/mds.26048>
- Falkenburger, B. H., Saridakis, T., & Dinter, E. (2016). Cellular models for Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, *139*(S1), 121-130. <https://doi.org/10.1111/jnc.13618>
- Fan, T.-S., Wu, R.-M., Chen, P.-L., Chen, T.-F., Li, H.-Y., Lin, Y.-H., Chen, C.-Y., Chen, M.-L., Tai, C.-H., Lin, H.-I., & Lin, C.-H. (2016). Clinical heterogeneity of LRRK2 p.I2012T mutation. *Parkinsonism & Related Disorders*, *33*, 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.09.008>
- Fanning, S., Haque, A., Imberdis, T., Baru, V., Barrasa, M. I., Nuber, S., Termine, D., Ramalingam, N., Ho, G. P. H., Noble, T., Sandoe, J., Lou, Y., Landgraf, D., Freyzon, Y., Newby, G., Soldner, F., Terry-Kantor, E., Kim, T.-E., Hofbauer, H. F., ... Selkoe, D. (2019). Lipidomic Analysis of α -Synuclein Neurotoxicity Identifies Stearoyl CoA Desaturase as a Target for Parkinson Treatment. *Molecular Cell*, *73*(5), 1001-1014.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.11.028>
- Fares, M.-B., Ait-Bouziad, N., Dikiy, I., Mbefo, M. K., Jovičić, A., Kiely, A., Holton, J. L., Lee, S.-J., Gitler, A. D., Eliezer, D., & Lashuel, H. A. (2014). The novel Parkinson's disease linked mutation G51D attenuates in vitro aggregation and membrane binding of α -synuclein, and enhances its secretion and nuclear localization in cells. *Human Molecular Genetics*, *23*(17), 4491-4509. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu165>
- Farré, J.-C., & Subramani, S. (2004). Peroxisome turnover by micropexophagy: An autophagy-related process. *Trends in Cell Biology*, *14*(9), 515-523. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.07.014>
- Farrer, M. J., Stone, J. T., Lin, C.-H., Dächsel, J. C., Hulihan, M. M., Haugarvoll, K., Ross, O. A., & Wu, R.-M. (2007). Lrrk2 G2385R is an ancestral risk factor for Parkinson's disease in Asia. *Parkinsonism & Related Disorders*, *13*(2), 89-92. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2006.12.001>

- Fasano, A., Daniele, A., & Albanese, A. (2012). Treatment of motor and non-motor features of Parkinson's disease with deep brain stimulation. *The Lancet Neurology*, *11*(5), 429-442. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70049-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70049-2)
- Feldmann, A., Bekbulat, F., Huesmann, H., Ulbrich, S., Tatzelt, J., Behl, C., & Kern, A. (2017). The RAB GTPase RAB18 modulates macroautophagy and proteostasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *486*(3), 738-743. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.03.112>
- Fell, M. J., Mirescu, C., Basu, K., Cheewatrakoolpong, B., DeMong, D. E., Ellis, J. M., Hyde, L. A., Lin, Y., Markgraf, C. G., Mei, H., Miller, M., Poulet, F. M., Scott, J. D., Smith, M. D., Yin, Z., Zhou, X., Parker, E. M., Kennedy, M. E., & Morrow, J. A. (2015). MLI-2, a Potent, Selective, and Centrally Active Compound for Exploring the Therapeutic Potential and Safety of LRRK2 Kinase Inhibition. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *355*(3), 397-409. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.227587>
- Feng, Y., Ke, C., Tang, Q., Dong, H., Zheng, X., Lin, W., Ke, J., Huang, J., Yeung, S.-C., & Zhang, H. (2014). Metformin promotes autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by downregulating Stat3 signaling. *Cell Death & Disease*, *5*(2), e1088-e1088. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.59>
- Fernandes, H. J. R., Hartfield, E. M., Christian, H. C., Emmanouilidou, E., Zheng, Y., Booth, H., Bogetoft, H., Lang, C., Ryan, B. J., Sardi, S. P., Badger, J., Vowles, J., Evetts, S., Tofaris, G. K., Vekrellis, K., Talbot, K., Hu, M. T., James, W., Cowley, S. A., & Wade-Martins, R. (2016). ER Stress and Autophagic Perturbations Lead to Elevated Extracellular α -Synuclein in GBA-N370S Parkinson's iPSC-Derived Dopamine Neurons. *Stem Cell Reports*, *6*(3), 342-356. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.01.013>
- Fernández, C. O., Hoyer, W., Zweckstetter, M., Jares-Erijman, E. A., Subramaniam, V., Griesinger, C., & Jovin, T. M. (2004). NMR of α -synuclein-polyamine complexes elucidates the mechanism and kinetics of induced aggregation. *The EMBO Journal*, *23*(10), 2039-2046. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600211>
- Ferree, A., Guillily, M., Li, H., Smith, K., Takashima, A., Squillace, R., Weigle, M., Collins, J. J., & Wolozin, B. (2012). Regulation of Physiologic Actions of LRRK2: Focus on Autophagy. *Neurodegenerative Diseases*, *10*(1-4), 238-241. <https://doi.org/10.1159/000332599>
- Ferreira, J. J., Guedes, L. C., Rosa, M. M., Coelho, M., van Doeselaar, M., Schweiger, D., Di Fonzo, A., Oostra, B. A., Sampaio, C., & Bonifati, V. (2007). High prevalence of LRRK2 mutations in familial and sporadic Parkinson's disease in Portugal. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *22*(8), 1194-1201. <https://doi.org/10.1002/mds.21525>
- Feyder, M., Plewnia, C., Lieberman, O. J., Spigolon, G., Piccin, A., Urbina, L., Dehay, B., Li, Q., Nilsson, P., Altun, M., Santini, E., Sulzer, D., Bezdard, E., Borgkvist, A., & Fisone, G. (2021). Involvement of Autophagy in Levodopa-Induced Dyskinesia. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*. <https://doi.org/10.1002/mds.28480>
- Finkbeiner, S. (2019). The Autophagy Lysosomal Pathway and Neurodegeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, a033993. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033993>
- Floor, E., & Wetzel, M. G. (1998). Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *Journal of Neurochemistry*, *70*(1), 268-275. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70010268.x>
- Fornai, F., Schlüter, O. M., Lenzi, P., Gesi, M., Ruffoli, R., Ferrucci, M., Lazzeri, G., Busceti, C. L., Pontarelli, F., Battaglia, G., Pellegrini, A., Nicoletti, F., Ruggieri, S., Paparelli, A., & Südhof, T. C. (2005). Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: Convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and α -synuclein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(9), 3413-3418. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409713102>
- Fortin, D. L., Nemani, V. M., Voglmaier, S. M., Anthony, M. D., Ryan, T. A., & Edwards, R. H. (2005). Neural Activity Controls the Synaptic Accumulation of α -Synuclein. *Journal of Neuroscience*, *25*(47), 10913-10921. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2922-05.2005>
- Fortin, D. L., Troyer, M. D., Nakamura, K., Kubo, S., Anthony, M. D., & Edwards, R. H. (2004). Lipid Rafts Mediate the Synaptic Localization of α -Synuclein. *Journal of Neuroscience*, *24*(30), 6715-6723. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1594-04.2004>
- Foufelle, F., & Ferré, P. (2007). La réponse UPR - Son rôle physiologique et physiopathologique. *médecine/sciences*, *23*(3), 291-296. <https://doi.org/10.1051/medsci/2007233291>
- Friedman, L. G., Lachenmayer, M. L., Wang, J., He, L., Poulouse, S. M., Komatsu, M., Holstein, G. R., & Yue, Z. (2012). Disrupted Autophagy Leads to Dopaminergic Axon and Dendrite Degeneration and Promotes Presynaptic Accumulation of α -Synuclein and LRRK2 in the Brain. *Journal of Neuroscience*, *32*(22), 7585-7593. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5809-11.2012>
- Froula, J. M., Henderson, B. W., Gonzalez, J. C., Vaden, J. H., Mclean, J. W., Wu, Y., Banumurthy, G., Overstreet-Wadiche, L., Herskowitz, J. H., & Volpicelli-Daley, L. A. (2018). α -Synuclein fibril-induced paradoxical structural and functional defects in hippocampal neurons. *Acta Neuropathologica Communications*, *6*(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0537-x>
- Fu, M., & Holzbaur, E. L. F. (2014). MAPK8IP1/JIP1 regulates the trafficking of autophagosomes in neurons. *Autophagy*, *10*(11), 2079-2081. <https://doi.org/10.4161/auto.34451>
- Fuchs, J., Nilsson, C., Kachergus, J., Munz, M., Larsson, E.-M., Schüle, B., Langston, J. W., Middleton, F. A., Ross, O. A., Hulihan, M., Gasser, T., & Farrer, M. J. (2007). Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication. *Neurology*, *68*(12), 916-922. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000254458.17630.c5>
- Fuji, R. N., Flagella, M., Baca, M., Baptista, M. A. S., Brodbeck, J., Chan, B. K., Fiske, B. K., Honigberg, L., Jubbs, A. M., Katavolos, P., Lee, D. W., Lewin-Koh, S.-C., Lin, T., Liu, X., Liu, S., Lyssikatos, J. P., O'Mahony, J., Reichelt, M., Roose-Girma, M., ... Watts, R. J. (2015). Effect of selective LRRK2 kinase inhibition on nonhuman primate lung. *Science Translational Medicine*, *7*(273), 273ra15-273ra15. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa3634>
- Fujikake, N., Shin, M., & Shimizu, S. (2018). Association Between Autophagy and Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Neuroscience*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00255>
- Fujiwara, H., Hasegawa, M., Dohmae, N., Kawashima, A., Masliah, E., Goldberg, M. S., Shen, J., Takio, K., & Iwatsubo, T. (2002). α -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nature Cell Biology*, *4*(2), 160-164. <https://doi.org/10.1038/ncb748>

BIBLIOGRAPHIE

- Funayama, M., Hasegawa, K., Kowa, H., Saito, M., Tsuji, S., & Obata, F. (2002). A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Annals of Neurology*, 51(3), 296-301. <https://doi.org/10.1002/ana.10113>
- Funayama, M., Hasegawa, K., Ohta, E., Kawashima, N., Komiyama, M., Kowa, H., Tsuji, S., & Obata, F. (2005). An LRRK2 mutation as a cause for the parkinsonism in the original PARK8 family. *Annals of Neurology*, 57(6), 918-921. <https://doi.org/10.1002/ana.20484>
- Fusco, G., De Simone, A., Gopinath, T., Vostrikov, V., Vendruscolo, M., Dobson, C. M., & Veglia, G. (2014). Direct observation of the three regions in α -synuclein that determine its membrane-bound behaviour. *Nature Communications*, 5(1), 3827. <https://doi.org/10.1038/ncomms4827>
- Fussi, N., Höllerhage, M., Chakroun, T., Nykänen, N.-P., Rösler, T. W., Koeglsperger, T., Wurst, W., Behrends, C., & Höglinger, G. U. (2018). Exosomal secretion of α -synuclein as protective mechanism after upstream blockage of macroautophagy. *Cell Death & Disease*, 9(7), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0816-2>
- Gaeta, A. L., Caldwell, K. A., & Caldwell, G. A. (2019). Found in Translation: The Utility of *C. elegans* Alpha-Synuclein Models of Parkinson's Disease. *Brain Sciences*, 9(4), 73. <https://doi.org/10.3390/brainsci9040073>
- Galluzzi, L., Baehrecke, E. H., Ballabio, A., Boya, P., Bravo-San Pedro, J. M., Cecconi, F., Choi, A. M., Chu, C. T., Codogno, P., Colombo, M. I., Cuervo, A. M., Debnath, J., Deretic, V., Dikic, I., Eskelinen, E.-L., Fimia, G. M., Fulda, S., Gewirtz, D. A., Green, D. R., ... Kroemer, G. (2017). Molecular definitions of autophagy and related processes. *The EMBO Journal*, 36(13), 1811-1836. <https://doi.org/10.15252/embj.201796697>
- Galvagnion, C. (2017). The Role of Lipids Interacting with α -Synuclein in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 7(3), 433-450. <https://doi.org/10.3233/JPD-171103>
- Galvin, J. E., Schuck, T. M., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2001). Differential Expression and Distribution of α -, β -, and γ -Synuclein in the Developing Human Substantia Nigra. *Experimental Neurology*, 168(2), 347-355. <https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7615>
- Gandhi, P. N., Wang, X., Zhu, X., Chen, S. G., & Wilson-Delfosse, A. L. (2008). The Roc Domain of Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) is Sufficient for Interaction with Microtubules. *Journal of neuroscience research*, 86(8), 1711-1720. <https://doi.org/10.1002/jnr.21622>
- Gan-Or, Z., Bar-Shira, A., Dahary, D., Mirelman, A., Kedmi, M., Gurevich, T., Giladi, N., & Orr-Urtreger, A. (2012). Association of Sequence Alterations in the Putative Promoter of RAB7L1 With a Reduced Parkinson Disease Risk. *Archives of Neurology*, 69(1), 105-110. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.924>
- Gan-Or, Z., Dion, P. A., & Rouleau, G. A. (2015). Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. *Autophagy*, 11(9), 1443-1457. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1067364>
- Gao. (2019). *Autophagy activation promotes clearance of α -synuclein inclusions in fibril-seeded human neural cells.* <https://www-jbc-org.proxy.insermbiblio.inist.fr/content/294/39/14241>
- Gao, F., Yang, J., Wang, D., Li, C., Fu, Y., Wang, H., He, W., & Zhang, J. (2017). Mitophagy in Parkinson's Disease: Pathogenic and Therapeutic Implications. *Frontiers in Neurology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00527>
- Gao, H.-M., Kotzbauer, P. T., Uryu, K., Leight, S., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2008). Neuroinflammation and oxidation/nitration of alpha-synuclein linked to dopaminergic neurodegeneration. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(30), 7687-7698. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0143-07.2008>
- Gao, X., Carroni, M., Nussbaum-Krammer, C., Mogk, A., Nillegoda, N. B., Szlachcic, A., Guilbride, D. L., Saibil, H. R., Mayer, M. P., & Bukau, B. (2015). Human Hsp70 Disaggregase Reverses Parkinson's-Linked α -Synuclein Amyloid Fibrils. *Molecular Cell*, 59(5), 781-793. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.07.012>
- Garcia-Reitboeck, P., Anichtchik, O., Dalley, J. W., Ninkina, N., Tofaris, G. K., Buchman, V. L., & Spillantini, M. G. (2013). Endogenous alpha-synuclein influences the number of dopaminergic neurons in mouse substantia nigra. *Experimental Neurology*, 248, 541-545. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.07.015>
- Gasser, T. (2009). Molecular pathogenesis of Parkinson disease: Insights from genetic studies. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 11, e22. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001148>
- Gaven, F., Marin, P., & Claeysen, S. (2014). Primary culture of mouse dopaminergic neurons. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 91, e51751. <https://doi.org/10.3791/51751>
- Gegg, M. E., Verona, G., & Schapira, A. H. V. (2020). Glucocerebrosidase deficiency promotes release of α -synuclein fibrils from cultured neurons. *Human Molecular Genetics*, 29(10), 1716-1728. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa085>
- Geisler, S., Holmström, K. M., Skujat, D., Fiesel, F. C., Rothfuss, O. C., Kahle, P. J., & Springer, W. (2010). PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nature Cell Biology*, 12(2), 119-131. <https://doi.org/10.1038/ncb2012>
- George, J. M., Jin, H., Woods, W. S., & Clayton, D. F. (1995). Characterization of a novel protein regulated during the critical period for song learning in the zebra finch. *Neuron*, 15(2), 361-372. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90040-3](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90040-3)
- George, S., & Brundin, P. (2015). Immunotherapy in Parkinson's Disease: Micromanaging Alpha-Synuclein Aggregation. *Journal of Parkinson's Disease*, 5(3), 413-424. <https://doi.org/10.3233/JPD-150630>
- Gersel Stokholm, M., Garrido, A., Tolosa, E., Serradell, M., Iranzo, A., Østergaard, K., Borghammer, P., Møller, A., Parbo, P., Stær, K., Brooks, D. J., Martí, M. J., & Pavese, N. (2020). Imaging dopamine function and microglia in asymptomatic LRRK2 mutation carriers. *Journal of Neurology*, 267(8), 2296-2300. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-09830-3>
- Gesi, M., Soldani, P., Giorgi, F. S., Santinami, A., Bonaccorsi, I., & Fornai, F. (2000). The role of the locus coeruleus in the development of Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(6), 655-668. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00028-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00028-2)
- Ghiglieri, V., Calabrese, V., & Calabresi, P. (2018). Alpha-Synuclein: From Early Synaptic Dysfunction to Neurodegeneration. *Frontiers in Neurology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00295>

- Giaime, E., Tong, Y., Wagner, L. K., Yuan, Y., Huang, G., & Shen, J. (2017). Age-Dependent Dopaminergic Neurodegeneration and Impairment of the Autophagy-Lysosomal Pathway in LRRK-Deficient Mice. *Neuron*, 96(4), 796-807.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.036>
- Giasson, B. I., Murray, I. V., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. (2001). A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(4), 2380-2386. <https://doi.org/10.1074/jbc.M008919200>
- Gibbons, C. H., Garcia, J., Wang, N., Shih, L. C., & Freeman, R. (2016). The diagnostic discrimination of cutaneous α -synuclein deposition in Parkinson disease. *Neurology*, 87(5), 505-512. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002919>
- Giesert, F., Hofmann, A., Bürger, A., Zerle, J., Kloos, K., Hafen, U., Ernst, L., Zhang, J., Vogt-Weisenhorn, D. M., & Wurst, W. (2013). Expression Analysis of Lrrk1, Lrrk2 and Lrrk2 Splice Variants in Mice. *PLOS ONE*, 8(5), e63778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063778>
- Gilks, W. P., Abou-Sleiman, P. M., Gandhi, S., Jain, S., Singleton, A., Lees, A. J., Shaw, K., Bhatia, K. P., Bonifati, V., Quinn, N. P., Lynch, J., Healy, D. G., Holton, J. L., Revesz, T., & Wood, N. W. (2005). A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. *The Lancet*, 365(9457), 415-416. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17830-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17830-1)
- Gioscia-Ryan, R. A., Battson, M. L., Cuevas, L. M., Eng, J. S., Murphy, M. P., & Seals, D. R. (2017). Mitochondria-targeted antioxidant therapy with MitoQ ameliorates aortic stiffening in old mice. *APSelect*, 4(12), 1194-1202. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00670.2017@apselect.2017.4.issue-12>
- Gispert, S., Ricciardi, F., Kurz, A., Azizov, M., Hoepken, H.-H., Becker, D., Voos, W., Leuner, K., Müller, W. E., Kudin, A. P., Kunz, W. S., Zimmermann, A., Roeper, J., Wenzel, D., Jendrach, M., García-Arencibia, M., Fernández-Ruiz, J., Huber, L., Rohrer, H., ... Auburger, G. (2009). Parkinson Phenotype in Aged PINK1-Deficient Mice Is Accompanied by Progressive Mitochondrial Dysfunction in Absence of Neurodegeneration. *PLOS ONE*, 4(6), e5777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005777>
- Glick, D., Barth, S., & Macleod, K. F. (2010). Autophagy: Cellular and molecular mechanisms. *The Journal of Pathology*, 221(1), 3-12. <https://doi.org/10.1002/path.2697>
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Del Tredici, K., & Braak, H. (2013). 100 years of Lewy pathology. *Nature Reviews Neurology*, 9(1), 13-24. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.242>
- Goldman, S. M., Kamel, F., Ross, G. W., Jewell, S. A., Bhudhikanok, G. S., Umbach, D., Marras, C., Hauser, R. A., Jankovic, J., Factor, S. A., Bressman, S., Lyons, K. E., Meng, C., Korell, M., Roucoux, D. F., Hoppin, J. A., Sandler, D. P., Langston, J. W., & Tanner, C. M. (2012). Head injury, α -synuclein Rep1, and Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 71(1), 40-48. <https://doi.org/10.1002/ana.22499>
- Goldman, S. M., Quinlan, P. J., Ross, G. W., Marras, C., Meng, C., Bhudhikanok, G. S., Comyns, K., Korell, M., Chade, A. R., Kasten, M., Priestley, B., Chou, K. L., Fernandez, H. H., Cambi, F., Langston, J. W., & Tanner, C. M. (2012). Solvent exposures and parkinson disease risk in twins. *Annals of Neurology*, 71(6), 776-784. <https://doi.org/10.1002/ana.22629>
- Goldwurm, S., Zini, M., Mariani, L., Tesei, S., Miceli, R., Sironi, F., Clementi, M., Bonifati, V., & Pezzoli, G. (2007). Evaluation of LRRK2 G2019S penetrance: Relevance for genetic counseling in Parkinson disease. *Neurology*, 68(14), 1141-1143. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000254483.19854.ef>
- Gomez, R. C., Wawro, P., Lis, P., Alessi, D. R., & Pfeffer, S. R. (2019). Membrane association but not identity is required for LRRK2 activation and phosphorylation of Rab GTPases. *Journal of Cell Biology*, 218(12), 4157-4170. <https://doi.org/10.1083/jcb.201902184>
- Gómez-Suaga, P., Luzón-Toro, B., Churamani, D., Zhang, L., Bloor-Young, D., Patel, S., Woodman, P. G., Churchill, G. C., & Hilfiker, S. (2012). Leucine-rich repeat kinase 2 regulates autophagy through a calcium-dependent pathway involving NAADP. *Human Molecular Genetics*, 21(3), 511-525. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr481>
- Gómez-Suaga, P., Rivero-Ríos, P., Fdez, E., Blanca Ramírez, M., Ferrer, I., Aiausti, A., López De Munain, A., & Hilfiker, S. (2014). LRRK2 delays degradative receptor trafficking by impeding late endosomal budding through decreasing Rab7 activity. *Human Molecular Genetics*, 23(25), 6779-6796. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu395>
- Gómez-Tortosa, E., Newell, K., Irizarry, M. C., Sanders, J. L., & Hyman, B. T. (2000). α -Synuclein immunoreactivity in dementia with Lewy bodies: Morphological staging and comparison with ubiquitin immunostaining. *Acta Neuropathologica*, 99(4), 352-357. <https://doi.org/10.1007/s004010051135>
- Gorbatyuk, O. S., Li, S., Nash, K., Gorbatyuk, M., Lewin, A. S., Sullivan, L. F., Mandel, R. J., Chen, W., Meyers, C., Manfredsson, F. P., & Muzyczka, N. (2010). In Vivo RNAi-Mediated α -Synuclein Silencing Induces Nigrostriatal Degeneration. *Molecular Therapy*, 18(8), 1450-1457. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.115>
- Gorbatyuk, O. S., Li, S., Sullivan, L. F., Chen, W., Kondrikova, G., Manfredsson, F. P., Mandel, R. J., & Muzyczka, N. (2008). The phosphorylation state of Ser-129 in human α -synuclein determines neurodegeneration in a rat model of Parkinson disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(2), 763-768. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711053105>
- Gowrishankar, S., Yuan, P., Wu, Y., Schrag, M., Paradise, S., Grutzendler, J., Camilli, P. D., & Ferguson, S. M. (2015). Massive accumulation of luminal protease-deficient axonal lysosomes at Alzheimer's disease amyloid plaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(28), E3699-E3708. <https://doi.org/10.1073/pnas.1510329112>
- Grant, B. D., & Donaldson, J. G. (2009). Pathways and mechanisms of endocytic recycling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(9), 597-608. <https://doi.org/10.1038/nrm2755>
- Greenbaum, E. A., Graves, C. L., Mishizen-Eberz, A. J., Lupoli, M. A., Lynch, D. R., Englander, S. W., Axelsen, P. H., & Giasson, B. I. (2005). The E46K Mutation in α -Synuclein Increases Amyloid Fibril Formation*. *Journal of Biological Chemistry*, 280(9), 7800-7807. <https://doi.org/10.1074/jbc.M411638200>
- Greggio, E., Bisaglia, M., Civiero, L., & Bubacco, L. (2011). Leucine-rich repeat kinase 2 and alpha-synuclein: Intersecting pathways in the pathogenesis of Parkinson's disease? *Molecular Neurodegeneration*, 6(1), 6. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-6>

BIBLIOGRAPHIE

- Greggio, E., & Cookson, M. R. (2009). Leucine-rich repeat kinase 2 mutations and Parkinson's disease: Three questions. *ASN NEURO*, 1(1). <https://doi.org/10.1042/AN20090007>
- Greggio, E., Jain, S., Kingsbury, A., Bhandopadhyay, R., Lewis, P., Kaganovich, A., van der Brug, M. P., Beilina, A., Blackinton, J., Thomas, K. J., Ahmad, R., Miller, D. W., Kesavapany, S., Singleton, A., Lees, A., Harvey, R. J., Harvey, K., & Cookson, M. R. (2006). Kinase activity is required for the toxic effects of mutant LRRK2/dardarin. *Neurobiology of Disease*, 23(2), 329-341. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.04.001>
- Greggio, E., Taymans, J.-M., Zhen, E. Y., Ryder, J., Vancraenenbroeck, R., Beilina, A., Sun, P., Deng, J., Jaffe, H., Baekelandt, V., Merchant, K., & Cookson, M. R. (2009). The Parkinson's disease kinase LRRK2 autophosphorylates its GTPase domain at multiple sites. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 389(3), 449-454. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.08.163>
- Greggio, E., Zambrano, I., Kaganovich, A., Beilina, A., Taymans, J.-M., Daniëls, V., Lewis, P., Jain, S., Ding, J., Syed, A., Thomas, K. J., Baekelandt, V., & Cookson, M. R. (2008). The Parkinson Disease-associated Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Is a Dimer That Undergoes Intramolecular Autophosphorylation*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(24), 16906-16914. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708718200>
- Greten-Harrison, B., Polydoro, M., Morimoto-Tomita, M., Diao, L., Williams, A. M., Nie, E. H., Makani, S., Tian, N., Castillo, P. E., Buchman, V. L., & Chandra, S. S. (2010). A β -Synuclein triple knockout mice reveal age-dependent neuronal dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(45), 19573-19578. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005005107>
- Gribaudot. (2019). *Propagation of α -Synuclein Strains within Human Reconstructed Neuronal Network*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6372945/>
- Grow, D. A., McCarrey, J. R., & Navara, C. S. (2016). Advantages of nonhuman primates as preclinical models for evaluating stem cell-based therapies for Parkinson's disease. *Stem Cell Research*, 17(2), 352-366. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.08.013>
- Guaitoli, G., Raimondi, F., Gilsbach, B. K., Gómez-Llorente, Y., Deyaert, E., Renzi, F., Li, X., Schaffner, A., Jagtap, P. K. A., Boldt, K., Zweyendorf, F. von, Gotthardt, K., Lorimer, D. D., Yue, Z., Burgin, A., Janjic, N., Sattler, M., Versées, W., Ueffing, M., ... Gloeckner, C. J. (2016). Structural model of the dimeric Parkinson's protein LRRK2 reveals a compact architecture involving distant interdomain contacts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(30), E4357-E4366. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523708113>
- Guerreiro, P. S., Huang, Y., Gysbers, A., Cheng, D., Gai, W. P., Outeiro, T. F., & Halliday, G. M. (2013). LRRK2 interactions with α -synuclein in Parkinson's disease brains and in cell models. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 91(4), 513-522. <https://doi.org/10.1007/s00109-012-0984-y>
- Guo, F., Liu, X., Cai, H., & Le, W. (2018). Autophagy in neurodegenerative diseases: Pathogenesis and therapy. *Brain Pathology*, 28(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
- Guo, J. T., Chen, A. Q., Kong, Q., Zhu, H., Ma, C. M., & Qin, C. (2008). Inhibition of vesicular monoamine transporter-2 activity in alpha-synuclein stably transfected SH-SY5Y cells. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 28(1), 35-47. <https://doi.org/10.1007/s10571-007-9227-0>
- Guo, L., Gandhi, P. N., Wang, W., Petersen, R. B., Wilson-Delfosse, A. L., & Chen, S. G. (2007). The Parkinson's disease-associated protein, leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2), is an authentic GTPase that stimulates kinase activity. *Experimental Cell Research*, 313(16), 3658-3670. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.07.007>
- Haebig, K., Gloeckner, C. J., Miralles, M. G., Gillardon, F., Schulte, C., Riess, O., Ueffing, M., Biskup, S., & Bonin, M. (2010). ARHGEF7 (BETA-PIX) Acts as Guanine Nucleotide Exchange Factor for Leucine-Rich Repeat Kinase 2. *PLOS ONE*, 5(10), e13762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013762>
- Hagell, P., Nordling, S., Reimer, J., Grabowski, M., & Persson, U. (2002). Resource use and costs in a Swedish cohort of patients with Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 17(6), 1213-1220. <https://doi.org/10.1002/mds.10262>
- Hailey, D. W., Rambold, A. S., Satpute-Krishnan, P., Mitra, K., Sougrat, R., Kim, P. K., & Lippincott-Schwartz, J. (2010). Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell*, 141(4), 656-667. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.009>
- Haleagrahara, N., Siew, C. J., & Ponnusamy, K. (2013). Effect of quercetin and desferrioxamine on 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced neurotoxicity in striatum of rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 38(1), 25-33. <https://doi.org/10.2131/jts.38.25>
- Halliday, G., Lees, A., & Stern, M. (2011). Milestones in Parkinson's disease—Clinical and pathologic features. *Movement Disorders*, 26(6), 1015-1021. <https://doi.org/10.1002/mds.23669>
- Hamasaki, M., Furuta, N., Matsuda, A., Nezu, A., Yamamoto, A., Fujita, N., Oomori, H., Noda, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Amano, A., & Yoshimori, T. (2013). Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*, 495(7441), 389-393. <https://doi.org/10.1038/nature11910>
- Hara, S., Arawaka, S., Sato, H., Machiya, Y., Cui, C., Sasaki, A., Koyama, S., & Kato, T. (2013). Serine 129 phosphorylation of membrane-associated α -synuclein modulates dopamine transporter function in a G protein-coupled receptor kinase-dependent manner. *Molecular Biology of the Cell*, 24(11), 1649-1660. <https://doi.org/10.1091/mbc.e12-12-0903>
- Hara, T., Nakamura, K., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakahara, Y., Suzuki-Migishima, R., Yokoyama, M., Mishima, K., Saito, I., Okano, H., & Mizushima, N. (2006). Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature*, 441(7095), 885-889. <https://doi.org/10.1038/nature04724>
- Hasegawa, T., Matsuzaki, M., Takeda, A., Kikuchi, A., Akita, H., Perry, G., Smith, M. A., & Itoyama, Y. (2004). Accelerated α -synuclein aggregation after differentiation of SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Brain Research*, 1013(1), 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.04.018>

- Hassin-Baer, S., Laitman, Y., Azizi, E., Molchadski, I., Galore-Haskel, G., Barak, F., Cohen, O. S., & Friedman, E. (2009). The leucine rich repeat kinase 2 (LRRK2) G2019S substitution mutation. *Journal of Neurology*, 256(3), 483-487. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0117-x>
- Hatano, T., Kubo, S., Imai, S., Maeda, M., Ishikawa, K., Mizuno, Y., & Hattori, N. (2007). Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Human Molecular Genetics*, 16(6), 678-690. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm013>
- Hauser, D. N., Primiani, C. T., Langston, R. G., Kumaran, R., & Cookson, M. R. (2015). The Polg Mutator Phenotype Does Not Cause Dopaminergic Neurodegeneration in DJ-1-Deficient Mice. *eNeuro*, 2(1). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0075-14.2015>
- Hayashi-Nishino, M., Fujita, N., Noda, T., Yamaguchi, A., Yoshimori, T., & Yamamoto, A. (2009). A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nature Cell Biology*, 11(12), 1433-1437. <https://doi.org/10.1038/ncb1991>
- He, Q., Koprach, J. B., Wang, Y., Yu, W., Xiao, B., Brotchie, J. M., & Wang, J. (2016). Treatment with Trehalose Prevents Behavioral and Neurochemical Deficits Produced in an AAV α -Synuclein Rat Model of Parkinson's Disease. *Molecular Neurobiology*, 53(4), 2258-2268. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9173-7>
- Healy, D. G., Wood, N. W., & Schapira, A. H. V. (2008). Test for LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease. *Practical Neurology*, 8(6), 381-385. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2008.162420>
- Heikkila, R. E., Nicklas, W. J., Vyas, I., & Duvoisin, R. C. (1985). Dopaminergic toxicity of rotenone and the 1-methyl-4-phenylpyridinium ion after their stereotaxic administration to rats: Implication for the mechanism of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine toxicity. *Neuroscience Letters*, 62(3), 389-394. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(85\)90580-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(85)90580-4)
- Helmich, R. C., Thaler, A., Nuenen, B. F. L. van, Gurevich, T., Mirelman, A., Marder, K. S., Bressman, S., Orr-Urtreger, A., Giladi, N., Bloem, B. R., & Toni, I. (2015). Reorganization of corticostriatal circuits in healthy G2019S LRRK2 carriers. *Neurology*, 84(4), 399-406. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001189>
- Henderson, M. X., Chung, C. H.-Y., Riddle, D. M., Zhang, B., Gathagan, R. J., Seeholzer, S. H., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2017). Unbiased Proteomics of Early Lewy Body Formation Model Implicates Active Microtubule Affinity-Regulating Kinases (MARKS) in Synucleinopathies. *Journal of Neuroscience*, 37(24), 5870-5884. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2705-16.2017>
- Henderson, M. X., Peng, C., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2018). LRRK2 activity does not dramatically alter α -synuclein pathology in primary neurons. *Acta Neuropathologica Communications*, 6. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0550-0>
- Henderson, M. X., Sengupta, M., McGeary, I., Zhang, B., Olufemi, M. F., Brown, H., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2019). LRRK2 inhibition does not impart protection from α -synuclein pathology and neuron death in non-transgenic mice. *Acta Neuropathologica Communications*, 7(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0679-5>
- Henry, A. G., Aghamohammadzadeh, S., Samaroo, H., Chen, Y., Mou, K., Needle, E., & Hirst, W. D. (2015). Pathogenic LRRK2 mutations, through increased kinase activity, produce enlarged lysosomes with reduced degradative capacity and increase ATP13A2 expression. *Human Molecular Genetics*, 24(21), 6013-6028. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv314>
- Hentati, F., Trinh, J., Thompson, C., Nosova, E., Farrer, M. J., & Aasly, J. O. (2014). LRRK2 parkinsonism in Tunisia and Norway: A comparative analysis of disease penetrance. *Neurology*, 83(6), 568-569. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000675>
- Heo, H. Y., Park, J.-M., Kim, C.-H., Han, B. S., Kim, K.-S., & Seol, W. (2010). LRRK2 enhances oxidative stress-induced neurotoxicity via its kinase activity. *Experimental Cell Research*, 316(4), 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.09.014>
- Hernandez, D., Torres, C. A., Setlik, W., Cebrián, C., Mosharov, E. V., Tang, G., Cheng, H.-C., Kholodilov, N., Yarygina, O., Burke, R. E., Gershon, M., & Sulzer, D. (2012). Regulation of presynaptic neurotransmission by macroautophagy. *Neuron*, 74(2), 277-284. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.020>
- Herzig, M. C., Bidinosti, M., Schweizer, T., Hafner, T., Stemmelen, C., Weiss, A., Danner, S., Vidotto, N., Stauffer, D., Barske, C., Mayer, F., Schmid, P., Rovelli, G., Putten, P. H. van der, & Shimshek, D. R. (2012). High LRRK2 Levels Fail to Induce or Exacerbate Neuronal Alpha-Synucleinopathy in Mouse Brain. *PLOS ONE*, 7(5), e36581. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036581>
- Herzig, M. C., Kolly, C., Persohn, E., Theil, D., Schweizer, T., Hafner, T., Stemmelen, C., Troxler, T. J., Schmid, P., Danner, S., Schnell, C. R., Mueller, M., Kinzel, B., Grevot, A., Bolognani, F., Stirn, M., Kuhn, R. R., Kaupmann, K., van der Putten, P. H., ... Shimshek, D. R. (2011). LRRK2 protein levels are determined by kinase function and are crucial for kidney and lung homeostasis in mice. *Human Molecular Genetics*, 20(21), 4209-4223. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr348>
- Higashi, S., Biskup, S., West, A. B., Trinkaus, D., Dawson, V. L., Faull, R. L. M., Waldvogel, H. J., Arai, H., Dawson, T. M., Moore, D. J., & Emson, P. C. (2007). Localization of Parkinson's disease-associated LRRK2 in normal and pathological human brain. *Brain Research*, 1155, 208-219. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.04.034>
- Higashi, S., Moore, D. J., Yamamoto, R., Minegishi, M., Sato, K., Togo, T., Katsuse, O., Uchikado, H., Furukawa, Y., Hino, H., Kosaka, K., Emson, P. C., Wada, K., Dawson, V. L., Dawson, T. M., Arai, H., & Iseki, E. (2009). Abnormal Localization of Leucine-Rich Repeat Kinase 2 to the Endosomal-Lysosomal Compartment in Lewy Body Disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 68(9), 994-1005. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181b44ed8>
- Hijaz, B. A., & Volpicelli-Daley, L. A. (2020). Initiation and propagation of α -synuclein aggregation in the nervous system. *Molecular Neurodegeneration*, 15(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13024-020-00368-6>
- Hirsch, E., Graybiel, A. M., & Agid, Y. A. (1988). Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature*, 334(6180), 345-348. <https://doi.org/10.1038/334345a0>
- Hockey, L. N., Kilpatrick, B. S., Eden, E. R., Lin-Moshier, Y., Brailoiu, G. C., Brailoiu, E., Futter, C. E., Schapira, A. H., Marchant, J. S., & Patel, S. (2015). Dysregulation of lysosomal morphology by pathogenic LRRK2 is corrected by TPC2 inhibition. *Journal of Cell Science*, 128(2), 232-238. <https://doi.org/10.1242/jcs.164152>

BIBLIOGRAPHIE

- Hodara, R., Norris, E. H., Giasson, B. I., Mishizen-Eberz, A. J., Lynch, D. R., Lee, V. M.-Y., & Ischiropoulos, H. (2004). Functional Consequences of α -Synuclein Tyrosine Nitration: DIMINISHED BINDING TO LIPID VESICLES AND INCREASED FIBRIL FORMATION*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(46), 47746-47753. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408906200>
- Hoehn, M. M., & Yahr, M. D. (1967). Parkinsonism: Onset, progression and mortality. *Neurology*, 17(5), 427-442. <https://doi.org/10.1212/wnl.17.5.427>
- Hoffmann, A.-C., Minakaki, G., Menges, S., Salvi, R., Savitskiy, S., Kazman, A., Vicente Miranda, H., Mielenz, D., Klucken, J., Winkler, J., & Xiang, W. (2019). Extracellular aggregated alpha synuclein primarily triggers lysosomal dysfunction in neural cells prevented by trehalose. *Scientific Reports*, 9(1), 544. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35811-8>
- Hollenbeck, P. J. (1993). Products of endocytosis and autophagy are retrieved from axons by regulated retrograde organelle transport. *Journal of Cell Biology*, 121(2), 305-315. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.2.305>
- Holmes, B. B., DeVos, S. L., Kfoury, N., Li, M., Jacks, R., Yanamandra, K., Ouidja, M. O., Brodsky, F. M., Marasa, J., Bagchi, D. P., Kotzbauer, P. T., Miller, T. M., Papy-Garcia, D., & Diamond, M. I. (2013). Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(33), E3138-E3147. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301440110>
- Hoozemans, J. J. M., van Haastert, E. S., Eikelenboom, P., de Vos, R. A. I., Rozemuller, J. M., & Scheper, W. (2007). Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 354(3), 707-711. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.01.043>
- Hottinger, A. F., Azzouz, M., Déglon, N., Aebischer, P., & Zurn, A. D. (2000). Complete and long-term rescue of lesioned adult motoneurons by lentiviral-mediated expression of glial cell line-derived neurotrophic factor in the facial nucleus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(15), 5587-5593.
- Howson, P. A., Johnston, T. H., Ravenscroft, P., Hill, M. P., Su, J., Brotchie, J. M., & Koprach, J. B. (2019). Beneficial Effects of Trehalose on Striatal Dopaminergic Deficits in Rodent and Primate Models of Synucleinopathy in Parkinson's Disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 369(3), 364-374. <https://doi.org/10.1124/jpet.118.255695>
- Hsu, L. J., Mallory, M., Xia, Y., Veinbergs, I., Hashimoto, M., Yoshimoto, M., Thal, L. J., Saitoh, T., & Masliah, E. (1998). Expression Pattern of Synucleins (Non-A β Component of Alzheimer's Disease Amyloid Precursor Protein/ α -Synuclein) During Murine Brain Development. *Journal of Neurochemistry*, 71(1), 338-344. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71010338.x>
- Huang, L., Shimoji, M., Wang, J., Shah, S., Kamila, S., Biehl, E. R., Lim, S., Chang, A., Maguire-Zeiss, K. A., Su, X., & Federoff, H. J. (2013). Development of Inducible Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Cell Lines for Therapeutics Development in Parkinson's Disease. *Neurotherapeutics*, 10(4), 840-851. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0208-3>
- Hulihan, M. M., Ishihara-Paul, L., Kachergus, J., Warren, L., Amouri, R., Elango, R., Prinjha, R. K., Upmanyu, R., Kefi, M., Zouari, M., Sassi, S. B., Yahmed, S. B., El Euch-Fayeche, G., Matthews, P. M., Middleton, L. T., Gibson, R. A., Hentati, F., & Farrer, M. J. (2008). LRRK2 Gly2019Ser penetrance in Arab-Berber patients from Tunisia: A case-control genetic study. *The Lancet Neurology*, 7(7), 591-594. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70116-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70116-9)
- Hunot, S., Dugas, N., Faucheux, B., Hartmann, A., Tardieu, M., Debré, P., Agid, Y., Dugas, B., & Hirsch, E. C. (1999). Fc ϵ R1I/CD23 Is Expressed in Parkinson's Disease and Induces, In Vitro, Production of Nitric Oxide and Tumor Necrosis Factor- α in Glial Cells. *Journal of Neuroscience*, 19(9), 3440-3447. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-09-03440.1999>
- Iacono, D., Geraci-Erck, M., Rabin, M. L., Adler, C. H., Serrano, G., Beach, T. G., & Kurlan, R. (2015). Parkinson disease and incidental Lewy body disease: Just a question of time? *Neurology*, 85(19), 1670-1679. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002102>
- Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kominami, E., Ohsumi, M., Noda, T., & Ohsumi, Y. (2000). A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature*, 408(6811), 488-492. <https://doi.org/10.1038/35044114>
- Imai, Y., Soda, M., Inoue, H., Hattori, N., Mizuno, Y., & Takahashi, R. (2001). An Unfolded Putative Transmembrane Polypeptide, which Can Lead to Endoplasmic Reticulum Stress, Is a Substrate of Parkin. *Cell*, 105(7), 891-902. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00407-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00407-X)
- Imamura, K., Hishikawa, N., Sawada, M., Nagatsu, T., Yoshida, M., & Hashizume, Y. (2003). Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains. *Acta Neuropathologica*, 106(6), 518-526. <https://doi.org/10.1007/s00401-003-0766-2>
- Inden, M., Kitamura, Y., Abe, M., Tamaki, A., Takata, K., & Taniguchi, T. (2011). Parkinsonian rotenone mouse model: Reevaluation of long-term administration of rotenone in C57BL/6 mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 34(1), 92-96. <https://doi.org/10.1248/bpb.34.92>
- Infante, J., Rodríguez, E., Combarros, O., Mateo, I., Fontalba, A., Pascual, J., Oterino, A., Polo, J. M., Leno, C., & Berciano, J. (2006). LRRK2 G2019S is a common mutation in Spanish patients with late-onset Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, 395(3), 224-226. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.10.083>
- Inglis, K. J., Chereau, D., Brigham, E. F., Chiou, S.-S., Schöbel, S., Frigon, N. L., Yu, M., Caccavello, R. J., Nelson, S., Motter, R., Wright, S., Chian, D., Santiago, P., Soriano, F., Ramos, C., Powell, K., Goldstein, J. M., Babcock, M., Yednock, T., ... Anderson, J. P. (2009). Polo-like Kinase 2 (PLK2) Phosphorylates α -Synuclein at Serine 129 in Central Nervous System*. *Journal of Biological Chemistry*, 284(5), 2598-2602. <https://doi.org/10.1074/jbc.C800206200>
- Inoshita, T., Arano, T., Hosaka, Y., Meng, H., Umezaki, Y., Kosugi, S., Morimoto, T., Koike, M., Chang, H.-Y., Imai, Y., & Hattori, N. (2017). Vps35 in cooperation with LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis through the endosomal pathway in Drosophila. *Human Molecular Genetics*, 26(15), 2933-2948. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx179>

- Irwin, D. J., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2013). Parkinson's disease dementia: Convergence of α -synuclein, tau and amyloid- β pathologies. *Nature Reviews Neuroscience*, *14*(9), 626-636. <https://doi.org/10.1038/nrn3549>
- Islam, M. S., Nolte, H., Jacob, W., Ziegler, A. B., Pütz, S., Grosjean, Y., Szczepanowska, K., Trifunovic, A., Braun, T., Heumann, H., Heumann, R., Hovemann, B., Moore, D. J., & Krüger, M. (2016). Human R1441C LRRK2 regulates the synaptic vesicle proteome and phosphoproteome in a *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, *25*(24), 5365-5382. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw352>
- Itakura, E., Kishi, C., Inoue, K., & Mizushima, N. (2008). Beclin 1 Forms Two Distinct Phosphatidylinositol 3-Kinase Complexes with Mammalian Atg14 and UVRAG. *Molecular Biology of the Cell*, *19*(12), 5360-5372. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-01-0080>
- Ito, G., Katsemonova, K., Tonelli, F., Lis, P., Baptista, M. A. S., Shpiro, N., Duddy, G., Wilson, S., Ho, P. W.-L., Ho, S.-L., Reith, A. D., & Alessi, D. R. (2016). Phos-tag analysis of Rab10 phosphorylation by LRRK2: A powerful assay for assessing kinase function and inhibitors. *The Biochemical Journal*, *473*(17), 2671-2685. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160557>
- Ito, G., Okai, T., Fujino, G., Takeda, K., Ichijo, H., Katada, T., & Iwatsubo, T. (2007). GTP Binding Is Essential to the Protein Kinase Activity of LRRK2, a Causative Gene Product for Familial Parkinson's Disease. *Biochemistry*, *46*(5), 1380-1388. <https://doi.org/10.1021/bi061960m>
- Iwai, A., Masliah, E., Yoshimoto, M., Ge, N., Flanagan, L., Rohan de Silva, H. A., Kittel, A., & Saitoh, T. (1995). The precursor protein of non-A β component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system. *Neuron*, *14*(2), 467-475. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90302-X](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90302-X)
- Iwanaga, K., Wakabayashi, K., Yoshimoto, M., Tomita, I., Satoh, H., Takashima, H., Satoh, A., Seto, M., Tsujihata, M., & Takahashi, H. (1999). Lewy body-type degeneration in cardiac plexus in Parkinson's and incidental Lewy body diseases. *Neurology*, *52*(6), 1269-1269. <https://doi.org/10.1212/WNL.52.6.1269>
- Jager, S. (2004). Role for Rab7 in maturation of late autophagic vacuoles. *Journal of Cell Science*, *117*(20), 4837-4848. <https://doi.org/10.1242/jcs.01370>
- Jahreiss, L., Menzies, F. M., & Rubinsztein, D. C. (2008). The itinerary of autophagosomes: From peripheral formation to kiss-and-run fusion with lysosomes. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, *9*(4), 574-587. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2008.00701.x>
- Jakes, R., Spillantini, M. G., & Goedert, M. (1994). Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Letters*, *345*(1), 27-32. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(94\)00395-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)00395-5)
- Jaleel, M., Nichols, R. J., Deak, M., Campbell, D. G., Gillardon, F., Knebel, A., & Alessi, D. R. (2007). LRRK2 phosphorylates moesin at threonine-558: Characterization of how Parkinson's disease mutants affect kinase activity. *The Biochemical Journal*, *405*(2), 307-317. <https://doi.org/10.1042/BJ20070209>
- Jänen, S. B., Chaachouay, H., & Richter-Landsberg, C. (2010). Autophagy is activated by proteasomal inhibition and involved in aggresome clearance in cultured astrocytes. *Glia*, *58*(14), 1766-1774. <https://doi.org/10.1002/glia.21047>
- Jang, A., Lee, H.-J., Suk, J.-E., Jung, J.-W., Kim, K.-P., & Lee, S.-J. (2010). Non-classical exocytosis of α -synuclein is sensitive to folding states and promoted under stress conditions. *Journal of Neurochemistry*, *113*(5), 1263-1274. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06695.x>
- Jankovic, J., Goodman, I., Safirstein, B., Marmon, T. K., Schenk, D. B., Koller, M., Zago, W., Ness, D. K., Griffith, S. G., Grundman, M., Soto, J., Ostrowitzki, S., Boess, F. G., Martin-Facklam, M., Quinn, J. F., Isaacson, S. H., Omidvar, O., Ellenbogen, A., & Kinney, G. G. (2018). Safety and Tolerability of Multiple Ascending Doses of PRX002/RG7935, an Anti- α -Synuclein Monoclonal Antibody, in Patients With Parkinson Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurology*, *75*(10), 1206-1214. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.1487>
- Jenco, J. M., Rawlingson, A., Daniels, B., & Morris, A. J. (1998). Regulation of Phospholipase D2: Selective Inhibition of Mammalian Phospholipase D Isoenzymes by α - and β -Synucleins. *Biochemistry*, *37*(14), 4901-4909. <https://doi.org/10.1021/bi972776r>
- Jensen, P. H., Hager, H., Nielsen, M. S., Højrup, P., Gliemann, J., & Jakes, R. (1999). α -Synuclein Binds to Tau and Stimulates the Protein Kinase A-catalyzed Tau Phosphorylation of Serine Residues 262 and 356*. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(36), 25481-25489. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.36.25481>
- Jeong, G. R., & Lee, B. D. (2020). Pathological Functions of LRRK2 in Parkinson's Disease. *Cells*, *9*(12), 2565. <https://doi.org/10.3390/cells9122565>
- Jia, T., Liu, Y. E., Liu, J., & Shi, Y. E. (1999). Stimulation of Breast Cancer Invasion and Metastasis by Synuclein γ . *Cancer Research*, *59*(3), 742-747.
- Jiang, P., Gan, M., Yen, S.-H., McLean, P. J., & Dickson, D. W. (2017). Impaired endo-lysosomal membrane integrity accelerates the seeding progression of α -synuclein aggregates. *Scientific Reports*, *7*(1), 7690. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08149-w>
- Jiang, T., Harder, B., Rojo de la Vega, M., Wong, P. K., Chapman, E., & Zhang, D. D. (2015). P62 links autophagy and Nrf2 signaling. *Free radical biology & medicine*, *88*(0), 199-204. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.014>
- Jin, J. W., Fan, X., del Cid-Pellitero, E., Liu, X.-X., Zhou, L., Dai, C., Gibbs, E., He, W., Li, H., Wu, X., Hill, A., Leavitt, B. R., Cashman, N., Liu, L., Lu, J., Durcan, T. M., Dong, Z., Fon, E. A., & Wang, Y. T. (2021). Development of an α -synuclein knockdown peptide and evaluation of its efficacy in Parkinson's disease models. *Communications Biology*, *4*(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01746-6>
- Jing, X., Wei, X., Ren, M., Wang, L., Zhang, X., & Lou, H. (2016). Neuroprotective Effects of Tanshinone I Against 6-OHDA-Induced Oxidative Stress in Cellular and Mouse Model of Parkinson's Disease Through Upregulating Nrf2. *Neurochemical Research*, *41*(4), 779-786. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1751-6>
- Jo, E., Fuller, N., Rand, R. P., St George-Hyslop, P., & Fraser, P. E. (2002). Defective membrane interactions of familial Parkinson's disease mutant A30P α -synuclein. Edited by I. B. Holland. *Journal of Molecular Biology*, *315*(4), 799-807. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5269>

BIBLIOGRAPHIE

- Jo, J., Xiao, Y., Sun, A. X., Cukuroglu, E., Tran, H.-D., Göke, J., Tan, Z. Y., Saw, T. Y., Tan, C.-P., Lokman, H., Lee, Y., Kim, D., Ko, H. S., Kim, S.-O., Park, J. H., Cho, N.-J., Hyde, T. M., Kleinman, J. E., Shin, J. H., ... Ng, H. H. (2016). Midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells contain functional dopaminergic and neuromelanin producing neurons. *Cell stem cell*, 19(2), 248-257. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.07.005>
- Johnson, J., Paisán-Ruíz, C., Lopez, G., Crews, C., Britton, A., Malkani, R., Evans, E. W., McLnerney-Leo, A., Jain, S., Nussbaum, R. L., Foote, K. D., Mandel, R. J., Crawley, A., Reimsnider, S., Fernandez, H. H., Okun, M. S., Gwinn-Hardy, K., & Singleton, A. B. (2007). Comprehensive Screening of a North American Parkinson's Disease Cohort for LRRK2 Mutation. *Neurodegenerative Diseases*, 4(5), 386-391. <https://doi.org/10.1159/000105160>
- Johnson, M. E., Stecher, B., Labrie, V., Brundin, L., & Brundin, P. (2019). Triggers, Facilitators, and Aggravators: Redefining Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends in Neurosciences*, 42(1), 4-13. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.09.007>
- Jorgensen, N. D., Peng, Y., Ho, C. C.-Y., Rideout, H. J., Petrey, D., Liu, P., & Dauer, W. T. (2009). The WD40 Domain Is Required for LRRK2 Neurotoxicity. *PLOS ONE*, 4(12), e8463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008463>
- Juárez-Flores, D. L., González-Casacuberta, I., Ezquerro, M., Bañó, M., Carmona-Pontaque, F., Catalán-García, M., Guitart-Mampel, M., Rivero, J. J., Tobias, E., Milisenda, J. C., Tolosa, E., Martí, M. J., Fernández-Santiago, R., Cardellach, F., Morén, C., & Garrabou, G. (2018). Exhaustion of mitochondrial and autophagic reserve may contribute to the development of LRRK2G2019S-Parkinson's disease. *Journal of Translational Medicine*, 16(1), 160. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1526-3>
- Jucker, M., & Walker, L. C. (2018). Propagation and spread of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative diseases. *Nature Neuroscience*, 21(10), 1341-1349. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0238-6>
- Kabeya, Y., Mizushima, N., Ueno, T., Yamamoto, A., Kirisako, T., Noda, T., Kominami, E., Ohsumi, Y., & Yoshimori, T. (2000). LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosomal membranes after processing. *The EMBO Journal*, 19(21), 5720-5728. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.21.5720>
- Kachergus, J., Mata, I. F., Hulihan, M., Taylor, J. P., Lincoln, S., Aasly, J., Gibson, J. M., Ross, O. A., Lynch, T., Wiley, J., Payami, H., Nutt, J., Maraganore, D. M., Czystewski, K., Styczynska, M., Wszolek, Z. K., Farrer, M. J., & Toft, M. (2005). Identification of a Novel LRRK2 Mutation Linked to Autosomal Dominant Parkinsonism: Evidence of a Common Founder across European Populations. *The American Journal of Human Genetics*, 76(4), 672-680. <https://doi.org/10.1086/429256>
- Kahle, P. J., Neumann, M., Ozmen, L., Müller, V., Jacobsen, H., Schindzielorz, A., Okochi, M., Leimer, U., Putten, H. van der, Probst, A., Kremmer, E., Kretschmar, H. A., & Haass, C. (2000). Subcellular Localization of Wild-Type and Parkinson's Disease-Associated Mutant α -Synuclein in Human and Transgenic Mouse Brain. *Journal of Neuroscience*, 20(17), 6365-6373. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-17-06365.2000>
- Kalia, L. V., Brotchie, J. M., & Fox, S. H. (2013). Novel nondopaminergic targets for motor features of Parkinson's disease: Review of recent trials. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 28(2), 131-144. <https://doi.org/10.1002/mds.25273>
- Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *The Lancet*, 386(9996), 896-912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- Kalia, L. V., Lang, A. E., Hazrati, L.-N., Fujioka, S., Wszolek, Z. K., Dickson, D. W., Ross, O. A., Van Deerlin, V. M., Trojanowski, J. Q., Hurtig, H. I., Alcalay, R. N., Marder, K. S., Clark, L. N., Gaig, C., Tolosa, E., Ruiz-Martínez, J., Martí-Masso, J. F., Ferrer, I., López de Munain, A., ... Marras, C. (2015). Clinical Correlations With Lewy Body Pathology in LRRK2-Related Parkinson Disease. *JAMA Neurology*, 72(1), 100-105. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.2704>
- Kalogeropoulou, A. F., Zhao, J., Bolliger, M. F., Memou, A., Narasimha, S., Molitor, T. P., Wilson, W. H., Rideout, H. J., & Nichols, R. J. (2018). P62/SQSTM1 is a novel leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) substrate that enhances neuronal toxicity. *Biochemical Journal*, 475(7), 1271-1293. <https://doi.org/10.1042/BCJ20170699>
- Kamada, Y., Funakoshi, T., Shintani, T., Nagano, K., Ohsumi, M., & Ohsumi, Y. (2000). Tor-Mediated Induction of Autophagy via an Apg1 Protein Kinase Complex. *Journal of Cell Biology*, 150(6), 1507-1513. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.6.1507>
- Kapahi, P., Chen, D., Rogers, A. N., Katewa, S. D., Li, P. W.-L., Thomas, E. L., & Kockel, L. (2010). With TOR, Less Is More: A Key Role for the Conserved Nutrient-Sensing TOR Pathway in Aging. *Cell Metabolism*, 11(6), 453-465. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.05.001>
- Karpowicz, R. J., Haney, C. M., Mihaila, T. S., Sandler, R. M., Petersson, E. J., & Lee, V. M.-Y. (2017). Selective imaging of internalized proteopathic α -synuclein seeds in primary neurons reveals mechanistic insight into transmission of synucleinopathies. *Journal of Biological Chemistry*, 292(32), 13482-13497. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.780296>
- Karsli-Uzunbas, G., Guo, J. Y., Price, S., Teng, X., Laddha, S. V., Khor, S., Kalaany, N. Y., Jacks, T., Chan, C. S., Rabinowitz, J. D., & White, E. (2014). Autophagy is required for glucose homeostasis and lung tumor maintenance. *Cancer Discovery*, 4(8), 914-927. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0363>
- Karuppagounder, S. S., Xiong, Y., Lee, Y., Lawless, M. C., Kim, D., Nordquist, E., Martin, I., Ge, P., Brahmachari, S., Jhaldiyal, A., Kumar, M., Andrabi, S. A., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2016a). LRRK2 G2019S transgenic mice display increased susceptibility to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-mediated neurotoxicity. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 76(Pt B), 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2016.01.007>
- Karuppagounder, S. S., Xiong, Y., Lee, Y., Lawless, M. C., Kim, D., Nordquist, E., Martin, I., Ge, P., Brahmachari, S., Jhaldiyal, A., Kumar, M., Andrabi, S. A., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2016b). LRRK2 G2019S transgenic mice display increased susceptibility to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-mediated neurotoxicity. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 76, 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2016.01.007>
- Kaushik, S., & Cuervo, A. M. (2018). The coming of age of chaperone-mediated autophagy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(6), 365-381. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0001-6>
- Kaushik, S., Massey, A. C., & Cuervo, A. M. (2006). Lysosome membrane lipid microdomains: Novel regulators of chaperone-mediated autophagy. *The EMBO Journal*, 25(17), 3921-3933. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601283>

- Kawamoto, Y., Akiguchi, I., Nakamura, S., & Budka, H. (2004). 14-3-3 proteins in Lewy body-like hyaline inclusions in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathologica*, 108(6), 531-537. <https://doi.org/10.1007/s00401-004-0923-2>
- Kett, L. R., Boassa, D., Ho, C. C.-Y., Rideout, H. J., Hu, J., Terada, M., Ellisman, M., & Dauer, W. T. (2012). LRRK2 Parkinson disease mutations enhance its microtubule association. *Human Molecular Genetics*, 21(4), 890-899. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr526>
- Khan, N. L., Jain, S., Lynch, J. M., Pavese, N., Abou-Sleiman, P., Holton, J. L., Healy, D. G., Gilks, W. P., Sweeney, M. G., Ganguly, M., Gibbons, V., Gandhi, S., Vaughan, J., Eunson, L. H., Katzenschlager, R., Gayton, J., Lennox, G., Revesz, T., Nicholl, D., ... Wood, N. W. (2005). Mutations in the gene LRRK2 encoding dardarin (PARK8) cause familial Parkinson's disease: Clinical, pathological, olfactory and functional imaging and genetic data. *Brain: A Journal of Neurology*, 128(Pt 12), 2786-2796. <https://doi.org/10.1093/brain/awh667>
- Khodr, C. E., Pedapati, J., Han, Y., & Bohn, M. C. (2012). Inclusion of a portion of the native SNCA 3'UTR reduces toxicity of human S129A SNCA on striatal-projecting dopamine neurons in rat substantia nigra. *Developmental Neurobiology*, 72(6), 906-917. <https://doi.org/10.1002/dneu.20989>
- Kihara, A., Noda, T., Ishihara, N., & Ohsumi, Y. (2001). Two Distinct Vps34 Phosphatidylinositol 3-Kinase Complexes Function in Autophagy and Carboxypeptidase Y Sorting in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Cell Biology*, 152(3), 519-530. <https://doi.org/10.1083/jcb.152.3.519>
- Killinger, B. A., Madaj, Z., Sikora, J. W., Rey, N., Haas, A. J., Vepa, Y., Lindqvist, D., Chen, H., Thomas, P. M., Brundin, P., Brundin, L., & Labrie, V. (2018). The vermiform appendix impacts the risk of developing Parkinson's disease. *Science Translational Medicine*, 10(465). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aar5280>
- Kim, H., Park, H. J., Choi, H., Chang, Y., Park, H., Shin, J., Kim, J., Lengner, C. J., Lee, Y. K., & Kim, J. (2019). Modeling G2019S-LRRK2 Sporadic Parkinson's Disease in 3D Midbrain Organoids. *Stem Cell Reports*, 12(3), 518-531. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.01.020>
- Kim, J., Koo, B.-K., & Knoblich, J. A. (2020). Human organoids: Model systems for human biology and medicine. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(10), 571-584. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0259-3>
- Kim, K. S., Choi, Y. R., Park, J.-Y., Lee, J.-H., Kim, D. K., Lee, S.-J., Paik, S. R., Jou, I., & Park, S. M. (2012). Proteolytic Cleavage of Extracellular α -Synuclein by Plasmin. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(30), 24862-24872. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.348128>
- Kimura, S., Noda, T., & Yoshimori, T. (2008). Dynein-dependent movement of autophagosomes mediates efficient encounters with lysosomes. *Cell Structure and Function*, 33(1), 109-122. <https://doi.org/10.1247/csf.08005>
- Kirik, D., Rosenblad, C., Burger, C., Lundberg, C., Johansen, T. E., Muzyczka, N., Mandel, R. J., & Björklund, A. (2002). Parkinson-Like Neurodegeneration Induced by Targeted Overexpression of α -Synuclein in the Nigrostriatal System. *Journal of Neuroscience*, 22(7), 2780-2791. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-07-02780.2002>
- Kirkin, V., & Rogov, V. V. (2019). A Diversity of Selective Autophagy Receptors Determines the Specificity of the Autophagy Pathway. *Molecular Cell*, 76(2), 268-285. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.09.005>
- Kitada, T., Tong, Y., Gautier, C. A., & Shen, J. (2009). Absence of nigral degeneration in aged parkin/DJ-1/PINK1 triple knockout mice. *Journal of Neurochemistry*, 111(3), 696-702. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06350.x>
- Klein, A. D., & Mazzulli, J. R. (2018). Is Parkinson's disease a lysosomal disorder? *Brain*, 141(8), 2255-2262. <https://doi.org/10.1093/brain/awy147>
- Klionsky, D. J., Abdel-Aziz, A. K., Abdelfatah, S., Abdellatif, M., Abdoli, A., Abel, S., Abeliovich, H., Abildgaard, M. H., Abudu, Y. P., Acevedo-Arozena, A., Adamopoulos, I. E., Adeli, K., Adolph, T. E., Adornetto, A., Aflaki, E., Agam, G., Agarwal, A., Aggarwal, B. B., Agnello, M., ... Tong, C.-K. (2021). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)1. *Autophagy*, 17(1), 1-382. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1797280>
- Klionsky, D. J., Abdelmohsen, K., Abe, A., Abedin, M. J., Abeliovich, H., Acevedo Arozena, A., Adachi, H., Adams, C. M., Adams, P. D., Adeli, K., Adhithetty, P. J., Adler, S. G., Agam, G., Agarwal, R., Aghi, M. K., Agnello, M., Agostinis, P., Aguilar, P. V., Aguirre-Ghisso, J., ... Zughair, S. M. (2016). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*, 12(1), 1-222. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1100356>
- Klionsky, D. J., Elazar, Z., Seglen, P. O., & Rubinshtein, D. C. (2008). Does bafilomycin A1 block the fusion of autophagosomes with lysosomes? *Autophagy*, 4(7), 849-850. <https://doi.org/10.4161/auto.6845>
- Klucken, J., Poehler, A.-M., Ebrahimi-Fakhari, D., Schneider, J., Nuber, S., Rockenstein, E., Schlötzer-Schrehardt, U., Hyman, B. T., McLean, P. J., Masliah, E., & Winkler, J. (2012). Alpha-synuclein aggregation involves a bafilomycin A1-sensitive autophagy pathway. *Autophagy*, 8(5), 754-766. <https://doi.org/10.4161/auto.19371>
- Klucken, J., Shin, Y., Masliah, E., Hyman, B. T., & McLean, P. J. (2004). Hsp70 Reduces α -Synuclein Aggregation and Toxicity*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(24), 25497-25502. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400255200>
- Kluss, J. H., Mamais, A., & Cookson, M. R. (2019). LRRK2 links genetic and sporadic Parkinson's disease. *Biochemical Society transactions*, 47(2), 651-661. <https://doi.org/10.1042/BST20180462>
- Kobe, B., & Deisenhofer, J. (1995). A structural basis of the interactions between leucine-rich repeats and protein ligands. *Nature*, 374(6518), 183-186. <https://doi.org/10.1038/374183a0>
- Kobe, B., & Kajava, A. V. (2001). The leucine-rich repeat as a protein recognition motif. *Current Opinion in Structural Biology*, 11(6), 725-732. [https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(01\)00266-4](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(01)00266-4)
- Kocaturk, N. M., & Gozuacik, D. (2018). Crosstalk Between Mammalian Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6, 128. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00128>
- Koller, E. J., Brooks, M. M. T., Golde, T. E., Giasson, B. I., & Chakrabarty, P. (2017). Inflammatory pre-conditioning restricts the seeded induction of α -synuclein pathology in wild type mice. *Molecular Neurodegeneration*, 12(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0142-z>

BIBLIOGRAPHIE

- Komatsu, M., Waguri, S., Chiba, T., Murata, S., Iwata, J., Tanida, I., Ueno, T., Koike, M., Uchiyama, Y., Kominami, E., & Tanaka, K. (2006). Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature*, 441(7095), 880-884. <https://doi.org/10.1038/nature04723>
- Kondo, K., Obitsu, S., & Teshima, R. (2011). α -Synuclein Aggregation and Transmission Are Enhanced by Leucine-Rich Repeat Kinase 2 in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(7), 1078-1083. <https://doi.org/10.1248/bpb.34.1078>
- Kontopoulos, E., Parvin, J. D., & Feany, M. B. (2006). α -synuclein acts in the nucleus to inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. *Human Molecular Genetics*, 15(20), 3012-3023. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl243>
- Kordower, J. H., Chu, Y., Hauser, R. A., Freeman, T. B., & Olanow, C. W. (2008). Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nature Medicine*, 14(5), 504-506. <https://doi.org/10.1038/nm1747>
- Kordower, J. H., Olanow, C. W., Dodiya, H. B., Chu, Y., Beach, T. G., Adler, C. H., Halliday, G. M., & Bartus, R. T. (2013). Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 136(Pt 8), 2419-2431. <https://doi.org/10.1093/brain/awt192>
- Korecka, J. A., Talbot, S., Osborn, T. M., de Leeuw, S. M., Levy, S. A., Ferrari, E. J., Moskites, A., Atkinson, E., Jodelka, F. M., Hinrich, A. J., Hastings, M. L., Woolf, C. J., Hallett, P. J., & Isacson, O. (2019). Neurite Collapse and Altered ER Ca²⁺ Control in Human Parkinson Disease Patient iPSC-Derived Neurons with LRRK2 G2019S Mutation. *Stem Cell Reports*, 12(1), 29-41. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.11.021>
- Korenić, A., Andjus, P., Radenović, L., & Spasojević, I. (2015). The role of autophagy and lipolysis in survival of astrocytes under nutrient deprivation. *Neuroscience Letters*, 595, 128-133. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.04.020>
- Korolchuk, V. I., Mansilla, A., Menzies, F. M., & Rubinsztein, D. C. (2009). Autophagy Inhibition Compromises Degradation of Ubiquitin-Proteasome Pathway Substrates. *Molecular Cell*, 33(4), 517-527. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.01.021>
- Kozina, E., Sadasivan, S., Jiao, Y., Dou, Y., Ma, Z., Tan, H., Kodali, K., Shaw, T., Peng, J., & Smeyne, R. J. (2018). Mutant LRRK2 mediates peripheral and central immune responses leading to neurodegeneration in vivo. *Brain*, 141(6), 1753-1769. <https://doi.org/10.1093/brain/awy077>
- Krüger, R., Kuhn, W., Leenders, K. L., Sprengelmeyer, R., Müller, T., Woitalla, D., Portman, A. T., Maguire, R. P., Veenma, L., Schröder, U., Schöls, L., Epplen, J. T., Riess, O., & Przuntek, H. (2001). Familial parkinsonism with synuclein pathology: Clinical and PET studies of A30P mutation carriers. *Neurology*, 56(10), 1355-1362. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.10.1355>
- Kuhlmann, N., & Milnerwood, A. J. (2020). A Critical LRRK at the Synapse? The Neurobiological Function and Pathophysiological Dysfunction of LRRK2. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00153>
- Kulkarni, A., Dong, A., Kulkarni, V. V., Chen, J., Laxton, O., Anand, A., & Maday, S. (2019). Differential regulation of autophagy during metabolic stress in astrocytes and neurons. *Autophagy*, 0(0), 1-17. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1703354>
- Kuma, A., Hatano, M., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakaya, H., Yoshimori, T., Ohsumi, Y., Tokuhisa, T., & Mizushima, N. (2004). The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 432(7020), 1032-1036. <https://doi.org/10.1038/nature03029>
- Kuma, A., Matsui, M., & Mizushima, N. (2007). LC3, an autophagosome marker, can be incorporated into protein aggregates independent of autophagy: Caution in the interpretation of LC3 localization. *Autophagy*, 3(4), 323-328. <https://doi.org/10.4161/auto.4012>
- Kuma, A., & Mizushima, N. (2010). Physiological role of autophagy as an intracellular recycling system: With an emphasis on nutrient metabolism. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21(7), 683-690. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.03.002>
- Kurowska, Z., Englund, E., Widner, H., Lindvall, O., Li, J.-Y., & Brundin, P. (2011). Signs of Degeneration in 12–22-Year Old Grafts of Mesencephalic Dopamine Neurons in Patients with Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 1(1), 83-92. <https://doi.org/10.3233/JPD-2011-11004>
- Kuwahara, T., Inoue, K., D'Agati, V. D., Fujimoto, T., Eguchi, T., Saha, S., Wolozin, B., Iwatsubo, T., & Abeliovich, A. (2016). LRRK2 and RAB7L1 coordinately regulate axonal morphology and lysosome integrity in diverse cellular contexts. *Scientific Reports*, 6(1), 29945. <https://doi.org/10.1038/srep29945>
- Kuwahara, T., Tonegawa, R., Ito, G., Mitani, S., & Iwatsubo, T. (2012). Phosphorylation of α -Synuclein Protein at Ser-129 Reduces Neuronal Dysfunction by Lowering Its Membrane Binding Property in *Caenorhabditis elegans**. *Journal of Biological Chemistry*, 287(10), 7098-7109. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.237131>
- Laguna, A., Schintu, N., Nobre, A., Alvarsson, A., Volakakis, N., Jacobsen, J. K., Gómez-Galán, M., Sopova, E., Joodmardi, E., Yoshitake, T., Deng, Q., Kehr, J., Ericson, J., Svenningsson, P., Shupliakov, O., & Perlmann, T. (2015). Dopaminergic control of autophagic-lysosomal function implicates Lmx1b in Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, 18(6), 826-835. <https://doi.org/10.1038/nn.4004>
- Lahiri, V., & Klionsky, D. J. (2019). Spatially distinct pools of TORC1 balance protein homeostasis. *Autophagy*, 15(4), 561-564. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1575162>
- Lai, Kim, & Varkey. (2015). *Nonaggregated α -synuclein influences SNARE-dependent vesicle docking via membrane binding—PubMed.* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/24884175/>
- Lan, D., Wang, W., Zhuang, J., & Zhao, Z. (2015). Proteasome inhibitor-induced autophagy in PC12 cells overexpressing A53T mutant α -synuclein. *Molecular Medicine Reports*, 11(3), 1655-1660. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.3011>
- Langston. (1983). *Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis.*
- Lastres-Becker, I., Ulusoy, A., Innamorato, N. G., Sahin, G., Rábano, A., Kirik, D., & Cuadrado, A. (2012). α -Synuclein expression and Nrf2 deficiency cooperate to aggravate protein aggregation, neuronal death and inflammation in early-stage Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, 21(14), 3173-3192. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds143>

- Lavisse, S., Goutal, S., Wimberley, C., Tonietto, M., Bottlaender, M., Gervais, P., Kuhnast, B., Peyronneau, M.-A., Barret, O., Lagarde, J., Sarazin, M., Hantraye, P., Thiriez, C., & Remy, P. (2021). Increased microglial activation in patients with Parkinson disease using [18F]-DPA714 TSPO PET imaging. *Parkinsonism & Related Disorders*, *82*, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2020.11.011>
- Law, B. M. H., Spain, V. A., Leinster, V. H. L., Chia, R., Beilina, A., Cho, H. J., Taymans, J.-M., Urban, M. K., Sancho, R. M., Ramirez, M. B., Biskup, S., Baekelandt, V., Cai, H., Cookson, M. R., Berwick, D. C., & Harvey, K. (2014). A Direct Interaction between Leucine-rich Repeat Kinase 2 and Specific β -Tubulin Isoforms Regulates Tubulin Acetylation. *The Journal of Biological Chemistry*, *289*(2), 895-908. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.507913>
- Lawrence, R. E., & Zoncu, R. (2019). The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nature Cell Biology*, *21*(2), 133-142. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0244-7>
- Lee, B. D., Shin, J.-H., VanKampen, J., Petrucelli, L., West, A. B., Ko, H. S., Lee, Y.-I., Maguire-Zeiss, K. A., Bowers, W. J., Federoff, H. J., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2010). Inhibitors of leucine-rich repeat kinase-2 protect against models of Parkinson's disease. *Nature Medicine*, *16*(9), 998-1000. <https://doi.org/10.1038/nm.2199>
- Lee, H., Flynn, R., Sharma, I., Haberman, E., Carling, P. J., Nicholls, F. J., Stegmann, M., Vowles, J., Haenseler, W., Wade-Martins, R., James, W. S., & Cowley, S. A. (2020). LRRK2 Is Recruited to Phagosomes and Co-recruits RAB8 and RAB10 in Human Pluripotent Stem Cell-Derived Macrophages. *Stem Cell Reports*, *14*(5), 940-955. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.04.001>
- Lee, H., James, W. S., & Cowley, S. A. (2017). LRRK2 in peripheral and central nervous system innate immunity: Its link to Parkinson's disease. *Biochemical Society Transactions*, *45*(1), 131-139. <https://doi.org/10.1042/BST20160262>
- Lee, H.-J., Khoshaghideh, F., Lee, S., & Lee, S.-J. (2006). Impairment of microtubule-dependent trafficking by overexpression of alpha-synuclein. *The European Journal of Neuroscience*, *24*(11), 3153-3162. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05210.x>
- Lee, H.-J., Khoshaghideh, F., Patel, S., & Lee, S.-J. (2004). Clearance of α -Synuclein Oligomeric Intermediates via the Lysosomal Degradation Pathway. *Journal of Neuroscience*, *24*(8), 1888-1896. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3809-03.2004>
- Lee, H.-J., Patel, S., & Lee, S.-J. (2005). Intravesicular Localization and Exocytosis of α -Synuclein and its Aggregates. *Journal of Neuroscience*, *25*(25), 6016-6024. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0692-05.2005>
- Lee, H.-J., Suk, J.-E., Patrick, C., Bae, E.-J., Cho, J.-H., Rho, S., Hwang, D., Maslah, E., & Lee, S.-J. (2010). Direct Transfer of α -Synuclein from Neuron to Astroglia Causes Inflammatory Responses in Synucleinopathies. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(12), 9262-9272. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.081125>
- Leiva-Rodríguez, T., Romeo-Guitart, D., Marmolejo-Martínez-Artesero, S., Herrando-Grabulosa, M., Bosch, A., Forés, J., & Casas, C. (2018). ATG5 overexpression is neuroprotective and attenuates cytoskeletal and vesicle-trafficking alterations in axotomized motoneurons. *Cell Death & Disease*, *9*(6), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0682-y>
- Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G., Leube, B., Ulm, G., Mezey, E., Harta, G., Brownstein, M. J., Jonnalagada, S., Chernova, T., Dehejia, A., Lavedan, C., Gasser, T., Steinbach, P. J., Wilkinson, K. D., & Polymeropoulos, M. H. (1998). The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature*, *395*(6701), 451-452. <https://doi.org/10.1038/26652>
- Lesage, S., Condroyer, C., Lannuzel, A., Lohmann, E., Troiano, A., Tison, F., Damier, P., Thobois, S., Ouyward-Hernandez, A.-M., Rivaud-Péchoux, S., Brefel-Courbon, C., Destée, A., Tranchant, C., Romana, M., Leclere, L., Dürr, A., Brice, A., & Group*, for the F. P. D. G. S. (2009). Molecular analyses of the LRRK2 gene in European and North African autosomal dominant Parkinson's disease. *Journal of Medical Genetics*, *46*(7), 458-464. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.062612>
- Lesage, S., Dürr, A., Tazir, M., Lohmann, E., Leutenegger, A.-L., Janin, S., Pollak, P., Brice, A., & French Parkinson's Disease Genetics Study Group. (2006). LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. *The New England Journal of Medicine*, *354*(4), 422-423. <https://doi.org/10.1056/NEJMc055540>
- Lesage, S., Ibanez, & Lohmann. (2005). G2019S LRRK2 mutation in French and North African families with Parkinson's disease. <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.insermbiblio.inist.fr/doi/epdf/10.1002/ana.20636>
- Levine, B., & Kroemer, G. (2008). Autophagy in the Pathogenesis of Disease. *Cell*, *132*(1), 27-42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>
- Lewandowsky, M. (1912). HANDBUCH DER NEUROLOGIE. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, *39*(6), 427.
- Lewis, K. A., Su, Y., Jou, O., Ritchie, C., Foong, C., Hynan, L. S., White, C. L., Thomas, P. J., & Hatanpaa, K. J. (2010). Abnormal Neurites Containing C-Terminally Truncated α -Synuclein Are Present in Alzheimer's Disease without Conventional Lewy Body Pathology. *The American Journal of Pathology*, *177*(6), 3037-3050. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.100552>
- Li, D., & Roberts, R. (2001). WD-repeat proteins: Structure characteristics, biological function, and their involvement in human diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *58*(14), 2085-2097. <https://doi.org/10.1007/pl00000838>
- Li, J.-Q., Tan, L., & Yu, J.-T. (2014). The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism. *Molecular Neurodegeneration*, *9*(1), 47. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-47>
- Li, J.-Y., Englund, E., Holton, J. L., Soulet, D., Hagell, P., Lees, A. J., Lashley, T., Quinn, N. P., Rehnacrona, S., Björklund, A., Widner, H., Revesz, T., Lindvall, O., & Brundin, P. (2008a). Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nature Medicine*, *14*(5), 501-503. <https://doi.org/10.1038/nm1746>
- Li, J.-Y., Englund, E., Holton, J. L., Soulet, D., Hagell, P., Lees, A. J., Lashley, T., Quinn, N. P., Rehnacrona, S., Björklund, A., Widner, H., Revesz, T., Lindvall, O., & Brundin, P. (2008b). Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nature Medicine*, *14*(5), 501-503. <https://doi.org/10.1038/nm1746>
- Li, W., Lesuisse, C., Xu, Y., Troncoso, J. C., Price, D. L., & Lee, M. K. (2004). Stabilization of α -Synuclein Protein with Aging and Familial Parkinson's Disease-Linked A53T Mutation. *Journal of Neuroscience*, *24*(33), 7400-7409. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1370-04.2004>
- Li, W., West, N., Colla, E., Pletnikova, O., Troncoso, J. C., Marsh, L., Dawson, T. M., Jäkälä, P., Hartmann, T., Price, D. L., & Lee, M. K. (2005). Aggregation promoting C-terminal truncation of α -synuclein is a normal cellular process and is enhanced by the familial

- Parkinson's disease-linked mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(6), 2162-2167. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406976102>
- Li, W.-W., Yang, R., Guo, J.-C., Ren, H.-M., Zha, X.-L., Cheng, J.-S., & Cai, D.-F. (2007). Localization of α -synuclein to mitochondria within midbrain of mice. *NeuroReport*, 18(15), 1543-1546. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3282f03db4>
- Li, X., Wang, Q. J., Pan, N., Lee, S., Zhao, Y., Chait, B. T., & Yue, Z. (2011). Phosphorylation-Dependent 14-3-3 Binding to LRRK2 Is Impaired by Common Mutations of Familial Parkinson's Disease. *PLOS ONE*, 6(3), e17153. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017153>
- Li, Y., Liu, W., Oo, T. F., Wang, L., Tang, Y., Jackson-Lewis, V., Zhou, C., Geghman, K., Bogdanov, M., Przedborski, S., Beal, M. F., Burke, R. E., & Li, C. (2009). Mutant LRRK2(R1441G) BAC transgenic mice recapitulate cardinal features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, 12(7), 826-828. <https://doi.org/10.1038/nn.2349>
- Liao, J., & Hoang, Q. Q. (2018). Roco Proteins and the Parkinson's Disease-Associated LRRK2. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 4074. <https://doi.org/10.3390/ijms19124074>
- Liberatore, G. T., Jackson-Lewis, V., Vukosavic, S., Mandir, A. S., Vila, M., McAuliffe, W. G., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Przedborski, S. (1999). Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. *Nature Medicine*, 5(12), 1403-1409. <https://doi.org/10.1038/70978>
- Lilienbaum, A. (2013). Relationship between the proteasomal system and autophagy. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 4(1), 1-26.
- Lill, C. M. (2016). Genetics of Parkinson's disease. *Molecular and Cellular Probes*, 30(6), 386-396. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.11.001>
- Lin, X., Parisiadou, L., Gu, X.-L., Wang, L., Shim, H., Sun, L., Xie, C., Long, C.-X., Yang, W.-J., Ding, J., Chen, Z. Z., Gallant, P. E., Tao-Cheng, J.-H., Rudow, G., Troncoso, J. C., Liu, Z., Li, Z., & Cai, H. (2009). Leucine-Rich Repeat Kinase 2 Regulates the Progression of Neuropathology Induced by Parkinson's-Disease-Related Mutant α -synuclein. *Neuron*, 64(6), 807-827. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.006>
- Lindvall, O., & Hagell, P. (2002). Role of cell therapy in Parkinson disease. *Neurosurgical Focus*, 13(5), e2. <https://doi.org/10.3171/foc.2002.13.5.3>
- Lipinski, M. M., Zheng, B., Lu, T., Yan, Z., Py, B. F., Ng, A., Xavier, R. J., Li, C., Yankner, B. A., Scherzer, C. R., & Yuan, J. (2010). Genome-wide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(32), 14164-14169. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009485107>
- Liu, G., Aliaga, L., & Cai, H. (2012). α -synuclein, LRRK2 and their interplay in Parkinson's disease. *Future Neurology*, 7(2), 145-153. <https://doi.org/10.2217/fnl.12.2>
- Liu, W. J., Ye, L., Huang, W. F., Guo, L. J., Xu, Z. G., Wu, H. L., Yang, C., & Liu, H. F. (2016). p62 links the autophagy pathway and the ubiquitin-proteasome system upon ubiquitinated protein degradation. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 21(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s11658-016-0031-z>
- Liu, W., Liu, X., Li, Y., Zhao, J., Liu, Z., Hu, Z., Wang, Y., Yao, Y., Miller, A. W., Su, B., Cookson, M. R., Li, X., & Kang, Z. (2017). LRRK2 promotes the activation of NLRC4 inflammasome during Salmonella Typhimurium infection. *The Journal of Experimental Medicine*, 214(10), 3051-3066. <https://doi.org/10.1084/jem.20170014>
- Liu, Z., Bryant, N., Kumaran, R., Beilina, A., Abeliovich, A., Cookson, M. R., & West, A. B. (2018). LRRK2 phosphorylates membrane-bound Rabs and is activated by GTP-bound Rab7L1 to promote recruitment to the trans-Golgi network. *Human Molecular Genetics*, 27(2), 385-395. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx410>
- Liu, Z., Lee, J., Krummey, S., Lu, W., Cai, H., & Lenardo, M. J. (2011). The kinase LRRK2 is a regulator of the transcription factor NFAT that modulates the severity of inflammatory bowel disease. *Nature Immunology*, 12(11), 1063-1070. <https://doi.org/10.1038/ni.2113>
- Liu, Z., Mobley, J. A., DeLucas, L. J., Kahn, R. A., & West, A. B. (2016). LRRK2 autophosphorylation enhances its GTPase activity. *The FASEB Journal*, 30(1), 336-347. <https://doi.org/10.1096/fj.15-277095>
- Liu, Z., Wang, X., Yu, Y., Li, X., Wang, T., Jiang, H., Ren, Q., Jiao, Y., Sawa, A., Moran, T., Ross, C. A., Montell, C., & Smith, W. W. (2008). A Drosophila model for LRRK2-linked parkinsonism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(7), 2693-2698. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708452105>
- Lobbestael, E., Civiero, L., De Wit, T., Taymans, J.-M., Greggio, E., & Baekelandt, V. (2016). Pharmacological LRRK2 kinase inhibition induces LRRK2 protein destabilization and proteasomal degradation. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33897>
- Lobbestael, E., Van den Haute, C., Macchi, F., Taymans, J.-M., & Baekelandt, V. (2020). Pathogenic LRRK2 requires secondary factors to induce cellular toxicity. *Bioscience Reports*, 40(10), BSR20202225. <https://doi.org/10.1042/BSR20202225>
- Lobbestael, E., Zhao, J., Rudenko, I. N., Beylina, A., Gao, F., Wetter, J., Beullens, M., Bollen, M., Cookson, M. R., Baekelandt, V., Nichols, R. J., & Taymans, J.-M. (2013). Identification of protein phosphatase 1 as a regulator of the LRRK2 phosphorylation cycle. *Biochemical Journal*, 456(1), 119-128. <https://doi.org/10.1042/BJ20121772>
- Loeb, V., Yakunin, E., Saada, A., & Sharon, R. (2010). The Transgenic Overexpression of α -Synuclein and Not Its Related Pathology Associates with Complex I Inhibition*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(10), 7334-7343. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.061051>
- Lohmann, S., Bernis, M. E., Tachu, B. J., Ziemski, A., Grigoletto, J., & Tamgüney, G. (2019). Oral and intravenous transmission of α -synuclein fibrils to mice. *Acta Neuropathologica*, 138(4), 515-533. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02037-5>
- Longo, F., Mercatelli, D., Novello, S., Arcuri, L., Brugnoli, A., Vincenzi, F., Russo, I., Berti, G., Mabrouk, O. S., Kennedy, R. T., Shimshek, D. R., Varani, K., Bubacco, L., Greggio, E., & Morari, M. (2017). Age-dependent dopamine transporter dysfunction and Serine129 phospho- α -synuclein overload in G2019S LRRK2 mice. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0426-8>

- Loria, F., Vargas, J. Y., Bousset, L., Syan, S., Salles, A., Melki, R., & Zurzolo, C. (2017). α -Synuclein transfer between neurons and astrocytes indicates that astrocytes play a role in degradation rather than in spreading. *Acta Neuropathologica*, 134(5), 789-808. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1746-2>
- Lotharius, J., & Brundin, P. (2002a). Impaired dopamine storage resulting from α -synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, 11(20), 2395-2407. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.20.2395>
- Lotharius, J., & Brundin, P. (2002b). Pathogenesis of parkinson's disease: Dopamine, vesicles and α -synuclein. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(12), 932-942. <https://doi.org/10.1038/nrn983>
- Lu, C.-S., Wu-Chou, Y.-H., van Doeselaar, M., Simons, E. J., Chang, H.-C., Breedveld, G. J., Di Fonzo, A., Chen, R.-S., Weng, Y.-H., Lai, S.-C., Oostra, B. A., & Bonifati, V. (2008). The LRRK2 Arg1628Pro variant is a risk factor for Parkinson's disease in the Chinese population. *Neurogenetics*, 9(4), 271-276. <https://doi.org/10.1007/s10048-008-0140-6>
- Lubbe, S., & Morris, H. R. (2014). Recent advances in Parkinson's disease genetics. *Journal of Neurology*, 261(2), 259-266. <https://doi.org/10.1007/s00415-013-7003-2>
- Lücke, C., Gantz, D. L., Klimtchuk, E., & Hamilton, J. A. (2006). Interactions between fatty acids and alpha-synuclein. *Journal of Lipid Research*, 47(8), 1714-1724. <https://doi.org/10.1194/jlr.M600003-JLR200>
- Lücking, C. B., Dürr, A., Bonifati, V., Vaughan, J., De Michele, G., Gasser, T., Harhangi, B. S., Meco, G., Denèfle, P., Wood, N. W., Agid, Y., Nicholl, D., Breteler, M. M. B., Oostra, B. A., De Mari, M., Marconi, R., Filla, A., Bonnet, A.-M., Broussolle, E., ... Brice, A. (2000). Association between Early-Onset Parkinson's Disease and Mutations in the Parkin Gene. *New England Journal of Medicine*, 342(21), 1560-1567. <https://doi.org/10.1056/NEJM200005253422103>
- Luk, K. C., Kehm, V., Carroll, J., Zhang, B., O'Brien, P., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2012). Pathological α -Synuclein Transmission Initiates Parkinson-like Neurodegeneration in Nontransgenic Mice. *Science*, 338(6109), 949-953. <https://doi.org/10.1126/science.1227157>
- Luk, K. C., Kehm, V. M., Zhang, B., O'Brien, P., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2012). Intracerebral inoculation of pathological α -synuclein initiates a rapidly progressive neurodegenerative α -synucleinopathy in mice. *Journal of Experimental Medicine*, 209(5), 975-986. <https://doi.org/10.1084/jem.20112457>
- Luk, K. C., Song, C., O'Brien, P., Stieber, A., Branch, J. R., Brunden, K. R., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2009). Exogenous α -synuclein fibrils seed the formation of Lewy body-like intracellular inclusions in cultured cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(47), 20051-20056. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908005106>
- Luna, E., Decker, S. C., Riddle, D. M., Caputo, A., Zhang, B., Cole, T., Caswell, C., Xie, S. X., Lee, V. M. Y., & Luk, K. C. (2018). Differential α -synuclein expression contributes to selective vulnerability of hippocampal neuron subpopulations to fibril-induced toxicity. *Acta Neuropathologica*, 135(6), 855-875. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1829-8>
- Lunati, A., Lesage, S., & Brice, A. (2018). The genetic landscape of Parkinson's disease. *Revue Neurologique*, 174(9), 628-643. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.08.004>
- Lv, Z., Hashemi, M., Banerjee, S., Zagorski, K., Rochet, J.-C., & Lyubchenko, Y. L. (2019). Assembly of α -synuclein aggregates on phospholipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1867(9), 802-812. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.06.006>
- Lynch-Day, M. A., & Klionsky, D. J. (2010). The Cvt pathway as a model for selective autophagy. *FEBS Letters*, 584(7), 1359-1366. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.02.013>
- Lynch-Day, M. A., Mao, K., Wang, K., Zhao, M., & Klionsky, D. J. (2012). The Role of Autophagy in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(4), a009357. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009357>
- Maatouk, L., Compagnion, A.-C., Sauvage, M.-A. C., Bemelmans, A.-P., Leclere-Turbant, S., Ciotteau, V., Tohme, M., Beke, A., Trichet, M., Bazin, V., Trawick, B. N., Ransohoff, R. M., Tronche, F., Manoury, B., & Vyas, S. (2018). TLR9 activation via microglial glucocorticoid receptors contributes to degeneration of midbrain dopamine neurons. *Nature Communications*, 9(1), 2450. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04569-y>
- Macdonald, R., Barnes, K., Hastings, C., & Mortiboys, H. (2018). Mitochondrial abnormalities in Parkinson's disease and Alzheimer's disease: Can mitochondria be targeted therapeutically? *Biochemical Society Transactions*, 46(4), 891-909. <https://doi.org/10.1042/BST20170501>
- Machiya, Y., Hara, S., Arawaka, S., Fukushima, S., Sato, H., Sakamoto, M., Koyama, S., & Kato, T. (2010). Phosphorylated alpha-synuclein at Ser-129 is targeted to the proteasome pathway in a ubiquitin-independent manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(52), 40732-40744. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.141952>
- Maclaasac, S., Quevedo Melo, T., Zhang, Y., Volta, M., Farrer, M. J., & Milnerwood, A. J. (2020). Neuron-autonomous susceptibility to induced synuclein aggregation is exacerbated by endogenous Lrrk2 mutations and ameliorated by Lrrk2 genetic knock-out. *Brain Communications*, 2(fcz052). <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcz052>
- Macleod, A. D., Taylor, K. S. M., & Counsell, C. E. (2014). Mortality in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders*, 29(13), 1615-1622. <https://doi.org/10.1002/mds.25898>
- MacLeod, D. A., Rhinn, H., Kuwahara, T., Zolin, A., Di Paolo, G., McCabe, B. D., Marder, K. S., Honig, L. S., Clark, L. N., Small, S. A., & Abeliovich, A. (2013). RAB7L1 Interacts with LRRK2 to Modify Intraneuronal Protein Sorting and Parkinson's Disease Risk. *Neuron*, 77(3), 425-439. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.11.033>
- MacLeod, D., Dowman, J., Hammond, R., Leete, T., Inoue, K., & Abeliovich, A. (2006). The Familial Parkinsonism Gene LRRK2 Regulates Neurite Process Morphology. *Neuron*, 52(4), 587-593. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.10.008>
- Maday, S. (2012). *Autophagosomes initiate distally and mature during transport toward the cell soma in primary neurons.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3283992/>

BIBLIOGRAPHIE

- Maday, S. (2016). Mechanisms of neuronal homeostasis: Autophagy in the axon. *Brain Research*, 1649, 143-150. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.03.047>
- Maday, S., & Holzbaur, E. L. F. (2014). Autophagosome Biogenesis in Primary Neurons Follows an Ordered and Spatially Regulated Pathway. *Developmental Cell*, 30(1), 71-85. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.06.001>
- Maday, S., & Holzbaur, E. L. F. (2016). Compartment-Specific Regulation of Autophagy in Primary Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 36(22), 5933-5945. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4401-15.2016>
- Maekawa, T., Sasaoka, T., Azuma, S., Ichikawa, T., Melrose, H. L., Farrer, M. J., & Obata, F. (2016). Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) regulates α -synuclein clearance in microglia. *BMC Neuroscience*, 17(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0315-2>
- Mahul-Mellier, A.-L., Burtscher, J., Maharjan, N., Weerens, L., Croisier, M., Kuttler, F., Leleu, M., Knott, G. W., & Lashuel, H. A. (2020). The process of Lewy body formation, rather than simply α -synuclein fibrillization, is one of the major drivers of neurodegeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(9), 4971-4982. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913904117>
- Maio, R. D., Barrett, P. J., Hoffman, E. K., Barrett, C. W., Zharikov, A., Borah, A., Hu, X., McCoy, J., Chu, C. T., Burton, E. A., Hastings, T. G., & Greenamyre, J. T. (2016). α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease. *Science Translational Medicine*, 8(342), 342ra78-342ra78. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf3634>
- Maiuri, M. C., Zalckvar, E., Kimchi, A., & Kroemer, G. (2007). Self-eating and self-killing: Crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 8(9), 741-752. <https://doi.org/10.1038/nrm2239>
- Mamais, A., Chia, R., Beilina, A., Hauser, D. N., Hall, C., Lewis, P. A., Cookson, M. R., & Bandopadhyay, R. (2014). Arsenite Stress Down-regulates Phosphorylation and 14-3-3 Binding of Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2), Promoting Self-association and Cellular Redistribution*. *Journal of Biological Chemistry*, 289(31), 21386-21400. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.528463>
- Mamais, A., Manzoni, C., Nazish, I., Arber, C., Sonustun, B., Wray, S., Warner, T. T., Cookson, M. R., Lewis, P. A., & Bandopadhyay, R. (2018). Analysis of macroautophagy related proteins in G2019S LRRK2 Parkinson's disease brains with Lewy body pathology. *Brain Research*, 1701, 75-84. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.07.023>
- Mamais, A., Raja, M., Manzoni, C., Dihanich, S., Lees, A., Moore, D., Lewis, P. A., & Bandopadhyay, R. (2013). Divergent α -synuclein solubility and aggregation properties in G2019S LRRK2 Parkinson's disease brains with Lewy Body pathology compared to idiopathic cases. *Neurobiology of Disease*, 58, 183-190. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.05.017>
- Mandler, M., Valera, E., Rockenstein, E., Weninger, H., Patrick, C., Adame, A., Santic, R., Meindl, S., Vigl, B., Smrzka, O., Schneeberger, A., Mattner, F., & Masliah, E. (2014). Next-generation active immunization approach for synucleinopathies: Implications for Parkinson's disease clinical trials. *Acta Neuropathologica*, 127(6), 861-879. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1256-4>
- Manning-Bog, A. B., McCormack, A. L., Li, J., Uversky, V. N., Fink, A. L., & Di Monte, D. A. (2002). The Herbicide Paraquat Causes Up-regulation and Aggregation of α -Synuclein in Mice: PARAQUAT AND α -SYNUCLEIN*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(3), 1641-1644. <https://doi.org/10.1074/jbc.C100560200>
- Manzoni, C., Mamais, A., Dihanich, S., Abeti, R., Soutar, M. P. M., Plun-Favreau, H., Giunti, P., Tooze, S. A., Bandopadhyay, R., & Lewis, P. A. (2013). Inhibition of LRRK2 kinase activity stimulates macroautophagy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1833(12), 2900-2910. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.07.020>
- Manzoni, C., Mamais, A., Roosen, D. A., Dihanich, S., Soutar, M. P. M., Plun-Favreau, H., Bandopadhyay, R., Hardy, J., Tooze, S. A., Cookson, M. R., & Lewis, P. A. (2016). MTOR independent regulation of macroautophagy by Leucine Rich Repeat Kinase 2 via Beclin-1. *Scientific Reports*, 6(1), 35106. <https://doi.org/10.1038/srep35106>
- Mao, X., Ou, M. T., Karuppagounder, S. S., Kam, T.-I., Yin, X., Xiong, Y., Ge, P., Umanah, G. E., Brahmachari, S., Shin, J.-H., Kang, H. C., Zhang, J., Xu, J., Chen, R., Park, H., Andrabi, S. A., Kang, S. U., Gonçalves, R. A., Liang, Y., ... Dawson, T. M. (2016). Pathological α -synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3. *Science (New York, N.Y.)*, 353(6307). <https://doi.org/10.1126/science.aah3374>
- Maraganore, D. M., de Andrade, M., Elbaz, A., Farrer, M. J., Ioannidis, J. P., Krüger, R., Rocca, W. A., Schneider, N. K., Lesnick, T. G., Lincoln, S. J., Hulihan, M. M., Aasly, J. O., Ashizawa, T., Chartier-Harlin, M.-C., Checkoway, H., Ferrarese, C., Hadjigeorgiou, G., Hattori, N., Kawakami, H., ... Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease (GEO-PD) Consortium. (2006). Collaborative analysis of alpha-synuclein gene promoter variability and Parkinson disease. *JAMA*, 296(6), 661-670. <https://doi.org/10.1001/jama.296.6.661>
- Marchand, A., Drouyer, M., Sarchione, A., Chartier-Harlin, M.-C., & Taymans, J.-M. (2020). LRRK2 Phosphorylation, More Than an Epiphenomenon. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 527. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00527>
- Markopoulou, K., Dickson, D. W., McComb, R. D., Wszolek, Z. K., Katechalidou, L., Avery, L., Stansbury, M. S., & Chase, B. A. (2008). Clinical, neuropathological and genotypic variability in SNCA A53T familial Parkinson's disease. Variability in familial Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica*, 116(1), 25-35. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0372-4>
- Maroteaux, L., Campanelli, J. T., & Scheller, R. H. (1988). Synuclein: A neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 8(8), 2804-2815.
- Marras, C., Schüle, B., Schuele, B., Munhoz, R. P., Rogaeva, E., Langston, J. W., Kasten, M., Meaney, C., Klein, C., Wadia, P. M., Lim, S.-Y., Chuang, R. S.-I., Zadikof, C., Steeves, T., Prakash, K. M., de Bie, R. M. A., Adeli, G., Thomsen, T., Johansen, K. K., ... Lang, A. E. (2011). Phenotype in parkinsonian and nonparkinsonian LRRK2 G2019S mutation carriers. *Neurology*, 77(4), 325-333. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318227042d>
- Martens, S. (2016). No ATG8s, no problem? How LC3/GABARAP proteins contribute to autophagy. *The Journal of Cell Biology*, 215(6), 761-763. <https://doi.org/10.1083/jcb.201611116>

- Martin, L. J., Pan, Y., Price, A. C., Sterling, W., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Price, D. L., & Lee, M. K. (2006a). Parkinson's Disease α -Synuclein Transgenic Mice Develop Neuronal Mitochondrial Degeneration and Cell Death. *Journal of Neuroscience*, 26(1), 41-50. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4308-05.2006>
- Martin, L. J., Pan, Y., Price, A. C., Sterling, W., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Price, D. L., & Lee, M. K. (2006b). Parkinson's Disease α -Synuclein Transgenic Mice Develop Neuronal Mitochondrial Degeneration and Cell Death. *Journal of Neuroscience*, 26(1), 41-50. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4308-05.2006>
- Martinez, B. A., Caldwell, K. A., & Caldwell, G. A. (2017). C. elegans as a model system to accelerate discovery for Parkinson disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 44, 102-109. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2017.02.011>
- Martínez-Martín, P., Tolosa, E., Hernández, B., Badia, X., & Group, on behalf of the S. W. S. (2007). The Patient Card Questionnaire to Identify Wearing-off in Parkinson Disease. *Clinical Neuropharmacology*, 30(5), 266-275. <https://doi.org/10.1097/wnf.0b013e3180413da7>
- Martinez-Vicente, M., Taloczy, Z., Kaushik, S., Massey, A. C., Mazzulli, J., Mosharov, E. V., Hodara, R., Fredenburg, R., Wu, D.-C., Follenzi, A., Dauer, W., Przedborski, S., Ischiropoulos, H., Lansbury, P. T., Sulzer, D., & Cuervo, A. M. (2008). Dopamine-modified α -synuclein blocks chaperone-mediated autophagy. *Journal of Clinical Investigation*, JCI32806. <https://doi.org/10.1172/JCI32806>
- Martini-Stoica, H., Xu, Y., Ballabio, A., & Zheng, H. (2016). The Autophagy-Lysosomal Pathway in Neurodegeneration: A TFEB Perspective. *Trends in Neurosciences*, 39(4), 221-234. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.02.002>
- Masilamoni, G. J., & Smith, Y. (2018). Chronic MPTP administration regimen in monkeys: A model of dopaminergic and non-dopaminergic cell loss in Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 125(3), 337-363. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1774-z>
- Masliah, E., Rockenstein, E., Veinbergs, I., Mallory, M., Hashimoto, M., Takeda, A., Sagara, Y., Sisk, A., & Mucke, L. (2000). Dopaminergic Loss and Inclusion Body Formation in α -Synuclein Mice: Implications for Neurodegenerative Disorders. *Science*, 287(5456), 1265-1269. <https://doi.org/10.1126/science.287.5456.1265>
- Massey, A. C., Kaushik, S., Sovak, G., Kiffin, R., & Cuervo, A. M. (2006). Consequences of the selective blockage of chaperone-mediated autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(15), 5805-5810. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507436103>
- Masson, J.-D., Blanchet, B., Periou, B., Authier, F.-J., Mograbi, B., Gherardi, R. K., & Crépeaux, G. (2020). Long Term Pharmacological Perturbation of Autophagy in Mice: Are HCQ Injections a Relevant Choice? *Biomedicines*, 8(3), 47. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8030047>
- Masuda-Suzukake, M., Nonaka, T., Hosokawa, M., Oikawa, T., Arai, T., Akiyama, H., Mann, D. M. A., & Hasegawa, M. (2013). Prion-like spreading of pathological α -synuclein in brain. *Brain*, 136(4), 1128-1138. <https://doi.org/10.1093/brain/awt037>
- Mata, I. F., Kachergus, J. M., Taylor, J. P., Lincoln, S., Aasly, J., Lynch, T., Hulihan, M. M., Cobb, S. A., Wu, R.-M., Lu, C.-S., Lahoz, C., Wszolek, Z. K., & Farrer, M. J. (2005). Lrrk2 pathogenic substitutions in Parkinson's disease. *Neurogenetics*, 6(4), 171-177. <https://doi.org/10.1007/s10048-005-0005-1>
- Matikainen-Ankney, B. A., Kezunovic, N., Mesias, R. E., Tian, Y., Williams, F. M., Huntley, G. W., & Benson, D. L. (2016). Altered Development of Synapse Structure and Function in Striatum Caused by Parkinson's Disease-Linked LRRK2-G2019S Mutation. *Journal of Neuroscience*, 36(27), 7128-7141. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3314-15.2016>
- Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C. A., Sou, Y.-S., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., & Tanaka, K. (2010). PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *The Journal of Cell Biology*, 189(2), 211-221. <https://doi.org/10.1083/jcb.200910140>
- Matsuda, S., Kitagishi, Y., & Kobayashi, M. (2013). Function and Characteristics of PINK1 in Mitochondria. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, e601587. <https://doi.org/10.1155/2013/601587>
- Matsunaga, K., Saitoh, T., Tabata, K., Omori, H., Satoh, T., Kurotori, N., Maejima, I., Shirahama-Noda, K., Ichimura, T., Isobe, T., Akira, S., Noda, T., & Yoshimori, T. (2009). Two Beclin 1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nature Cell Biology*, 11(4), 385-396. <https://doi.org/10.1038/ncb1846>
- Matta, S., Van Kolen, K., da Cunha, R., van den Bogaart, G., Mandemakers, W., Miskiewicz, K., De Bock, P.-J., Morais, V. A., Vilain, S., Haddad, D., Delbroek, L., Swerts, J., Chávez-Gutiérrez, L., Esposito, G., Daneels, G., Karran, E., Holt, M., Gevaert, K., Moechars, D. W., ... Verstreken, P. (2012). LRRK2 Controls an EndoA Phosphorylation Cycle in Synaptic Endocytosis. *Neuron*, 75(6), 1008-1021. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.022>
- Mauthe, M., Orhon, I., Rocchi, C., Zhou, X., Luhr, M., Hijlkema, K.-J., Coppes, R. P., Engedal, N., Mari, M., & Reggiori, F. (2018). Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, 14(8), 1435-1455. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474314>
- Mazzulli, J. R., Zunke, F., Tsunemi, T., Toker, N. J., Jeon, S., Burbulla, L. F., Patnaik, S., Sidransky, E., Marugan, J. J., Sue, C. M., & Krainc, D. (2016). Activation of β -Glucocerebrosidase Reduces Pathological α -Synuclein and Restores Lysosomal Function in Parkinson's Patient Midbrain Neurons. *Journal of Neuroscience*, 36(29), 7693-7706. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0628-16.2016>
- Mbefo, M. K., Paleologou, K. E., Boucharaba, A., Oueslati, A., Schell, H., Fournier, M., Olschewski, D., Yin, G., Zweckstetter, M., Masliah, E., Kahle, P. J., Hirling, H., & Lashuel, H. A. (2010). Phosphorylation of Synucleins by Members of the Polo-like Kinase Family*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(4), 2807-2822. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.081950>
- McCaffrey, K., & Braakman, I. (2016). Protein quality control at the endoplasmic reticulum. *Essays in Biochemistry*, 60(2), 227-235. <https://doi.org/10.1042/EBC20160003>
- McCoy, M. K., & Cookson, M. R. (2011). DJ-1 regulation of mitochondrial function and autophagy through oxidative stress. *Autophagy*, 7(5), 531-532. <https://doi.org/10.4161/auto.7.5.14684>
- McFarland, M. A., Ellis, C. E., Markey, S. P., & Nussbaum, R. L. (2008). Proteomics Analysis Identifies Phosphorylation-dependent α -Synuclein Protein Interactions. *Molecular & Cellular Proteomics*, 7(11), 2123-2137. <https://doi.org/10.1074/mcp.M800116-MCP200>

BIBLIOGRAPHIE

- McGeer, P. L., Itagaki, S., Akiyama, H., & McGeer, E. G. (1988). Rate of cell death in parkinsonism indicates active neuropathological process. *Annals of Neurology*, 24(4), 574-576. <https://doi.org/10.1002/ana.410240415>
- McGlinchey, R. P., & Lee, J. C. (2015). Cysteine cathepsins are essential in lysosomal degradation of α -synuclein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(30), 9322-9327. <https://doi.org/10.1073/pnas.1500937112>
- McNaught, K. S. P., Mytilineou, C., Jnobaptiste, R., Yabut, J., Shashidharan, P., Jennert, P., & Olanow, C. W. (2002). Impairment of the ubiquitin-proteasome system causes dopaminergic cell death and inclusion body formation in ventral mesencephalic cultures. *Journal of Neurochemistry*, 81(2), 301-306. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00821.x>
- Mehta, S. H., & Sethi, K. D. (2011). Learning PD from the lark. *Movement Disorders*, 26(12), 2178-2178. <https://doi.org/10.1002/mds.23979>
- Meixner, A., Boldt, K., Van Troys, M., Askenazi, M., Gloeckner, C. J., Bauer, M., Marto, J. A., Ampe, C., Kinkl, N., & Ueffing, M. (2011). A QUICK Screen for Lrrk2 Interaction Partners – Leucine-rich Repeat Kinase 2 is Involved in Actin Cytoskeleton Dynamics*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 10(1), M110.001172. <https://doi.org/10.1074/mcp.M110.001172>
- Melki, R. (2015). Role of Different Alpha-Synuclein Strains in Synucleinopathies, Similarities with other Neurodegenerative Diseases. *Journal of Parkinson's Disease*, 5(2), 217-227. <https://doi.org/10.3233/JPD-150543>
- Melki, R. (2018). Alpha-synuclein and the prion hypothesis in Parkinson's disease. *Revue Neurologique*, 174(9), 644-652. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.08.002>
- Mendes, A., Gonçalves, A., Vila-Chã, N., Moreira, I., Fernandes, J., Damásio, J., Teixeira-Pinto, A., Taipa, R., Lima, A. B., & Cavaco, S. (2015). Appendectomy may delay Parkinson's disease Onset. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 30(10), 1404-1407. <https://doi.org/10.1002/mds.26311>
- Mensah, P. L. (1982). An electron microscopical study of neuronal cell clustering in postnatal mouse striatum, with special emphasis on neuronal cell death. *Anatomy and Embryology*, 164(3), 387-401. <https://doi.org/10.1007/BF00315760>
- Mezey, E., Dehejia, A., Harta, G., Papp, M. I., Polymeropoulos, M. H., & Brownstein, M. J. (1998). Alpha synuclein in neurodegenerative disorders: Murderer or accomplice? *Nature Medicine*, 4(7), 755-757. <https://doi.org/10.1038/nm0798-755>
- Michel, P. P., Hirsch, E. C., & Hunot, S. (2016). Understanding Dopaminergic Cell Death Pathways in Parkinson Disease. *Neuron*, 90(4), 675-691. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.038>
- Migheli, R., Giudice, M. G. D., Spissu, Y., Sanna, G., Xiong, Y., Dawson, T. M., Dawson, V. L., Galioto, M., Rocchitta, G., Biosa, A., Serra, P. A., Carri, M. T., Crosio, C., & Iaccarino, C. (2013). LRRK2 Affects Vesicle Trafficking, Neurotransmitter Extracellular Level and Membrane Receptor Localization. *PLOS ONE*, 8(10), e77198. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077198>
- Mijaljica, D., Prescott, M., & Devenish, R. J. (2011). Microautophagy in mammalian cells: Revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy*, 7(7), 673-682. <https://doi.org/10.4161/auto.7.7.14733>
- Miklossy, J., Arai, T., Guo, J.-P., Klegeris, A., Yu, S., McGeer, E. G., & McGeer, P. L. (2006). LRRK2 Expression in Normal and Pathologic Human Brain and in Human Cell Lines. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(10), 953-963. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000235121.98052.54>
- Miller, D. B., & O'Callaghan, J. P. (2015). Biomarkers of Parkinson's disease: Present and future. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(3), S40-S46. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.030>
- Mir, R., Tonelli, F., Lis, P., Macartney, T., Polinski, N. K., Martinez, T. N., Chou, M.-Y., Howden, A. J. M., König, T., Hotzy, C., Milenkovic, I., Brücke, T., Zimprich, A., Sammler, E., & Alessi, D. R. (2018). The Parkinson's disease VPS35[D620N] mutation enhances LRRK2-mediated Rab protein phosphorylation in mouse and human. *Biochemical Journal*, 475(11), 1861-1883. <https://doi.org/10.1042/BCJ20180248>
- Mizuno, Y., Ohta, S., Tanaka, M., Takamiya, S., Suzuki, K., Sato, T., Oya, H., Ozawa, T., & Kagawa, Y. (1989). Deficiencies in complex I subunits of the respiratory chain in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 163(3), 1450-1455. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)91141-8](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)91141-8)
- Mizushima, N., & Klionsky, D. J. (2007). Protein Turnover Via Autophagy: Implications for Metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 27(1), 19-40. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093749>
- Mizushima, N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, Y., Ishii, T., George, M. D., Klionsky, D. J., Ohsumi, M., & Ohsumi, Y. (1998). A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*, 395(6700), 395-398. <https://doi.org/10.1038/26506>
- Mizushima, N., Yamamoto, A., Hatano, M., Kobayashi, Y., Kabeya, Y., Suzuki, K., Tokuhisa, T., Ohsumi, Y., & Yoshimori, T. (2001). Dissection of Autophagosome Formation Using Apg5-Deficient Mouse Embryonic Stem Cells. *Journal of Cell Biology*, 152(4), 657-668. <https://doi.org/10.1083/jcb.152.4.657>
- Mizushima, N., Yamamoto, A., Matsui, M., Yoshimori, T., & Ohsumi, Y. (2004). In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Molecular Biology of the Cell*, 15(3), 1101-1111. <https://doi.org/10.1091/mbc.e03-09-0704>
- Mizushima, N., Yoshimori, T., & Levine, B. (2010). Methods in Mammalian Autophagy Research. *Cell*, 140(3), 313-326. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.028>
- Mizushima, N., Yoshimori, T., & Ohsumi, Y. (2003). Role of the Apg12 conjugation system in mammalian autophagy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35(5), 553-561. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(02\)00343-6](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00343-6)
- Modamio, J., Saraiva, C., Giro, G. G., Nickels, S. L., Jarazo, J., Antony, P., Barbuti, P., Hadler, R., Jäger, C., Krüger, R., Glaab, E., & Schwamborn, J. C. (2021). Synaptic decline precedes dopaminergic neuronal loss in human midbrain organoids harboring a triplication of the SNCA gene. *BioRxiv*, 2021.07.15.452499. <https://doi.org/10.1101/2021.07.15.452499>
- Moehle, M. S., & West, A. B. (2015). M1 and M2 immune activation in Parkinson's Disease: Foe and ally? *Neuroscience*, 302, 59-73. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.018>

- Mogi, M., Harada, M., Kondo, T., Riederer, P., Inagaki, H., Minami, M., & Nagatsu, T. (1994). Interleukin-1 β , interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor- α are elevated in the brain from parkinsonian patients. *Neuroscience Letters*, *180*(2), 147-150. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90508-8](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90508-8)
- Mogi, M., Harada, M., Narabayashi, H., Inagaki, H., Minami, M., & Nagatsu, T. (1996). Interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 and transforming growth factor- α levels are elevated in ventricular cerebrospinal fluid in juvenile parkinsonism and Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, *211*(1), 13-16. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)12706-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12706-3)
- Mohamed, N.-V., Sirois, J., Ramamurthy, J., Mathur, M., Lépine, P., Deneault, E., Maussion, G., Nicouleau, M., Chen, C. X.-Q., Abdian, N., Soubannier, V., Cai, E., Nami, H., Thomas, R. A., Tabatabaei, M., Beitel, L. K., Dolt, K. S., Karamchandani, J., Kunath, T., ... Durcan, T. M. (2021). Midbrain organoids with an SNCA gene triplication model key features of synucleinopathy. *BioRxiv*, 2021.04.12.439480. <https://doi.org/10.1101/2021.04.12.439480>
- Moisan. (s. d.). *Article—Bulletin épidémiologique hebdomadaire*. Consulté 13 janvier 2021, à l'adresse http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2018/8-9/2018_8-9_1.html
- Möller, J. C., Rissling, I., Mylius, V., Höft, C., Eggert, K. M., & Oertel, W. H. (2008). The prevalence of the G2019S and R1441C/G/H mutations in LRRK2 in German patients with Parkinson's disease. *European Journal of Neurology*, *15*(7), 743-745. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02154.x>
- Moon, H., & Paek, S. (2015). Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Experimental neurobiology*. <https://doi.org/10.5607/en.2015.24.2.103>
- Moors, T. E., Paciotti, S., Ingrassia, A., Quadri, M., Breedveld, G., Tasegian, A., Chiasserini, D., Eusebi, P., Duran-Pacheco, G., Kremer, T., Calabresi, P., Bonifati, V., Parnetti, L., Beccari, T., & van de Berg, W. D. J. (2019). Characterization of Brain Lysosomal Activities in GBA-Related and Sporadic Parkinson's Disease and Dementia with Lewy Bodies. *Molecular Neurobiology*, *56*(2), 1344-1355. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1090-0>
- Mor, D. E., Tsika, E., Mazzulli, J. R., Gould, N. S., Kim, H., Daniels, M. J., Doshi, S., Gupta, P., Grossman, J. L., Tan, V. X., Kalb, R. G., Caldwell, K. A., Caldwell, G. A., Wolfe, J. H., & Ischiropoulos, H. (2017). Dopamine induces soluble α -synuclein oligomers and nigrostriatal degeneration. *Nature Neuroscience*, *20*(11), 1560-1568. <https://doi.org/10.1038/nn.4641>
- Moreau, C., Duce, J. A., Rascol, O., Devedjian, J.-C., Berg, D., Dexter, D., Cabantchik, Z. I., Bush, A. I., & Devos, D. (2018). Iron as a therapeutic target for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *33*(4), 568-574. <https://doi.org/10.1002/mds.27275>
- Mortiboys, H., Furnston, R., Bronstad, G., Aasly, J., Elliott, C., & Bandmann, O. (2015). UDCA exerts beneficial effect on mitochondrial dysfunction in LRRK2G2019S carriers and in vivo. *Neurology*, *85*(10), 846-852. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001905>
- Mortiboys, H., Johansen, K. K., Aasly, J. O., & Bandmann, O. (2010). Mitochondrial impairment in patients with Parkinson disease with the G2019S mutation in LRRK2. *Neurology*, *75*(22), 2017-2020. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181ff9685>
- Moscat, J., & Diaz-Meco, M. T. (2009). P62 at the Crossroads of Autophagy, Apoptosis, and Cancer. *Cell*, *137*(6), 1001-1004. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.023>
- Muda, K., Bertinetti, D., Gesellchen, F., Hermann, J. S., Zweydorf, F. von, Geerlof, A., Jacob, A., Ueffing, M., Gloeckner, C. J., & Herberg, F. W. (2014). Parkinson-related LRRK2 mutation R1441C/G/H impairs PKA phosphorylation of LRRK2 and disrupts its interaction with 14-3-3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(1), E34-E43. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312701111>
- Mullin, S., Smith, L., Lee, K., D'Souza, G., Woodgate, P., Elflein, J., Hällqvist, J., Toffoli, M., Streeter, A., Hosking, J., Heywood, W. E., Khengar, R., Campbell, P., Hehir, J., Cable, S., Mills, K., Zetterberg, H., Limousin, P., Libri, V., ... Schapira, A. H. V. (2020). Amboxol for the Treatment of Patients With Parkinson Disease With and Without Glucocerebrosidase Gene Mutations: A Nonrandomized, Noncontrolled Trial. *JAMA Neurology*, *77*(4), 427-434. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.4611>
- Münch, G., Lüth, H. J., Wong, A., Arendt, Th., Hirsch, E., Ravid, R., & Riederer, P. (2000). Crosslinking of α -synuclein by advanced glycation endproducts—An early pathophysiological step in Lewy body formation? *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *20*(3), 253-257. [https://doi.org/10.1016/S0891-0618\(00\)00096-X](https://doi.org/10.1016/S0891-0618(00)00096-X)
- Murphy, D. D., Rueter, S. M., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2000). Synucleins Are Developmentally Expressed, and α -Synuclein Regulates the Size of the Presynaptic Vesicular Pool in Primary Hippocampal Neurons. *Journal of Neuroscience*, *20*(9), 3214-3220. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-09-03214.2000>
- Murray, I. V. J., Giasson, B. I., Quinn, S. M., Koppaka, V., Axelsen, P. H., Ischiropoulos, H., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2003). Role of α -Synuclein Carboxy-Terminus on Fibril Formation in Vitro. *Biochemistry*, *42*(28), 8530-8540. <https://doi.org/10.1021/bi027363r>
- Nair-Roberts. (2008). *Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2575227/>
- Nakajo, S., Shioda, S., Nakai, Y., & Nakaya, K. (1994). Localization of phosphonucleoprotein 14 (PNP 14) and its mRNA expression in rat brain determined by immunocytochemistry and in situ hybridization. *Brain Research. Molecular Brain Research*, *27*(1), 81-86. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(94\)90187-2](https://doi.org/10.1016/0169-328x(94)90187-2)
- Nakajo, S., Tsukada, K., Omata, K., Nakamura, Y., & Nakaya, K. (1993). A new brain-specific 14-kDa protein is a phosphoprotein. Its complete amino acid sequence and evidence for phosphorylation. *European Journal of Biochemistry*, *217*(3), 1057-1063. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18337.x>
- Nakamura, K., Nemani, V. M., Azarbal, F., Skibinski, G., Levy, J. M., Egami, K., Munishkina, L., Zhang, J., Gardner, B., Wakabayashi, J., Sesaki, H., Cheng, Y., Finkbeiner, S., Nussbaum, R. L., Masliah, E., & Edwards, R. H. (2011). Direct Membrane Association Drives Mitochondrial Fission by the Parkinson Disease-associated Protein α -Synuclein \ast \blacklozenge . *Journal of Biological Chemistry*, *286*(23), 20710-20726. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.213538>

BIBLIOGRAPHIE

- Nakamura, K., Nemani, V. M., Wallender, E. K., Kaehle, K., Ott, M., & Edwards, R. H. (2008). Optical Reporters for the Conformation of α -Synuclein Reveal a Specific Interaction with Mitochondria. *Journal of Neuroscience*, *28*(47), 12305-12317. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3088-08.2008>
- Nakamura, T., Yamashita, H., Takahashi, T., & Nakamura, S. (2001). Activated Fyn Phosphorylates α -Synuclein at Tyrosine Residue 125. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *280*(4), 1085-1092. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.4253>
- Nalls, M. A., Blauwendraat, C., Vallerger, C. L., Heilbron, K., Bandres-Ciga, S., Chang, D., Tan, M., Kia, D. A., Noyce, A. J., Xue, A., Bras, J., Young, E., Coelln, R. von, Simón-Sánchez, J., Schulte, C., Sharma, M., Krohn, L., Pihlstrom, L., Siitonen, A., ... Consortium, for the I. P. D. G. (2018). Parkinson's disease genetics: Identifying novel risk loci, providing causal insights and improving estimates of heritable risk. *BioRxiv*, 388165. <https://doi.org/10.1101/388165>
- Nalls, M. A., Blauwendraat, C., Vallerger, C. L., Heilbron, K., Bandres-Ciga, S., Chang, D., Tan, M., Kia, D. A., Noyce, A. J., Xue, A., Bras, J., Young, E., von Coelln, R., Simón-Sánchez, J., Schulte, C., Sharma, M., Krohn, L., Pihlstrøm, L., Siitonen, A., ... International Parkinson's Disease Genomics Consortium. (2019). Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: A meta-analysis of genome-wide association studies. *The Lancet. Neurology*, *18*(12), 1091-1102. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30320-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30320-5)
- Nalls, M. A., Pankratz, N., Lill, C. M., Do, C. B., Hernandez, D. G., Saad, M., DeStefano, A. L., Kara, E., Bras, J., Sharma, M., Schulte, C., Keller, M. F., Arepalli, S., Letson, C., Edsall, C., Stefansson, H., Liu, X., Pliner, H., Lee, J. H., ... Singleton, A. B. (2014). Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nature Genetics*, *46*(9), 989-993. <https://doi.org/10.1038/ng.3043>
- Nam, D., Kim, A., Han, S. J., Lee, S.-I., Park, S.-H., Seol, W., Son, I., & Ho, D. H. (2021). Analysis of α -synuclein levels related to LRRK2 kinase activity: From substantia nigra to urine of patients with Parkinson's disease. *Animal Cells and Systems*, *25*(1), 28-36. <https://doi.org/10.1080/19768354.2021.1883735>
- Nam, T., Han, J. H., Devkota, S., & Lee, H.-W. (2017). Emerging Paradigm of Crosstalk between Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System. *Molecules and Cells*, *40*(12), 897-905. <https://doi.org/10.14348/molcells.2017.0226>
- Narendra, D. P., Jin, S. M., Tanaka, A., Suen, D.-F., Gautier, C. A., Shen, J., Cookson, M. R., & Youle, R. J. (2010). PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biology*, *8*(1), e1000298. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000298>
- Narendra, D., Tanaka, A., Suen, D.-F., & Youle, R. J. (2008). Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of Cell Biology*, *183*(5), 795-803. <https://doi.org/10.1083/jcb.200809125>
- Narhi, L., Wood, S. J., Steavenson, S., Jiang, Y., Wu, G. M., Anafi, D., Kaufman, S. A., Martin, F., Sitney, K., Denis, P., Louis, J.-C., Wypych, J., Biere, A. L., & Citron, M. (1999). Both Familial Parkinson's Disease Mutations Accelerate α -Synuclein Aggregation*. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(14), 9843-9846. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9843>
- Nascimento-Ferreira, I., Santos-Ferreira, T., Sousa-Ferreira, L., Auregan, G., Onofre, I., Alves, S., Dufour, N., Colomer Gould, V. F., Koeppen, A., Déglon, N., & Pereira de Almeida, L. (2011). Overexpression of the autophagic beclin-1 protein clears mutant ataxin-3 and alleviates Machado-Joseph disease. *Brain: A Journal of Neurology*, *134*(Pt 5), 1400-1415. <https://doi.org/10.1093/brain/awr047>
- Nash, Y., Schmukler, E., Trudler, D., Pinkas-Kramarski, R., & Frenkel, D. (2017). DJ-1 deficiency impairs autophagy and reduces alpha-synuclein phagocytosis by microglia. *Journal of Neurochemistry*, *143*(5), 584-594. <https://doi.org/10.1111/jnc.14222>
- Neil, J. F., Glew, R. H., & Peters, S. P. (1979). Familial Psychosis and Diverse Neurologic Abnormalities in Adult-Onset Gaucher's Disease. *Archives of Neurology*, *36*(2), 95-99. <https://doi.org/10.1001/archneur.1979.00500380065007>
- Nemani, V. M., Lu, W., Berge, V., Nakamura, K., Onoa, B., Lee, M. K., Chaudhry, F. A., Nicoll, R. A., & Edwards, R. H. (2010). Increased Expression of α -Synuclein Reduces Neurotransmitter Release by Inhibiting Synaptic Vesicle Reclustering after Endocytosis. *Neuron*, *65*(1), 66-79. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.023>
- Neumann, M., Müller, V., Kretschmar, H. A., Haass, C., & Kahle, P. J. (2004). Regional Distribution of Proteinase K-Resistant α -Synuclein Correlates with Lewy Body Disease Stage. *Journal of Neuro pathology & Experimental Neurology*, *63*(12), 1225-1235. <https://doi.org/10.1093/jnen/63.12.1225>
- Ngolab, J., Trinh, I., Rockenstein, E., Mante, M., Florio, J., Trejo, M., Masliah, D., Adame, A., Masliah, E., & Rissman, R. A. (2017). Brain-derived exosomes from dementia with Lewy bodies propagate α -synuclein pathology. *Acta Neuropathologica Communications*, *5*(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0445-5>
- Nguyen, H. N., Byers, B., Cord, B., Shcheglovitov, A., Byrne, J., Gujar, P., Kee, K., Schüle, B., Dolmetsch, R. E., Langston, W., Palmer, T. D., & Pera, R. R. (2011). LRRK2 Mutant iPSC-Derived DA Neurons Demonstrate Increased Susceptibility to Oxidative Stress. *Cell Stem Cell*, *8*(3), 267-280. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.01.013>
- Nguyen, M., & Krainc, D. (2018). LRRK2 phosphorylation of auxilin mediates synaptic defects in dopaminergic neurons from patients with Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(21), 5576-5581. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717590115>
- Nichols, R. J. (2017). LRRK2 Phosphorylation. In H. J. Rideout (Ed.), *Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2)* (p. 51-70). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49969-7_3
- Nichols, R. J., Dzamko, N., Morrice, N. A., Campbell, D. G., Deak, M., Ordureau, A., Macartney, T., Tong, Y., Shen, J., Prescott, A. R., & Alessi, D. R. (2010). 14-3-3 binding to LRRK2 is disrupted by multiple Parkinson's disease-associated mutations and regulates cytoplasmic localization. *Biochemical Journal*, *430*(3), 393-404. <https://doi.org/10.1042/BJ20100483>
- Nichols, W. C., Pankratz, N., Hernandez, D., Paisán-Ruiz, C., Jain, S., Halter, C. A., Michaels, V. E., Reed, T., Rudolph, A., Shults, C. W., Singleton, A., & Foroud, T. (2005). Genetic screening for a single common LRRK2 mutation in familial Parkinson's disease. *The Lancet*, *365*(9457), 410-412. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17828-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17828-3)

- Nielsen, M. S., Vorum, H., Lindersson, E., & Jensen, P. H. (2001). Ca²⁺ Binding to α -Synuclein Regulates Ligand Binding and Oligomerization*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(25), 22680-22684. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101181200>
- Nikonova, E. V., Xiong, Y., Tanis, K. Q., Dawson, V. L., Vogel, R. L., Finney, E. M., Stone, D. J., Reynolds, I. J., Kern, J. T., & Dawson, T. M. (2012). Transcriptional responses to loss or gain of function of the leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) gene uncover biological processes modulated by LRRK2 activity. *Human Molecular Genetics*, 21(1), 163-174. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr451>
- Niso-Santano, M., González-Polo, R. A., Bravo-San Pedro, J. M., Gómez-Sánchez, R., Lastres-Becker, I., Ortiz-Ortiz, M. A., Soler, G., Morán, J. M., Cuadrado, A., & Fuentes, J. M. (2010). Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 is a key factor in paraquat-induced cell death: Modulation by the Nrf2/Trx axis. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(10), 1370-1381. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.02.024>
- Niu, J., Yu, M., Wang, C., & Xu, Z. (2012). Leucine-rich repeat kinase 2 disturbs mitochondrial dynamics via Dynamin-like protein. *Journal of Neurochemistry*, 122(3), 650-658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07809.x>
- Nonaka, T., Iwatsubo, T., & Hasegawa, M. (2005). Ubiquitination of α -Synuclein. *Biochemistry*, 44(1), 361-368. <https://doi.org/10.1021/bi0485528>
- Nonaka, T., Watanabe, S. T., Iwatsubo, T., & Hasegawa, M. (2010). Seeded Aggregation and Toxicity of α -Synuclein and Tau. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(45), 34885-34898. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.148460>
- Norris, E. H., Giasson, B. I., Hodara, R., Xu, S., Trojanowski, J. Q., Ischiropoulos, H., & Lee, V. M.-Y. (2005). Reversible Inhibition of α -Synuclein Fibrillization by Dopaminochrome-mediated Conformational Alterations *. *Journal of Biological Chemistry*, 280(22), 21212-21219. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412621200>
- Novello, S., Arcuri, L., Dovero, S., Duthel, N., Shimshek, D. R., Bezard, E., & Morari, M. (2018). G2019S LRRK2 mutation facilitates α -synuclein neuropathology in aged mice. *Neurobiology of Disease*, 120, 21-33. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.08.018>
- Noyce, A. J., Bestwick, J. P., Silveira-Moriyama, L., Hawkes, C. H., Giovannoni, G., Lees, A. J., & Schrag, A. (2012). Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 72(6), 893-901. <https://doi.org/10.1002/ana.23687>
- Nucifora, F. C., Nucifora, L. G., Ng, C.-H., Arbez, N., Guo, Y., Roby, E., Shani, V., Engelender, S., Wei, D., Wang, X.-F., Li, T., Moore, D. J., Pletnikova, O., Troncoso, J. C., Sawa, A., Dawson, T. M., Smith, W., Lim, K.-L., & Ross, C. A. (2016). Ubiquitination via K27 and K29 chains signals aggregation and neuronal protection of LRRK2 by WSB1. *Nature Communications*, 7(1), 11792. <https://doi.org/10.1038/ncomms11792>
- Nuytemans, K., Meeus, B., Crosiers, D., Brouwers, N., Goossens, D., Engelborghs, S., Pals, P., Pickut, B., Broeck, M. V. den, Corsmit, E., Cras, P., Deyn, P. P. D., Del-Favero, J., Broeckhoven, C. V., & Theuns, J. (2009). Relative contribution of simple mutations vs. Copy number variations in five Parkinson disease genes in the Belgian population. *Human Mutation*, 30(7), 1054-1061. <https://doi.org/10.1002/humu.21007>
- Nuytemans, K., Theuns, J., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2010). Genetic Etiology of Parkinson Disease Associated with Mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 Genes: A Mutation Update. *Human Mutation*, 31(7), 763-780. <https://doi.org/10.1002/humu.21277>
- Obara, K., Sekito, T., & Ohsumi, Y. (2006). Assortment of phosphatidylinositol 3-kinase complexes—Atg14p directs association of complex I to the pre-autophagosomal structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biology of the Cell*, 17(4), 1527-1539. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-09-0841>
- Obergasteiger, J., Frapporti, G., Lamonaca, G., Pizzi, S., Picard, A., Pischedda, F., Piccoli, G., Lobbestael, E., Baekelandt, V., Hicks, A. A., Corti, C., Pramstaller, P. P., & Volta, M. (2019). Kinase inhibition of G2019S-LRRK2 restores autolysosome formation and function to reduce endogenous alpha-synuclein intracellular inclusions [Preprint]. *Cell Biology*. <https://doi.org/10.1101/707273>
- Obeso, J. A., Stamelou, M., Goetz, C. G., Poewe, W., Lang, A. E., Weintraub, D., Burn, D., Halliday, G. M., Bezard, E., Przedborski, S., Lehericy, S., Brooks, D. J., Rothwell, J. C., Hallett, M., DeLong, M. R., Marras, C., Tanner, C. M., Ross, G. W., Langston, J. W., ... Stoessl, A. J. (2017). Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 32(9), 1264-1310. <https://doi.org/10.1002/mds.27115>
- O'Hara, D. M., Pawar, G., Kalia, S. K., & Kalia, L. V. (2020). LRRK2 and α -Synuclein: Distinct or Synergistic Players in Parkinson's Disease? *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00577>
- Okerlund, N. D., Schneider, K., Leal-Ortiz, S., Montenegro-Venegas, C., Kim, S. A., Garner, L. C., Waites, C. L., Gundelfinger, E. D., Reimer, R. J., & Garner, C. C. (2017). Bassoon Controls Presynaptic Autophagy through Atg5. *Neuron*, 93(4), 897-913.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.01.026>
- Okochi, M., Walter, J., Koyama, A., Nakajo, S., Baba, M., Iwatsubo, T., Meijer, L., Kahle, P. J., & Haass, C. (2000). Constitutive Phosphorylation of the Parkinson's Disease Associated α -Synuclein*. *Journal of Biological Chemistry*, 275(1), 390-397. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.1.390>
- Oku, M., & Sakai, Y. (2018). Three Distinct Types of Microautophagy Based on Membrane Dynamics and Molecular Machineries. *BioEssays*, 40(6), 1800008. <https://doi.org/10.1002/bies.201800008>
- Olanow, C. W., Agid, Y., Mizuno, Y., Albanese, A., Bonucelli, U., Damier, P., Yebenes, J. D., Gershanik, O., Guttman, M., Grandas, F., Hallett, M., Hornykiewicz, O., Jenner, P., Katzenschlager, R., Langston, W. J., LeWitt, P., Melamed, E., Mena, M. A., Michel, P. P., ... Stocchi, F. (2004). Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: Current controversies. *Movement Disorders*, 19(9), 997-1005. <https://doi.org/10.1002/mds.20243>
- Olanow, C. W., Goetz, C. G., Kordower, J. H., Stoessl, A. J., Sossi, V., Brin, M. F., Shannon, K. M., Nauert, G. M., Perl, D. P., Godbold, J., & Freeman, T. B. (2003). A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 54(3), 403-414. <https://doi.org/10.1002/ana.10720>

BIBLIOGRAPHIE

- Olanow, C. W., Kieburtz, K., Odin, P., Espay, A. J., Standaert, D. G., Fernandez, H. H., Vanagunas, A., Othman, A. A., Widnell, K. L., Robieson, W. Z., Pritchett, Y., Chatamra, K., Benesh, J., Lenz, R. A., & Antonini, A. (2014). Continuous intrajejunal infusion of levodopa-carbidopa intestinal gel for patients with advanced Parkinson's disease: A randomised, controlled, double-blind, double-dummy study. *The Lancet Neurology*, *13*(2), 141-149. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70293-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70293-X)
- Olney, J. W. (1990). Excitotoxic amino acids and neuropsychiatric disorders. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *30*, 47-71. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.30.040190.000403>
- Orenstein, S. J., Kuo, S.-H., Tasset, I., Arias, E., Koga, H., Fernandez-Carasa, I., Cortes, E., Honig, L. S., Dauer, W., Consiglio, A., Raya, A., Sulzer, D., & Cuervo, A. M. (2013). Interplay of LRRK2 with chaperone-mediated autophagy. *Nature Neuroscience*, *16*(4), 394-406. <https://doi.org/10.1038/nn.3350>
- Orr-Urtreger, A., Shifrin, C., Rozovski, U., Rosner, S., Bercovich, D., Gurevich, T., Yagev-More, H., Bar-Shira, A., & Giladi, N. (2007). The LRRK2 G2019S mutation in Ashkenazi Jews with Parkinson disease: Is there a gender effect? *Neurology*, *69*(16), 1595-1602. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000277637.33328.d8>
- Ortiz-Rodriguez, A., & Arevalo, M.-A. (2020). The Contribution of Astrocyte Autophagy to Systemic Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(7), 2479. <https://doi.org/10.3390/ijms21072479>
- Osborn, T. M., Hallett, P. J., Schumacher, J. M., & Isacson, O. (2020). Advantages and Recent Developments of Autologous Cell Therapy for Parkinson's Disease Patients. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *14*, 58. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00058>
- Ossowska, K., Wardas, J., Smiałowska, M., Kuter, K., Lenda, T., Wieroińska, J. M., Zieba, B., Nowak, P., Dabrowska, J., Bortel, A., Kwiciński, A., & Wolfarth, S. (2005). A slowly developing dysfunction of dopaminergic nigrostriatal neurons induced by long-term paraquat administration in rats: An animal model of preclinical stages of Parkinson's disease? *The European Journal of Neuroscience*, *22*(6), 1294-1304. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04301.x>
- Osterberg, V. R., Spinelli, K. J., Weston, L. J., Luk, K. C., Woltjer, R. L., & Unni, V. K. (2015). Progressive Aggregation of Alpha-Synuclein and Selective Degeneration of Lewy Inclusion-Bearing Neurons in a Mouse Model of Parkinsonism. *Cell Reports*, *10*(8), 1252-1260. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.01.060>
- Ostrerova, N., Petrucelli, L., Farrer, M., Mehta, N., Choi, P., Hardy, J., & Wolozin, B. (1999). α -Synuclein Shares Physical and Functional Homology with 14-3-3 Proteins. *Journal of Neuroscience*, *19*(14), 5782-5791. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-14-05782.1999>
- Oueslati, A. (2016). Implication of Alpha-Synuclein Phosphorylation at S129 in Synucleinopathies: What Have We Learned in the Last Decade? *Journal of Parkinson's Disease*, *6*(1), 39-51. <https://doi.org/10.3233/JPD-160779>
- Oueslati, A., Schneider, B. L., Aebischer, P., & Lashuel, H. A. (2013). Polo-like kinase 2 regulates selective autophagic α -synuclein clearance and suppresses its toxicity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(41), E3945-E3954. <https://doi.org/10.1073/pnas.1309991110>
- Outeiro, T. F., Putcha, P., Tetzlaff, J. E., Spoelgen, R., Koker, M., Carvalho, F., Hyman, B. T., & McLean, P. J. (2008). Formation of Toxic Oligomeric α -Synuclein Species in Living Cells. *PLOS ONE*, *3*(4), e1867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001867>
- Ozelius, L. J., Senthil, G., Saunders-Pullman, R., Ohmann, E., Deligtisch, A., Tagliati, M., Hunt, A. L., Klein, C., Henick, B., Hailpern, S. M., Lipton, R. B., Soto-Valencia, J., Risch, N., & Bressman, S. B. (2006). LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *The New England Journal of Medicine*, *354*(4), 424-425. <https://doi.org/10.1056/NEJMc055509>
- Paik, S. R., Shin, H. J., Lee, J. H., Chang, C. S., & Kim, J. (1999). Copper(II)-induced self-oligomerization of alpha-synuclein. *The Biochemical Journal*, *340* (Pt 3), 821-828.
- Paisán-Ruiz, C., Nath, P., Washecka, N., Gibbs, J. R., & Singleton, A. B. (2008). Comprehensive analysis of LRRK2 in publicly available Parkinson's disease cases and neurologically normal controls. *Human Mutation*, *29*(4), 485-490. <https://doi.org/10.1002/humu.20668>
- Paisán-Ruiz, C., Jain, S., Evans, E. W., Gilks, W. P., Simón, J., van der Brug, M., de Munain, A. L., Aparicio, S., Gil, A. M., Khan, N., Johnson, J., Martínez, J. R., Nicholl, D., Carrera, I. M., Peña, A. S., de Silva, R., Lees, A., Martí-Massó, J. F., Pérez-Tur, J., ... Singleton, A. B. (2004). Cloning of the Gene Containing Mutations that Cause PARK8-Linked Parkinson's Disease. *Neuron*, *44*(4), 595-600. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.10.023>
- Pajarillo, E., Rizor, A., Lee, J., Aschner, M., & Lee, E. (2019). The role of posttranslational modifications of α -synuclein and LRRK2 in Parkinson's disease: Potential contributions of environmental factors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1865*(8), 1992-2000. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.017>
- Paleologou, K. E., Oueslati, A., Shakked, G., Rospigliosi, C. C., Kim, H.-Y., Lamberto, G. R., Fernandez, C. O., Schmid, A., Chegini, F., Gai, W. P., Chiappe, D., Moniatte, M., Schneider, B. L., Aebischer, P., Eliezer, D., Zweckstetter, M., Masliah, E., & Lashuel, H. A. (2010). Phosphorylation at S87 Is Enhanced in Synucleinopathies, Inhibits α -Synuclein Oligomerization, and Influences Synuclein-Membrane Interactions. *Journal of Neuroscience*, *30*(9), 3184-3198. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5922-09.2010>
- Palfi, S., Gurruchaga, J. M., Ralph, G. S., Lepetit, H., Lavis, S., Buttery, P. C., Watts, C., Miskin, J., Kelleher, M., Deeley, S., Iwamuro, H., Lefaucheur, J. P., Thiriez, C., Fenelon, G., Lucas, C., Brugières, P., Gabriel, I., Abhay, K., Drouot, X., ... Mitrophanous, K. A. (2014). Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: A dose escalation, open-label, phase 1/2 trial. *The Lancet*, *383*(9923), 1138-1146. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61939-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61939-X)
- Pan, P.-Y., Li, X., Wang, J., Powell, J., Wang, Q., Zhang, Y., Chen, Z., Wicinski, B., Hof, P., Ryan, T. A., & Yue, Z. (2017). Parkinson's Disease-Associated LRRK2 Hyperactive Kinase Mutant Disrupts Synaptic Vesicle Trafficking in Ventral Midbrain Neurons. *Journal of Neuroscience*, *37*(47), 11366-11376. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0964-17.2017>

- Pankiv, S., Clausen, T. H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J.-A., Outzen, H., Øvervatn, A., Bjørkøy, G., & Johansen, T. (2007). P62/SQSTM1 Binds Directly to Atg8/LC3 to Facilitate Degradation of Ubiquitinated Protein Aggregates by Autophagy*. *Journal of Biological Chemistry*, 282(33), 24131-24145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702824200>
- Parihar, M. S., Parihar, A., Fujita, M., Hashimoto, M., & Ghafourifar, P. (2009). Alpha-synuclein overexpression and aggregation exacerbates impairment of mitochondrial functions by augmenting oxidative stress in human neuroblastoma cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(10), 2015-2024. <https://doi.org/10.1016/j.biolcel.2009.05.008>
- Parisiadou, L., Xie, C., Cho, H. J., Lin, X., Gu, X.-L., Long, C.-X., Lobbstaal, E., Baekelandt, V., Taymans, J.-M., Sun, L., & Cai, H. (2009). Phosphorylation of Ezrin/Radixin/Moesin Proteins by LRRK2 Promotes the Rearrangement of Actin Cytoskeleton in Neuronal Morphogenesis. *Journal of Neuroscience*, 29(44), 13971-13980. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3799-09.2009>
- Park, J., Lee, S. B., Lee, S., Kim, Y., Song, S., Kim, S., Bae, E., Kim, J., Shong, M., Kim, J.-M., & Chung, J. (2006). Mitochondrial dysfunction in Drosophila PINK1 mutants is complemented by parkin. *Nature*, 441(7097), 1157-1161. <https://doi.org/10.1038/nature04788>
- Park, J.-Y., Paik, S. R., Jou, I., & Park, S. M. (2008). Microglial phagocytosis is enhanced by monomeric alpha-synuclein, not aggregated alpha-synuclein: Implications for Parkinson's disease. *Glia*, 56(11), 1215-1223. <https://doi.org/10.1002/glia.20691>
- Park, S., Kim, J., Chun, J., Han, K., Soh, H., Kang, E. A., Lee, H. J., Im, J. P., & Kim, J. S. (2019). Patients with Inflammatory Bowel Disease Are at an Increased Risk of Parkinson's Disease: A South Korean Nationwide Population-Based Study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/jcm8081191>
- Parkinson, J. (2002). An essay on the shaking palsy. 1817. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 14(2), 223-236; discussion 222. <https://doi.org/10.1176/jnp.14.2.223>
- Parkkinen, L., Kauppinen, T., Pirttilä, T., Autere, J. M., & Alafuzoff, I. (2005). Alpha-synuclein pathology does not predict extrapyramidal symptoms or dementia. *Annals of Neurology*, 57(1), 82-91. <https://doi.org/10.1002/ana.20321>
- Parnetti, L., Balducci, C., Pierguidi, L., De Carlo, C., Peducci, M., D'Amore, C., Padiglioni, C., Mastrocola, S., Persichetti, E., Paciotti, S., Bellomo, G., Tambasco, N., Rossi, A., Beccari, T., & Calabresi, P. (2009). Cerebrospinal fluid β -glucocerebrosidase activity is reduced in Dementia with Lewy Bodies. *Neurobiology of Disease*, 34(3), 484-486. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.03.002>
- Parnetti, L., Farotti, L., Eusebi, P., Chiasserini, D., De Carlo, C., Giannandrea, D., Salvadori, N., Lisetti, V., Tambasco, N., Rossi, A., Majbour, N. K., Varghese, S., El-Agnaf, O., & Calabresi, P. (2014). Differential role of CSF alpha-synuclein species, tau, and A β 42 in Parkinson's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00053>
- Parnetti, L., Paciotti, S., Eusebi, P., Dardis, A., Zampieri, S., Chiasserini, D., Tasegian, A., Tambasco, N., Bembi, B., Calabresi, P., & Beccari, T. (2017). Cerebrospinal fluid β -glucocerebrosidase activity is reduced in parkinson's disease patients. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 32(10), 1423-1431. <https://doi.org/10.1002/mds.27136>
- Paumier, K. L., Luk, K. C., Manfredsson, F. P., Kanaan, N. M., Lipton, J. W., Collier, T. J., Steece-Collier, K., Kemp, C. J., Celano, S., Schulz, E., Sandoval, I. M., Fleming, S., Dirr, E., Polinski, N. K., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M., & Sortwell, C. E. (2015). Intrastriatal injection of pre-formed mouse α -synuclein fibrils into rats triggers α -synuclein pathology and bilateral nigrostriatal degeneration. *Neurobiology of Disease*, 82, 185-199. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.06.003>
- Paxinou, E., Chen, Q., Weisse, M., Giasson, B. I., Norris, E. H., Rueter, S. M., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M.-Y., & Ischiropoulos, H. (2001). Induction of α -Synuclein Aggregation by Intracellular Nitric Oxide Insult. *Journal of Neuroscience*, 21(20), 8053-8061. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08053.2001>
- Payton, J. E., Perrin, R. J., Woods, W. S., & George, J. M. (2004). Structural Determinants of PLD2 Inhibition by α -Synuclein. *Journal of Molecular Biology*, 337(4), 1001-1009. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.02.014>
- Pchelina, S. N., Yakimovskii, A. F., Emelyanov, A. K., Ivanova, O. N., Schwarzman, A. L., & Singleton, A. B. (2008). Screening for LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease in Russia: Identification of a novel LRRK2 variant. *European Journal of Neurology*, 15(7), 692-696. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02149.x>
- Pedro, J. M. B.-S., Gómez-Sánchez, R., Niso-Santano, M., Pizarro-Estrella, E., Aiastui-Pujana, A., Gorostidi, A., Climent, V., Maturana, R. L. de, Sanchez-Pernaute, R., Munain, A. L. de, Fuentes, J. M., & González-Polo, R. A. (2012). The MAPK1/3 pathway is essential for the deregulation of autophagy observed in G2019S LRRK2 mutant fibroblasts. *Autophagy*, 8(10), 1537-1539. <https://doi.org/10.4161/aut.21270>
- Peelaerts, W., Bousset, L., Van der Perren, A., Moskalyuk, A., Pulizzi, R., Giugliano, M., Van den Haute, C., Melki, R., & Baekelandt, V. (2015). α -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. *Nature*, 522(7556), 340-344. <https://doi.org/10.1038/nature14547>
- Pellegrini, L., Hauser, D. N., Li, Y., Mamais, A., Beilina, A., Kumaran, R., Wetzal, A., Nixon-Abell, J., Heaton, G., Rudenko, I., Alkaslasi, M., Ivanina, N., Melrose, H. L., Cookson, M. R., & Harvey, K. (2018). Proteomic analysis reveals co-ordinated alterations in protein synthesis and degradation pathways in LRRK2 knockout mice. *Human Molecular Genetics*, 27(18), 3257-3271. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy232>
- Peng, C., Gathagan, R. J., Covell, D. J., Medellin, C., Stieber, A., Robinson, J. L., Zhang, B., Pitkin, R. M., Olufemi, M. F., Luk, K. C., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2018). Cellular milieu imparts distinct pathological α -synuclein strains in α -synucleinopathies. *Nature*, 557(7706), 558-563. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0104-4>
- Peng, J., Liu, Q., Rao, M. S., & Zeng, X. (2013). Using human pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons to evaluate candidate Parkinson's disease therapeutic agents in MPP+ and rotenone models. *Journal of Biomolecular Screening*, 18(5), 522-533. <https://doi.org/10.1177/1087057112474468>
- Perez, R. G., Waymire, J. C., Lin, E., Liu, J. J., Guo, F., & Zigmond, M. J. (2002). A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(8), 3090-3099. <https://doi.org/20026307>

BIBLIOGRAPHIE

- Periquet, M., Latouche, M., Lohmann, E., Rawal, N., De Michele, G., Ricard, S., Teive, H., Fraix, V., Vidailhet, M., Nicholl, D., Barone, P., Wood, N. W., Raskin, S., Deleuze, J.-F., Agid, Y., Dürre, A., Brice, A., French Parkinson's Disease Genetics Study Group, & European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. (2003). Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain: A Journal of Neurology*, *126*(Pt 6), 1271-1278. <https://doi.org/10.1093/brain/awg136>
- Perni, M., Galvagnion, C., Maltsev, A., Meisl, G., Müller, M. B. D., Challa, P. K., Kirkegaard, J. B., Flagmeier, P., Cohen, S. I. A., Cascella, R., Chen, S. W., Limbocker, R., Sormanni, P., Heller, G. T., Aprile, F. A., Cremades, N., Cecchi, C., Chiti, F., Nollen, E. A. A., ... Dobson, C. M. (2017). A natural product inhibits the initiation of α -synuclein aggregation and suppresses its toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(6), E1009-E1017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1610586114>
- Perrin, R. J., Woods, W. S., Clayton, D. F., & George, J. M. (2000). Interaction of Human α -Synuclein and Parkinson's Disease Variants with Phospholipids: STRUCTURAL ANALYSIS USING SITE-DIRECTED MUTAGENESIS*. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(44), 34393-34398. <https://doi.org/10.1074/jbc.M004851200>
- Petersen, K., Olesen, O. F., & Mikkelsen, J. D. (1999). Developmental expression of α -synuclein in rat hippocampus and cerebral cortex. *Neuroscience*, *91*(2), 651-659. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00596-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00596-X)
- Phani, S., Loike, J. D., & Przedborski, S. (2012). Neurodegeneration and Inflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, *18*, S207-S209. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(11\)70064-5](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(11)70064-5)
- Phillips, K. A., Bales, K. L., Capitanio, J. P., Conley, A., Czoty, P. W., Hart, B. A., Hopkins, W. D., Hu, S.-L., Miller, L. A., Nader, M. A., Nathanielsz, P. W., Rogers, J., Shively, C. A., & Voytko, M. L. (2014). Why primate models matter. *American Journal of Primatology*, *76*(9), 801-827. <https://doi.org/10.1002/ajp.22281>
- Piccoli, G., Condliffe, S. B., Bauer, M., Giesert, F., Boldt, K., Astis, S. D., Meixner, A., Sarioglu, H., Vogt-Weisenhorn, D. M., Wurst, W., Gloeckner, C. J., Matteoli, M., Sala, C., & Ueffing, M. (2011). LRRK2 Controls Synaptic Vesicle Storage and Mobilization within the Recycling Pool. *Journal of Neuroscience*, *31*(6), 2225-2237. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3730-10.2011>
- Piccoli, G., Onofri, F., Cinaru, M. D., Kaiser, C. J. O., Jagtap, P., Kastenmüller, A., Pischedda, F., Marte, A., von Zweyendorf, F., Vogt, A., Giesert, F., Pan, L., Antonucci, F., Kiel, C., Zhang, M., Weinkauf, S., Sattler, M., Sala, C., Matteoli, M., ... Gloeckner, C. J. (2014). Leucine-rich repeat kinase 2 binds to neuronal vesicles through protein interactions mediated by its C-terminal WD40 domain. *Molecular and Cellular Biology*, *34*(12), 2147-2161. <https://doi.org/10.1128/MCB.00914-13>
- Pickrell, A. M., & Youle, R. J. (2015). The Roles of PINK1, Parkin, and Mitochondrial Fidelity in Parkinson's Disease. *Neuron*, *85*(2), 257-273. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.007>
- Pierzynowska, K., Gaffke, L., Cyske, Z., Puchalski, M., Rintz, E., Bartkowski, M., Osiadły, M., Pierzynowski, M., Mantej, J., Piotrowska, E., & Węgrzyn, G. (2018). Autophagy stimulation as a promising approach in treatment of neurodegenerative diseases. *Metabolic Brain Disease*, *33*(4), 989-1008. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0214-6>
- Pischedda, F., Cinaru, M. D., Ponzoni, L., Sandre, M., Biosa, A., Carrion, M. P., Marin, O., Morari, M., Pan, L., Greggio, E., Bandopadhyay, R., Sala, M., & Piccoli, G. (2020). LRRK2 G2019S kinase activity triggers neurotoxic NSF aggregation. *BioRxiv*, 721266. <https://doi.org/10.1101/721266>
- Pischedda, F., & Piccoli, G. (2021). LRRK2 at the pre-synaptic site: A 16-years perspective. *Journal of Neurochemistry*, *157*(2), 297-311. <https://doi.org/10.1111/jnc.15240>
- Plotegher, N., Berti, G., Ferrari, E., Tessari, I., Zanetti, M., Lunelli, L., Greggio, E., Bisaglia, M., Veronesi, M., Girotto, S., Dalla Serra, M., Perego, C., Casella, L., & Bubacco, L. (2017). DOPAL derived alpha-synuclein oligomers impair synaptic vesicles physiological function. *Scientific Reports*, *7*(1), 40699. <https://doi.org/10.1038/srep40699>
- Plowey, E. D., Cherra, S. J., Liu, Y.-J., & Chu, C. T. (2008). Role of autophagy in G2019S-LRRK2-associated neurite shortening in differentiated SH-SY5Y cells. *Journal of Neurochemistry*, *105*(3), 1048-1056. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05217.x>
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkman, J., Schrag, A.-E., & Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*(1), 1-21. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>
- Poirier, J., & Barbeau, A. (1985). 1-Methyl-4-phenyl-pyridinium-induced inhibition of nicotinamide adenosine dinucleotide cytochrome c reductase. *Neuroscience Letters*, *62*(1), 7-11. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(85\)90276-9](https://doi.org/10.1016/0304-3940(85)90276-9)
- Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S. E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E. S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papapetropoulos, T., Johnson, W. G., Lazzarini, A. M., Duvoisin, R. C., Di Iorio, G., Golbe, L. I., & Nussbaum, R. L. (1997). Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science (New York, N.Y.)*, *276*(5321), 2045-2047. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2045>
- Poulopoulos, M., Cortes, E., Vonsattel, J.-P. G., Fahn, S., Waters, C., Cote, L. J., Moskowitz, C., Honig, L. S., Clark, L. N., Marder, K. S., & Alcalay, R. N. (2012). Clinical and Pathological Characteristics of LRRK2 G2019S Patients with PD. *Journal of Molecular Neuroscience*, *47*(1), 139-143. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9696-y>
- Prasad, K., Tarasewicz, E., Strickland, P. A. O., O'Neill, M., Mitchell, S. N., Merchant, K., Tep, S., Hilton, K., Datwani, A., Buttini, M., Mueller-Steiner, S., & Richfield, E. K. (2011). Biochemical and morphological consequences of human α -synuclein expression in a mouse α -synuclein null background. *The European Journal of Neuroscience*, *33*(4), 642-656. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07558.x>
- Profes, M. S., Saghatelian, A., & Lévesque, M. (2020). *Autophagy is required for midbrain dopaminergic axon development and their responsiveness to guidance cues* [Preprint]. Neuroscience. <https://doi.org/10.1101/2020.10.09.333435>
- Pronin, A. N., Morris, A. J., Surguchov, A., & Benovic, J. L. (2000). Synucleins Are a Novel Class of Substrates for G Protein-coupled Receptor Kinases*. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(34), 26515-26522. <https://doi.org/10.1074/jbc.M003542200>
- Prots, I., Grosch, J., Brazdis, R.-M., Simmnacher, K., Veber, V., Havlicek, S., Hannappel, C., Krach, F., Krumbiegel, M., Schütz, O., Reis, A., Wrasidlo, W., Galasko, D. R., Groemer, T. W., Masliah, E., Schlötzer-Schrehardt, U., Xiang, W., Winkler, J., & Winner, B. (2018). α -

- Synuclein oligomers induce early axonal dysfunction in human iPSC-based models of synucleinopathies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(30), 7813-7818. <https://doi.org/10.1073/pnas.1713129115>
- Prusiner, S. B., Woerman, A. L., Mordes, D. A., Watts, J. C., Rampersaud, R., Berry, D. B., Patel, S., Oehler, A., Lowe, J. K., Kravitz, S. N., Geschwind, D. H., Glidden, D. V., Halliday, G. M., Middleton, L. T., Gentleman, S. M., Grinberg, L. T., & Giles, K. (2015). Evidence for α -synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(38), E5308-E5317. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514475112>
- Przedborski, S. (2017). The two-century journey of Parkinson disease research. *Nature Reviews. Neuroscience*, 18(4), 251-259. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.25>
- Puccini, J. M., Marker, D. F., Fitzgerald, T., Barbieri, J., Kim, C. S., Miller-Rhodes, P., Lu, S.-M., Dewhurst, S., & Gelbard, H. A. (2015). Leucine-Rich Repeat Kinase 2 Modulates Neuroinflammation and Neurotoxicity in Models of Human Immunodeficiency Virus 1-Associated Neurocognitive Disorders. *Journal of Neuroscience*, 35(13), 5271-5283. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0650-14.2015>
- Pupyshev, A. B., Korolenko, T. A., Akopyan, A. A., Amstislavskaya, T. G., & Tikhonova, M. A. (2018). Suppression of autophagy in the brain of transgenic mice with overexpression of A53T-mutant α -synuclein as an early event at synucleinopathy progression. *Neuroscience Letters*, 672, 140-144. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.12.001>
- Pupyshev, A. B., Tikhonova, M. A., Akopyan, A. A., Tenditnik, M. V., Dubrovina, N. I., & Korolenko, T. A. (2019). Therapeutic activation of autophagy by combined treatment with rapamycin and trehalose in a mouse MPTP-induced model of Parkinson's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 177, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.12.005>
- Puri, C., Vicinanza, M., & Rubinsztein, D. C. (2018). Phagophores evolve from recycling endosomes. *Autophagy*, 14(8), 1475-1477. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1482148>
- Purlyte, E., Dhekne, H. S., Sarhan, A. R., Gomez, R., Lis, P., Wightman, M., Martinez, T. N., Tonelli, F., Pfeffer, S. R., & Alessi, D. R. (2018). Rab29 activation of the Parkinson's disease-associated LRRK2 kinase. *The EMBO Journal*, 37(1), 1-18. <https://doi.org/10.15252/embj.201798099>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A.-S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001). Circuits within the Basal Ganglia System. *Neuroscience. 2nd Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10847/>
- Puyal, J., Vaslin, A., Mottier, V., & Clarke, P. G. H. (2009). Postischemic treatment of neonatal cerebral ischemia should target autophagy. *Annals of Neurology*, 66(3), 378-389. <https://doi.org/10.1002/ana.21714>
- Pyo, J.-O., Yoo, S.-M., & Jung, Y.-K. (2013). The Interplay between Autophagy and Aging. *Diabetes & Metabolism Journal*, 37(5), 333-339. <https://doi.org/10.4093/dmj.2013.37.5.333>
- Qian, X., Jacob, F., Song, M. M., Nguyen, H. N., Song, H., & Ming, G.-L. (2018). Generation of human brain region-specific organoids using a miniaturized spinning bioreactor. *Nature Protocols*, 13(3), 565-580. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.152>
- Qing, H., Wong, W., McGeer, E. G., & McGeer, P. L. (2009). Lrrk2 phosphorylates alpha synuclein at serine 129: Parkinson disease implications. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 387(1), 149-152. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.06.142>
- Rabinowitz, J. D., & White, E. (2010). Autophagy and metabolism. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6009), 1344-1348. <https://doi.org/10.1126/science.1193497>
- Rajput, A., Dickson, D. W., Robinson, C. A., Ross, O. A., Dächsel, J. C., Lincoln, S. J., Cobb, S. A., Rajput, M. L., & Farrer, M. J. (2006). Parkinsonism, Lrrk2 G2019S, and tau neuropathology. *Neurology*, 67(8), 1506-1508. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000240220.33950.0c>
- Ramirez, A., Heimbach, A., Gründemann, J., Stiller, B., Hampshire, D., Cid, L. P., Goebel, I., Mubaidin, A. F., Wriekat, A.-L., Roeper, J., Al-Din, A., Hillmer, A. M., Karsak, M., Liss, B., Woods, C. G., Behrens, M. I., & Kubisch, C. (2006). Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2 , encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nature Genetics*, 38(10), 1184-1191. <https://doi.org/10.1038/ng1884>
- Ramonet, D., Daher, J. P. L., Lin, B. M., Stafa, K., Kim, J., Banerjee, R., Westerlund, M., Pletnikova, O., Glauser, L., Yang, L., Liu, Y., Swing, D. A., Beal, M. F., Troncoso, J. C., McCaffery, J. M., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Galter, D., Thomas, B., ... Moore, D. J. (2011). Dopaminergic Neuronal Loss, Reduced Neurite Complexity and Autophagic Abnormalities in Transgenic Mice Expressing G2019S Mutant LRRK2. *PLOS ONE*, 6(4), e18568. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018568>
- Ramos González, P., Mato Santos, S., Chara Ventura, J. C., Verkhatsky, A., Matute Almau, C. J., & Cavaliere, F. (2021). *Astrocytic Atrophy as a Pathological Feature of Parkinson's Disease with LRRK2 Mutation*. <https://doi.org/10.1038/s41531-021-00175-w>
- Ramsay, R. R., Salach, J. I., Dadgar, J., & Singer, T. P. (1986). Inhibition of mitochondrial NADH dehydrogenase by pyridine derivatives and its possible relation to experimental and idiopathic parkinsonism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 135(1), 269-275. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(86\)90972-1](https://doi.org/10.1016/0006-291x(86)90972-1)
- Ransohoff, R. M. (2016). How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science*, 353(6301), 777-783. <https://doi.org/10.1126/science.aag2590>
- Rassu, M., Giudice, M. G. D., Sanna, S., Taymans, J. M., Morari, M., Brugnoli, A., Frassinetti, M., Masala, A., Esposito, S., Galioto, M., Valle, C., Carri, M. T., Biosa, A., Greggio, E., Crosio, C., & Iaccarino, C. (2017). Role of LRRK2 in the regulation of dopamine receptor trafficking. *PLOS ONE*, 12(6), e0179082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179082>
- Ravenholt, R. T., & Foege, W. H. (1982). 1918 influenza, encephalitis lethargica, parkinsonism. *Lancet (London, England)*, 2(8303), 860-864. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)90820-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)90820-0)
- Ravikumar, B., Acevedo-Arozena, A., Imarisio, S., Berger, Z., Vacher, C., O'Kane, C. J., Brown, S. D. M., & Rubinsztein, D. C. (2005). Dynein mutations impair autophagic clearance of aggregate-prone proteins. *Nature Genetics*, 37(7), 771-776. <https://doi.org/10.1038/ng1591>

BIBLIOGRAPHIE

- Ravikumar, B., Moreau, K., & Rubinsztein, D. C. (2010). Plasma membrane helps autophagosomes grow. *Autophagy*, *6*(8), 1184-1186. <https://doi.org/10.4161/auto.6.8.13428>
- Ravikumar, B., Sarkar, S., Davies, J. E., Futter, M., Garcia-Arencibia, M., Green-Thompson, Z. W., Jimenez-Sanchez, M., Korolchuk, V. I., Lichtenberg, M., Luo, S., Massey, D. C. O., Menzies, F. M., Moreau, K., Narayanan, U., Renna, M., Siddiqi, F. H., Underwood, B. R., Winslow, A. R., & Rubinsztein, D. C. (2010). Regulation of Mammalian Autophagy in Physiology and Pathophysiology. *Physiological Reviews*, *90*(4), 1383-1435. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2009>
- Recasens, A., Dehay, B., Bové, J., Carballo-Carbajal, I., Dovero, S., Pérez-Villalba, A., Fernagut, P.-O., Blesa, J., Parent, A., Perier, C., Fariñas, I., Obeso, J. A., Bezard, E., & Vila, M. (2014). Lewy body extracts from Parkinson disease brains trigger α -synuclein pathology and neurodegeneration in mice and monkeys. *Annals of Neurology*, *75*(3), 351-362. <https://doi.org/10.1002/ana.24066>
- Rey, N. L., George, S., Steiner, J. A., Madaj, Z., Luk, K. C., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M.-Y., & Brundin, P. (2018). Spread of aggregates after olfactory bulb injection of α -synuclein fibrils is associated with early neuronal loss and is reduced long term. *Acta Neuropathologica*, *135*(1), 65-83. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1792-9>
- Richter, C., Park, J. W., & Ames, B. N. (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *85*(17), 6465-6467. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.17.6465>
- Rideout, H. J., Larsen, K. E., Sulzer, D., & Stefanis, L. (2001). Proteasomal inhibition leads to formation of ubiquitin/alpha-synuclein-immunoreactive inclusions in PC12 cells. *Journal of Neurochemistry*, *78*(4), 899-908. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00474.x>
- Rivero-Ríos, P., Romo-Lozano, M., Fasiczka, R., Naaldijk, Y., & Hilfiker, S. (2020). LRRK2-Related Parkinson's Disease Due to Altered Endolysosomal Biology With Variable Lewy Body Pathology: A Hypothesis. *Frontiers in Neuroscience*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00556>
- Rivero-Ríos, P., Romo-Lozano, M., Madero-Pérez, J., Thomas, A. P., Biosa, A., Greggio, E., & Hilfiker, S. (2019). The G2019S variant of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) alters endolysosomal trafficking by impairing the function of the GTPase RAB8A. *Journal of Biological Chemistry*, *294*(13), 4738-4758. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005008>
- Robak, L. A., Jansen, I. E., van Rooij, J., Uitterlinden, A. G., Kraaij, R., Jankovic, J., Heutink, P., Shulman, J. M., & International Parkinson's Disease Genomics Consortium (IPDGC). (2017). Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease. *Brain*, *140*(12), 3191-3203. <https://doi.org/10.1093/brain/awx285>
- Rocha, E. M., Smith, G. A., Park, E., Cao, H., Brown, E., Hayes, M. A., Beagan, J., McLean, J. R., Izen, S. C., Perez-Torres, E., Hallett, P. J., & Isacson, O. (2015). Glucocerebrosidase gene therapy prevents α -synucleinopathy of midbrain dopamine neurons. *Neurobiology of Disease*, *82*, 495-503. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.09.009>
- Rochet, J.-C., Conway, K. A., & Lansbury, P. T. (2000). Inhibition of Fibrillization and Accumulation of Prefibrillar Oligomers in Mixtures of Human and Mouse α -Synuclein. *Biochemistry*, *39*(35), 10619-10626. <https://doi.org/10.1021/bi001315u>
- Rostami, J., Fotaki, G., Sirois, J., Mzezewa, R., Bergström, J., Essand, M., Healy, L., & Erlandsson, A. (2020). Astrocytes have the capacity to act as antigen-presenting cells in the Parkinson's disease brain. *Journal of Neuroinflammation*, *17*(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01776-7>
- Rostami, J., Holmqvist, S., Lindström, V., Sigvardson, J., Westermark, G. T., Ingelsson, M., Bergström, J., Roybon, L., & Erlandsson, A. (2017). Human Astrocytes Transfer Aggregated Alpha-Synuclein via Tunneling Nanotubes. *The Journal of Neuroscience*, *37*(49), 11835-11853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0983-17.2017>
- Rudenko, I. N., Chia, R., & Cookson, M. R. (2012). Is inhibition of kinase activity the only therapeutic strategy for LRRK2-associated Parkinson's disease? *BMC Medicine*, *10*(1), 20. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-20>
- Russell, R. C., Yuan, H.-X., & Guan, K.-L. (2014). Autophagy regulation by nutrient signaling. *Cell Research*, *24*(1), 42-57. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.166>
- Rusten, T. E., & Stenmark, H. (2010). P62, an autophagy hero or culprit? *Nature Cell Biology*, *12*(3), 207-209. <https://doi.org/10.1038/ncb0310-207>
- Ryan, B. J., Hoek, S., Fon, E. A., & Wade-Martins, R. (2015). Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's: From familial to sporadic disease. *Trends in Biochemical Sciences*, *40*(4), 200-210. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.02.003>
- Saab, A. S., Tzvetavona, I. D., Trevisiol, A., Baltan, S., Dibaj, P., Kusch, K., Möbius, W., Goetze, B., Jahn, H. M., Huang, W., Steffens, H., Schomburg, E. D., Pérez-Samartín, A., Pérez-Cerdá, F., Bakhtiari, D., Matute, C., Löwel, S., Griesinger, C., Hirrlinger, J., ... Nave, K.-A. (2016). Oligodendroglial NMDA Receptors Regulate Glucose Import and Axonal Energy Metabolism. *Neuron*, *91*(1), 119-132. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.016>
- Saez-Atienzar, S., Bonet-Ponce, L., Blesa, J. R., Romero, F. J., Murphy, M. P., Jordan, J., & Galindo, M. F. (2014). The LRRK2 inhibitor GSK2578215A induces protective autophagy in SH-SY5Y cells: Involvement of Drp-1-mediated mitochondrial fission and mitochondrial-derived ROS signaling. *Cell Death & Disease*, *5*(8), e1368-e1368. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.320>
- Saha, S., Ash, P. E. A., Gowda, V., Liu, L., Shirihai, O., & Wolozin, B. (2015). Mutations in LRRK2 potentiate age-related impairment of autophagic flux. *Molecular Neurodegeneration*, *10*(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0022-y>
- Saha, S., Liu-Yesuievitz, L., & Wolozin, B. (2013). Regulation of Autophagy by LRRK2 in *Caenorhabditis elegans*. *Neurodegenerative Diseases*, *13*(2-3), 110-113. <https://doi.org/10.1159/000355654>
- Saito, Y., Kawashima, A., Ruberu, N. N., Fujiwara, H., Koyama, S., Sawabe, M., Arai, T., Nagura, H., Yamanouchi, H., Hasegawa, M., Iwatsubo, T., & Murayama, S. (2003). Accumulation of Phosphorylated α -Synuclein in Aging Human Brain. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *62*(6), 644-654. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.6.644>

- Sakamoto, M., Uchihara, T., Hayashi, M., Nakamura, A., Kikuchi, E., Mizutani, T., Mizusawa, H., & Hirai, S. (2002). Heterogeneity of Nigral and Cortical Lewy Bodies Differentiated by Amplified Triple-Labeling for Alpha-Synuclein, Ubiquitin, and Thiazin Red. *Experimental Neurology*, 177(1), 88-94. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7961>
- Samaranch, L., Lorenzo-Betancor, O., Arbelo, J. M., Ferrer, I., Lorenzo, E., Irigoyen, J., Pastor, M. A., Marrero, C., Isla, C., Herrera-Henriquez, J., & Pastor, P. (2010). PINK1-linked parkinsonism is associated with Lewy body pathology. *Brain*, 133(4), 1128-1142. <https://doi.org/10.1093/brain/awq051>
- Samuel, F., Flavin, W. P., Iqbal, S., Pacelli, C., Sri Renganathan, S. D., Trudeau, L.-E., Campbell, E. M., Fraser, P. E., & Tandon, A. (2016). Effects of Serine 129 Phosphorylation on α -Synuclein Aggregation, Membrane Association, and Internalization*. *Journal of Biological Chemistry*, 291(9), 4374-4385. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.705095>
- Sancenon, V., Lee, S.-A., Patrick, C., Griffith, J., Paulino, A., Outeiro, T. F., Reggiori, F., Masliah, E., & Muchowski, P. J. (2012). Suppression of α -synuclein toxicity and vesicle trafficking defects by phosphorylation at S129 in yeast depends on genetic context. *Human Molecular Genetics*, 21(11), 2432-2449. <https://doi.org/10.1093/hmg/dd5058>
- Sanchez, G., Varaschin, R. K., Büeler, H., Marcogliese, P. C., Park, D. S., & Trudeau, L.-E. (2014). Unaltered striatal dopamine release levels in young Parkin knockout, Pink1 knockout, DJ-1 knockout and LRRK2 R1441G transgenic mice. *PLoS One*, 9(4), e94826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094826>
- Sánchez-Danés, A., Richaud-Patin, Y., Carballo-Carbajal, I., Jiménez-Delgado, S., Caig, C., Mora, S., Di Guglielmo, C., Ezquerro, M., Patel, B., Giralto, A., Canals, J. M., Memo, M., Alberch, J., López-Barneo, J., Vila, M., Cuervo, A. M., Tolosa, E., Consiglio, A., & Raya, A. (2012). Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human iPSC-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. *EMBO Molecular Medicine*, 4(5), 380-395. <https://doi.org/10.1002/emmm.201200215>
- Sardi, S. P., Cedarbaum, J. M., & Brundin, P. (2018). Targeted Therapies for Parkinson's Disease: From Genetics to the Clinic. *Movement Disorders*, 33(5), 684-696. <https://doi.org/10.1002/mds.27414>
- Sardi, S. P., Clarke, J., Viel, C., Chan, M., Tamsett, T. J., Treleaven, C. M., Bu, J., Sweet, L., Passini, M. A., Dodge, J. C., Yu, W. H., Sidman, R. L., Cheng, S. H., & Shihabuddin, L. S. (2013). Augmenting CNS glucocerebrosidase activity as a therapeutic strategy for parkinsonism and other Gaucher-related synucleinopathies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3537-3542. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220464110>
- Sarkar, S., Olsen, A. L., Sygnecka, K., Lohr, K. M., & Feany, M. B. (2021). α -synuclein impairs autophagosome maturation through abnormal actin stabilization. *PLoS Genetics*, 17(2), e1009359. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009359>
- Sato, H., Arawaka, S., Hara, S., Fukushima, S., Koga, K., Koyama, S., & Kato, T. (2011). Authentically Phosphorylated -Synuclein at Ser129 Accelerates Neurodegeneration in a Rat Model of Familial Parkinson's Disease. *Journal of Neuroscience*, 31(46), 16884-16894. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3967-11.2011>
- Sato, S., Uchihara, T., Fukuda, T., Noda, S., Kondo, H., Saiki, S., Komatsu, M., Uchiyama, Y., Tanaka, K., & Hattori, N. (2018). Loss of autophagy in dopaminergic neurons causes Lewy pathology and motor dysfunction in aged mice. *Scientific Reports*, 8(1), 2813. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21325-w>
- Sayre, L. M. (1989). Biochemical mechanism of action of the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Toxicology Letters*, 48(2), 121-149. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(89\)90168-9](https://doi.org/10.1016/0378-4274(89)90168-9)
- Schaffner, A., Li, X., Gomez-Llorente, Y., Leandrou, E., Memou, A., Clemente, N., Yao, C., Afsari, F., Zhi, L., Pan, N., Morohashi, K., Hua, X., Zhou, M.-M., Wang, C., Zhang, H., Chen, S. G., Elliott, C. J., Rideout, H., Ubarretxena-Belandia, I., & Yue, Z. (2019). Vitamin B 12 modulates Parkinson's disease LRRK2 kinase activity through allosteric regulation and confers neuroprotection. *Cell Research*, 29(4), 313-329. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0153-8>
- Schapansky, J., Khasnavis, S., DeAndrade, M. P., Nardozi, J. D., Falkson, S. R., Boyd, J. D., Sanderson, J. B., Bartels, T., Melrose, H. L., & LaVoie, M. J. (2018). Familial knockin mutation of LRRK2 causes lysosomal dysfunction and accumulation of endogenous insoluble α -synuclein in neurons. *Neurobiology of Disease*, 111, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.12.005>
- Schapansky, J., Nardozi, J. D., Felizia, F., & LaVoie, M. J. (2014). Membrane recruitment of endogenous LRRK2 precedes its potent regulation of autophagy. *Human Molecular Genetics*, 23(16), 4201-4214. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu138>
- Schapansky, J., Nardozi, J. D., & LaVoie, M. J. (2015). The complex relationships between microglia, alpha-synuclein, and LRRK2 in Parkinson's disease. *Neuroscience*, 302, 74-88. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.049>
- Schapira, A. H. (2008). Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*, 7(1), 97-109. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70327-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70327-7)
- Schapira, A. H. V., Cooper, J. M., Dexter, D., Clark, J. B., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1990). Mitochondrial Complex I Deficiency in Parkinson's Disease. *Journal of Neurochemistry*, 54(3), 823-827. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb02325.x>
- Schell, H., Hasegawa, T., Neumann, M., & Kahle, P. J. (2009). Nuclear and neuritic distribution of serine-129 phosphorylated α -synuclein in transgenic mice. *Neuroscience*, 160(4), 796-804. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.03.002>
- Schenk, D. B., Koller, M., Ness, D. K., Griffith, S. G., Grundman, M., Zago, W., Soto, J., Atiee, G., Ostrowitzki, S., & Kinney, G. G. (2017). First-in-human assessment of PRX002, an anti- α -synuclein monoclonal antibody, in healthy volunteers. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 32(2), 211-218. <https://doi.org/10.1002/mds.26878>
- Scheperjans, F. (2016). Gut microbiota, 1013 new pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Current Opinion in Neurology*, 29(6), 773-780. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000389>
- Schildknecht, S., Karremann, C., Pörtl, D., Efremova, L., Kullmann, C., Gutbier, S., Krug, A.-K., Scholz, D., Gerding, H. R., & Leist, M. (2013). Generation of Genetically-Modified Human Differentiated Cells for Toxicological Tests and the Study of Neurodegenerative Diseases. *Alternatives to Animal Experimentation: ALTEX*, 30(4), 427-444. <https://doi.org/10.14573/altex.2013.4.427>

BIBLIOGRAPHIE

- Schlitter, A. M., Woitalla, D., Mueller, T., Epplen, J. T., & Dekomien, G. (2006). The LRRK2 gene in Parkinson's disease: Mutation screening in patients from Germany. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *77*(7), 891-892. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2005.083022>
- Schneider, S. A., & Alcalay, R. N. (2017). Neuropathology of genetic synucleinopathies with parkinsonism: Review of the literature: Neuropathology of Genetic Parkinson's Disease. *Movement Disorders*, *32*(11), 1504-1523. <https://doi.org/10.1002/mds.27193>
- Schober, A. (2004). Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell and Tissue Research*, *318*(1), 215-224. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0938-y>
- Scholz, D., Pörtl, D., Genewsky, A., Weng, M., Waldmann, T., Schildknecht, S., & Leist, M. (2011). Rapid, complete and large-scale generation of post-mitotic neurons from the human LUHMES cell line. *Journal of Neurochemistry*, *119*(5), 957-971. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07255.x>
- Schuepbach, W. M. M., Rau, J., Knudsen, K., Volkman, J., Krack, P., Timmermann, L., Hälbig, T. D., Hesekamp, H., Navarro, S. M., Meier, N., Falk, D., Mehdorn, M., Paschen, S., Maarouf, M., Barbe, M. T., Fink, G. R., Kupsch, A., Gruber, D., Schneider, G.-H., ... EARLYSTIM Study Group. (2013). Neurostimulation for Parkinson's disease with early motor complications. *The New England Journal of Medicine*, *368*(7), 610-622. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1205158>
- Schulz-Schaeffer, W. J. (2010). The synaptic pathology of α -synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathologica*, *120*(2), 131-143. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0711-0>
- Schulz-Schaeffer, W. J. (2012). Neurodegeneration in Parkinson disease: Moving Lewy bodies out of focus. *Neurology*, *79*(24), 2298-2299. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318278b6a7>
- Schwab, A. J., & Ebert, A. D. (2015). Neurite Aggregation and Calcium Dysfunction in iPSC-Derived Sensory Neurons with Parkinson's Disease-Related LRRK2 G2019S Mutation. *Stem Cell Reports*, *5*(6), 1039-1052. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.11.004>
- Scott, D., & Roy, S. (2012). α -Synuclein Inhibits Intersynaptic Vesicle Mobility and Maintains Recycling-Pool Homeostasis. *Journal of Neuroscience*, *32*(30), 10129-10135. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0535-12.2012>
- Seidel, K., Mahlke, J., Siswanto, S., Krüger, R., Heinsen, H., Auburger, G., Bouzrou, M., Grinberg, L. T., Wicht, H., Korf, H.-W., den Dunnen, W., & Rüb, U. (2015). The brainstem pathologies of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, *25*(2), 121-135. <https://doi.org/10.1111/bpa.12168>
- Selikhova, M., Williams, D. R., Kempster, P. A., Holton, J. L., Revesz, T., & Lees, A. J. (2009). A clinico-pathological study of subtypes in Parkinson's disease. *Brain*, *132*(11), 2947-2957. <https://doi.org/10.1093/brain/awp234>
- Selvaraj, S., Sun, Y., Watt, J. A., Wang, S., Lei, S., Birnbaumer, L., & Singh, B. B. (2012). Neurotoxin-induced ER stress in mouse dopaminergic neurons involves downregulation of TRPC1 and inhibition of AKT/mTOR signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, *122*(4), 1354-1367. <https://doi.org/10.1172/JCI61332>
- Sen, S., Webber, P. J., & West, A. B. (2009). Dependence of Leucine-rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Kinase Activity on Dimerization*. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(52), 36346-36356. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.025437>
- Senkevich, K., & Gan-Or, Z. (2019). Autophagy lysosomal pathway dysfunction in Parkinson's disease; evidence from human genetics. *Parkinsonism & Related Disorders*, *S1353802019304912*. <https://doi.org/10.1016/j.parkreidis.2019.11.015>
- Shahmoradian, S. H., Lewis, A. J., Genoud, C., Hench, J., Moors, T. E., Navarro, P. P., Castaño-Díez, D., Schweighauser, G., Graff-Meyer, A., Goldie, K. N., Sütterlin, R., Huisman, E., Ingrassia, A., Gier, Y. de, Rozemuller, A. J. M., Wang, J., Paepe, A. D., Erny, J., Staempfli, A., ... Lauer, M. E. (2019). Lewy pathology in Parkinson's disease consists of crowded organelles and lipid membranes. *Nature Neuroscience*, *22*(7), 1099-1109. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0423-2>
- Shaikh, S., & Nicholson, L. F. B. (2008). Advanced glycation end products induce in vitro cross-linking of alpha-synuclein and accelerate the process of intracellular inclusion body formation. *Journal of Neuroscience Research*, *86*(9), 2071-2082. <https://doi.org/10.1002/jnr.21644>
- Shaltouki, A., Hsieh, C.-H., Kim, M. J., & Wang, X. (2018). Alpha-Synuclein Delays Mitophagy and Targeting Miro Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. *Acta neuropathologica*, *136*(4), 607-620. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1873-4>
- Sharon, R., Goldberg, M. S., Bar-Josef, I., Betensky, R. A., Shen, J., & Selkoe, D. J. (2001). α -Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(16), 9110-9115. <https://doi.org/10.1073/pnas.171300598>
- Shen, C.-H., Chou, C.-H., Liu, F.-C., Lin, T.-Y., Huang, W.-Y., Wang, Y.-C., & Kao, C.-H. (2016). Association Between Tuberculosis and Parkinson Disease. *Medicine*, *95*(8). <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002883>
- Sheng, Z., Zhang, S., Bustos, D., Kleinheinz, T., Le Pichon, C. E., Dominguez, S. L., Solanoy, H. O., Drummond, J., Zhang, X., Ding, X., Cai, F., Song, Q., Li, X., Yue, Z., van der Brug, M. P., Burdick, D. J., Gunzner-Toste, J., Chen, H., Liu, X., ... Zhu, H. (2012). Ser1292 autophosphorylation is an indicator of LRRK2 kinase activity and contributes to the cellular effects of PD mutations. *Science Translational Medicine*, *4*(164), 164ra161. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004485>
- Sherer, T. B., Kim, J.-H., Betarbet, R., & Greenamyre, J. T. (2003). Subcutaneous Rotenone Exposure Causes Highly Selective Dopaminergic Degeneration and α -Synuclein Aggregation. *Experimental Neurology*, *179*(1), 9-16. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.8072>
- Shimozawa, A., Ono, M., Takahara, D., Tarutani, A., Imura, S., Masuda-Suzukake, M., Higuchi, M., Yanai, K., Hisanaga, S., & Hasegawa, M. (2017). Propagation of pathological α -synuclein in marmoset brain. *Acta Neuropathologica Communications*, *5*(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0413-0>
- Shimura, H., Schlossmacher, M. G., Hattori, N., Frosch, M. P., Trockenbacher, A., Schneider, R., Mizuno, Y., Kosik, K. S., & Selkoe, D. J. (2001). Ubiquitination of a New Form of α -Synuclein by Parkin from Human Brain: Implications for Parkinson's Disease. *Science*, *293*(5528), 263-269. <https://doi.org/10.1126/science.1060627>

- Shin, N., Jeong, H., Kwon, J., Heo, H. Y., Kwon, J. J., Yun, H. J., Kim, C.-H., Han, B. S., Tong, Y., Shen, J., Hatano, T., Hattori, N., Kim, K.-S., Chang, S., & Seol, W. (2008). LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis. *Experimental Cell Research*, *314*(10), 2055-2065. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.02.015>
- Shin, W. H., & Chung, K. C. (2020). Death-associated Protein Kinase 1 Phosphorylates α -Synuclein at Ser129 and Exacerbates Rotenone-induced Toxic Aggregation of α -Synuclein in Dopaminergic SH-SY5Y Cells. *Experimental Neurobiology*, *29*(3), 207-218. <https://doi.org/10.5607/en20014>
- Shin, W. H., Park, J. H., & Chung, K. C. (2020). The central regulator p62 between ubiquitin proteasome system and autophagy and its role in the mitophagy and Parkinson's disease. *BMB Reports*, *53*(1), 56-63. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2020.53.1.283>
- Shrivastava, A. N., Redeker, V., Fritz, N., Pieri, L., Almeida, L. G., Spolidoro, M., Liebmann, T., Bousset, L., Renner, M., Léna, C., Aperia, A., Melki, R., & Triller, A. (2015). α -synuclein assemblies sequester neuronal α 3-Na⁺/K⁺-ATPase and impair Na⁺ gradient. *The EMBO Journal*, *34*(19), 2408-2423. <https://doi.org/10.15252/embj.201591397>
- Shukla, A. K., Pragma, P., Chaouhan, H. S., Patel, D. K., Abdin, M. Z., & Kar Chowdhuri, D. (2014). A mutation in Drosophila methuselah resists paraquat induced Parkinson-like phenotypes. *Neurobiology of Aging*, *35*(10), 2419.e1-2419.e16. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.04.008>
- Shutinowski, B., Hakimi, M., Harmsen, I. E., Lunn, M., Rocha, J., Lengacher, N., Zhou, Y. Y., Khan, J., Nguyen, A., Hake-Volling, Q., El-Kodsi, D., Li, J., Alikashani, A., Beauchamp, C., Majithia, J., Coombs, K., Shimshek, D., Marcogliese, P. C., Park, D. S., ... Schlossmacher, M. G. (2019). Lrrk2 alleles modulate inflammation during microbial infection of mice in a sex-dependent manner. *Science Translational Medicine*, *11*(511). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aas9292>
- Sian, J., Dexter, D. T., Lees, A. J., Daniel, S., Agid, Y., Javoy-Agid, F., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1994). Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Annals of Neurology*, *36*(3), 348-355. <https://doi.org/10.1002/ana.410360305>
- Sidhu, A., Wersinger, C., & Vernier, P. (2004). α -Synuclein regulation of the dopaminergic transporter: A possible role in the pathogenesis of Parkinson's disease. *FEBS Letters*, *565*(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.03.063>
- Sidransky, E., & Lopez, G. (2012). The link between the GBA gene and parkinsonism. *The Lancet. Neurology*, *11*(11), 986-998. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70190-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70190-4)
- Sidransky, E., Nalls, M. A., Aasly, J. O., Aharon-Peretz, J., Annesi, G., Barbosa, E. R., Bar-Shira, A., Berg, D., Bras, J., Brice, A., Chen, C.-M., Clark, L. N., Condroyer, C., De Marco, E. V., Dürr, A., Eblan, M. J., Fahn, S., Farrer, M. J., Fung, H.-C., ... Ziegler, S. G. (2009). Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine*, *361*(17), 1651-1661. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0901281>
- Simon-Sanchez, J., Schulte, C., Bras, J. M., Sharma, M., Gibbs, J. R., Berg, D., Paisan-Ruiz, C., Lichtner, P., Scholz, S. W., Hernandez, D. G., Krüger, R., Federoff, M., Klein, C., Goate, A., Perlmutter, J., Bonin, M., Nalls, M. A., Illig, T., Gieger, C., ... Gasser, T. (2009). Genome-Wide Association Study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nature genetics*, *41*(12), 1308-1312. <https://doi.org/10.1038/ng.487>
- Simón-Sánchez, J., Schulte, C., Bras, J. M., Sharma, M., Gibbs, J. R., Berg, D., Paisan-Ruiz, C., Lichtner, P., Scholz, S. W., Hernandez, D. G., Krüger, R., Federoff, M., Klein, C., Goate, A., Perlmutter, J., Bonin, M., Nalls, M. A., Illig, T., Gieger, C., ... Gasser, T. (2009). Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nature Genetics*, *41*(12), 1308-1312. <https://doi.org/10.1038/ng.487>
- Simonsen, A., Cumming, R. C., Brech, A., Isakson, P., Schubert, D. R., & Finley, K. D. (2008). Promoting basal levels of autophagy in the nervous system enhances longevity and oxidant resistance in adult Drosophila. *Autophagy*, *4*(2), 176-184. <https://doi.org/10.4161/auto.5269>
- Singleton, A. B., Farrer, M. J., & Bonifati, V. (2013). The genetics of Parkinson's disease: Progress and therapeutic implications. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *28*(1), 14-23. <https://doi.org/10.1002/mds.25249>
- Smith, W. W., Jiang, H., Pei, Z., Tanaka, Y., Morita, H., Sawa, A., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Ross, C. A. (2005). Endoplasmic reticulum stress and mitochondrial cell death pathways mediate A53T mutant alpha-synuclein-induced toxicity. *Human Molecular Genetics*, *14*(24), 3801-3811. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi396>
- Smith, W. W., Margolis, R. L., Li, X., Troncoso, J. C., Lee, M. K., Dawson, V. L., Dawson, T. M., Iwatsubo, T., & Ross, C. A. (2005). α -Synuclein Phosphorylation Enhances Eosinophilic Cytoplasmic Inclusion Formation in SH-SY5Y Cells. *Journal of Neuroscience*, *25*(23), 5544-5552. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0482-05.2005>
- Smith, W. W., Pei, Z., Jiang, H., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Ross, C. A. (2006). Kinase activity of mutant LRRK2 mediates neuronal toxicity. *Nature Neuroscience*, *9*(10), 1231-1233. <https://doi.org/10.1038/nn1776>
- Soldner, F., Stelzer, Y., Shivalila, C. S., Abraham, B. J., Latourelle, J. C., Barrasa, M. I., Goldmann, J., Myers, R. H., Young, R. A., & Jaenisch, R. (2016). Parkinson-associated risk variant in distal enhancer of α -synuclein modulates target gene expression. *Nature*, *533*(7601), 95-99. <https://doi.org/10.1038/nature17939>
- Somme, J. H., Molano Salazar, A., Gonzalez, A., Tijero, B., Berganzo, K., Lezciano, E., Fernandez Martinez, M., Zarranz, J. J., & Gómez-Esteban, J. C. (2015). Cognitive and behavioral symptoms in Parkinson's disease patients with the G2019S and R1441G mutations of the LRRK2 gene. *Parkinsonism & Related Disorders*, *21*(5), 494-499. <https://doi.org/10.1016/j.parkrelidis.2015.02.019>
- Song, L., He, Y., Ou, J., Zhao, Y., Li, R., Cheng, J., Lin, C.-H., & Ho, M. S. (2017). Auxilin Underlies Progressive Locomotor Deficits and Dopaminergic Neuron Loss in a Drosophila Model of Parkinson's Disease. *Cell Reports*, *18*(5), 1132-1143. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.01.005>

BIBLIOGRAPHIE

- Song, P., Trajkovic, K., Tsunemi, T., & Krainc, D. (2016). Parkin Modulates Endosomal Organization and Function of the Endo-Lysosomal Pathway. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *36*(8), 2425-2437. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2569-15.2016>
- Sonninen, T.-M., Hämäläinen, R. H., Koskivi, M., Oksanen, M., Shakirzyanova, A., Wojciechowski, S., Puttonen, K., Naumenko, N., Goldsteins, G., Laham-Karam, N., Lehtonen, M., Tavi, P., Koistinaho, J., & Lehtonen, Š. (2020). Metabolic alterations in Parkinson's disease astrocytes. *Scientific Reports*, *10*(1), 14474. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71329-8>
- Sorrentino, Z. A., Brooks, M. M. T., Hudson, V., Rutherford, N. J., Golde, T. E., Giasson, B. I., & Chakrabarty, P. (2017). Intrastriatal injection of α -synuclein can lead to widespread synucleinopathy independent of neuroanatomic connectivity. *Molecular Neurodegeneration*, *12*. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0182-z>
- Sossi, V., Fuente-Fernández, R. de la, Nandhagopal, R., Schulzer, M., McKenzie, J., Ruth, T. J., Aasly, J. O., Farrer, M. J., Wszolek, Z. K., & Stoessl, J. A. (2010). Dopamine turnover increases in asymptomatic LRRK2 mutations carriers. *Movement Disorders*, *25*(16), 2717-2723. <https://doi.org/10.1002/mds.23356>
- Soukup, S.-F., Kuenen, S., Vanhauwaert, R., Manetsberger, J., Hernández-Díaz, S., Swerts, J., Schoovaerts, N., Vilain, S., Gounko, N. V., Vints, K., Geens, A., De Strooper, B., & Verstreken, P. (2016). A LRRK2-Dependent EndophilinA Phosphoswitch Is Critical for Macroautophagy at Presynaptic Terminals. *Neuron*, *92*(4), 829-844. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.09.037>
- Spencer, B., Potkar, R., Trejo, M., Rockenstein, E., Patrick, C., Gindi, R., Adame, A., Wyss-Coray, T., & Masliah, E. (2009). Beclin 1 Gene Transfer Activates Autophagy and Ameliorates the Neurodegenerative Pathology in α -Synuclein Models of Parkinson's and Lewy Body Diseases. *Journal of Neuroscience*, *29*(43), 13578-13588. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4390-09.2009>
- Spillantini, M. G., Crowther, R. A., Jakes, R., Hasegawa, M., & Goedert, M. (1998). α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(11), 6469-6473. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6469>
- Spillantini, M. G., Schmidt, M. L., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q., Jakes, R., & Goedert, M. (1997). Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*, *388*(6645), 839-840. <https://doi.org/10.1038/42166>
- Stafa, K., Trancikova, A., Webber, P. J., Glauser, L., West, A. B., & Moore, D. J. (2012). GTPase Activity and Neuronal Toxicity of Parkinson's Disease-Associated LRRK2 Is Regulated by ArfGAP1. *PLOS Genetics*, *8*(2), e1002526. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002526>
- Stafa, K., Tsika, E., Moser, R., Musso, A., Glauser, L., Jones, A., Biskup, S., Xiong, Y., Bandopadhyay, R., Dawson, V. L., Dawson, T. M., & Moore, D. J. (2014). Functional interaction of Parkinson's disease-associated LRRK2 with members of the dynamin GTPase superfamily. *Human Molecular Genetics*, *23*(8), 2055-2077. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt600>
- Stavoe, A. K. H., Hill, S. E., Hall, D. H., & Colón-Ramos, D. A. (2016). KIF1A/UNC-104 Transports ATG-9 to Regulate Neurodevelopment and Autophagy at Synapses. *Developmental Cell*, *38*(2), 171-185. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.06.012>
- Stavoe, A. K. H., & Holzbaur, E. L. F. (2019). Autophagy in Neurons. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *35*, 477-500. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125242>
- Stavoe, A. K. H., & Holzbaur, E. L. F. (2020). Neuronal autophagy declines substantially with age and is rescued by overexpression of WIPI2. *Autophagy*, *16*(2), 371-372. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1695401>
- Stefanis, L., Emmanouilidou, E., Pantazopoulou, M., Kirik, D., Vekrellis, K., & Tofaris, G. K. (2019). How is alpha-synuclein cleared from the cell? *Journal of Neurochemistry*, *150*(5), 577-590. <https://doi.org/10.1111/jnc.14704>
- Stefanovic, A. N. D., Lindhoud, S., Semerdzhiev, S. A., Claessens, M. M. A. E., & Subramaniam, V. (2015). Oligomers of Parkinson's Disease-Related α -Synuclein Mutants Have Similar Structures but Distinctive Membrane Permeabilization Properties. *Biochemistry*, *54*(20), 3142-3150. <https://doi.org/10.1021/bi501369k>
- Steger, M., Diez, F., Dhekne, H. S., Lis, P., Nirujogi, R. S., Karayel, O., Tonelli, F., Martinez, T. N., Lorentzen, E., Pfeffer, S. R., Alessi, D. R., & Mann, M. (2017). Systematic proteomic analysis of LRRK2-mediated Rab GTPase phosphorylation establishes a connection to ciliogenesis. *eLife*, *6*, e31012. <https://doi.org/10.7554/eLife.31012>
- Steger, M., Tonelli, F., Ito, G., Davies, P., Trost, M., Vetter, M., Wachter, S., Lorentzen, E., Duddy, G., Wilson, S., Baptista, M. A., Fiske, B. K., Fell, M. J., Morrow, J. A., Reith, A. D., Alessi, D. R., & Mann, M. (2016). Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases. *ELife*, *5*, e12813. <https://doi.org/10.7554/eLife.12813>
- Stichel, C. C., Zhu, X.-R., Bader, V., Linnartz, B., Schmidt, S., & Lübbert, H. (2007). Mono- and double-mutant mouse models of Parkinson's disease display severe mitochondrial damage. *Human Molecular Genetics*, *16*(20), 2377-2393. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm083>
- Streubel-Gallasch, L., Giusti, V., Sandre, M., Tessari, I., Plotegher, N., Giusto, E., Masato, A., Iovino, L., Battisti, I., Arrigoni, G., Shimshek, D., Greggio, E., Tremblay, M.-E., Bubacco, L., Erlandsson, A., & Civiero, L. (2021). Parkinson's Disease-Associated LRRK2 Interferes with Astrocyte-Mediated Alpha-Synuclein Clearance. *Molecular Neurobiology*. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02327-8>
- Stuendl, A., Kunadt, M., Kruse, N., Bartels, C., Moebius, W., Danzer, K. M., Mollenhauer, B., & Schneider, A. (2016). Induction of α -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain*, *139*(2), 481-494. <https://doi.org/10.1093/brain/awv346>
- Su, Y.-C., Guo, X., & Qi, X. (2015). Threonine 56 phosphorylation of Bcl-2 is required for LRRK2 G2019S-induced mitochondrial depolarization and autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1852*(1), 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.11.009>
- Su, Y.-C., & Qi, X. (2013). Inhibition of excessive mitochondrial fission reduced aberrant autophagy and neuronal damage caused by LRRK2 G2019S mutation. *Human Molecular Genetics*, *22*(22), 4545-4561. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt301>

- Sugeno, N., Takeda, A., Hasegawa, T., Kobayashi, M., Kikuchi, A., Mori, F., Wakabayashi, K., & Itoyama, Y. (2008). Serine 129 Phosphorylation of α -Synuclein Induces Unfolded Protein Response-mediated Cell Death*. *Journal of Biological Chemistry*, *283*(34), 23179-23188. <https://doi.org/10.1074/jbc.M802223200>
- Sulzer, D., Alcalay, R. N., Garretti, F., Cote, L., Kanter, E., Agin-Lieb, J., Liong, C., McMurtrey, C., Hildebrand, W. H., Mao, X., Dawson, V. L., Dawson, T. M., Oseroff, C., Pham, J., Sidney, J., Dillon, M. B., Carpenter, C., Weiskopf, D., Phillips, E., ... Sette, A. (2017). T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides. *Nature*, *546*(7660), 656-661. <https://doi.org/10.1038/nature22815>
- Sulzer, D., & Edwards, R. H. (2020). *The Physiological Role of α -Synuclein and Its Relationship to Parkinson's Disease*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.proxy.insermbiblio.inist.fr/pmc/articles/PMC6707892/>
- Sulzer, D., & Surmeier, D. J. (2013). Neuronal vulnerability, pathogenesis and Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, *28*(1), 41-50. <https://doi.org/10.1002/mds.25095>
- Sulzer, D., & Zecca, L. (2000). Intraneuronal dopamine-quinone synthesis: A review. *Neurotoxicity Research*, *1*(3), 181-195. <https://doi.org/10.1007/BF03033289>
- Sun, Q., Fan, W., Chen, K., Ding, X., Chen, S., & Zhong, Q. (2008). Identification of Barkor as a mammalian autophagy-specific factor for Beclin 1 and class III phosphatidylinositol 3-kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(49), 19211-19216. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810452105>
- Sundborger, A., Soderblom, C., Vorontsova, O., Evergren, E., Hinshaw, J. E., & Shupliakov, O. (2011). An endophilin-dynamin complex promotes budding of clathrin-coated vesicles during synaptic vesicle recycling. *Journal of Cell Science*, *124*(1), 133-143. <https://doi.org/10.1242/jcs.072686>
- Sung, J. Y., Kim, J., Paik, S. R., Park, J. H., Ahn, Y. S., & Chung, K. C. (2001). Induction of Neuronal Cell Death by Rab5A-dependent Endocytosis of α -Synuclein*. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(29), 27441-27448. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101318200>
- Surmeier, D. J., Guzman, J. N., Sanchez, J., & Schumacker, P. T. (2012). Physiological Phenotype and Vulnerability in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(7), a009290. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009290>
- Surmeier, D. J., Obeso, J. A., & Halliday, G. M. (2017). Selective neuronal vulnerability in Parkinson disease. *Nature reviews. Neuroscience*, *18*(2), 101-113. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.178>
- Suzuki, K., Kirisako, T., Kamada, Y., Mizushima, N., Noda, T., & Ohsumi, Y. (2001). The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of APG genes is essential for autophagosome formation. *The EMBO Journal*, *20*(21), 5971-5981. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.21.5971>
- Svensson, E., Horváth-Puhó, E., Thomsen, R. W., Djurhuus, J. C., Pedersen, L., Borghammer, P., & Sørensen, H. T. (2015). Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, *78*(4), 522-529. <https://doi.org/10.1002/ana.24448>
- Sweet, E. S., Saunier-Rebori, B., Yue, Z., & Blitzer, R. D. (2015). The Parkinson's Disease-Associated Mutation LRRK2-G2019S Impairs Synaptic Plasticity in Mouse Hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *35*(32), 11190-11195. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0040-15.2015>
- Tagliaferro, P., & Burke, R. E. (2016). Retrograde Axonal Degeneration in Parkinson Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, *6*(1), 1-15. <https://doi.org/10.3233/JPD-150769>
- Taguchi, K., Watanabe, Y., Tsujimura, A., & Tanaka, M. (2016). Brain region-dependent differential expression of alpha-synuclein. *The Journal of Comparative Neurology*, *524*(6), 1236-1258. <https://doi.org/10.1002/cne.23901>
- Taipa, R., Pereira, C., Reis, I., Alonso, I., Bastos-Lima, A., Melo-Pires, M., & Magalhães, M. (2016). DJ-1 linked parkinsonism (PARK7) is associated with Lewy body pathology. *Brain*, *139*(6), 1680-1687. <https://doi.org/10.1093/brain/aww080>
- Takahashi, J. (2020). iPS cell-based therapy for Parkinson's disease: A Kyoto trial. *Regenerative Therapy*, *13*, 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2020.06.002>
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, *126*(4), 663-676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Takahashi, M., Kanuka, H., Fujiwara, H., Koyama, A., Hasegawa, M., Miura, M., & Iwatsubo, T. (2003). Phosphorylation of α -synuclein characteristic of synucleinopathy lesions is recapitulated in α -synuclein transgenic Drosophila. *Neuroscience Letters*, *336*(3), 155-158. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)01258-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)01258-2)
- Takahashi, T., Yamashita, H., Nakamura, T., Nagano, Y., & Nakamura, S. (2002). Tyrosine 125 of α -synuclein plays a critical role for dimerization following oxidative stress. *Brain Research*, *938*(1), 73-80. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02498-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02498-8)
- Tang, F.-L., Liu, W., Hu, J.-X., Erion, J. R., Ye, J., Mei, L., & Xiong, W.-C. (2015). VPS35 Deficiency or Mutation Causes Dopaminergic Neuronal Loss by Impairing Mitochondrial Fusion and Function. *Cell Reports*, *12*(10), 1631-1643. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.08.001>
- Tang, P., Hou, H., Zhang, L., Lan, X., Mao, Z., Liu, D., He, C., Du, H., & Zhang, L. (2014). Autophagy Reduces Neuronal Damage and Promotes Locomotor Recovery via Inhibition of Apoptosis After Spinal Cord Injury in Rats. *Molecular Neurobiology*, *49*(1), 276-287. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8518-3>
- Tanik, S. A., Schultheiss, C. E., Volpicelli-Daley, L. A., Brunden, K. R., & Lee, V. M. Y. (2013). Lewy Body-like α -Synuclein Aggregates Resist Degradation and Impair Macroautophagy. *Journal of Biological Chemistry*, *288*(21), 15194-15210. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.457408>
- Tannous, P., Zhu, H., Nemchenko, A., Berry, J. M., Johnstone, J. L., Shelton, J. M., Miller, F. J., Rothermel, B. A., & Hill, J. A. (2008). Intracellular protein aggregation is a proximal trigger of cardiomyocyte autophagy. *Circulation*, *117*(24), 3070-3078. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.763870>

BIBLIOGRAPHIE

- Tarasova, T. V., Lytkina, O. A., Goloborshcheva, V. V., Skuratovskaya, L. N., Antohin, A. I., Ovchinnikov, R. K., & Kukharsky, M. S. (2018). Genetic inactivation of alpha-synuclein affects embryonic development of dopaminergic neurons of the substantia nigra, but not the ventral tegmental area, in mouse brain. *PeerJ*, *6*, e4779. <https://doi.org/10.7717/peerj.4779>
- Taylor, T. N., Greene, J. G., & Miller, G. W. (2010). Behavioral phenotyping of mouse models of Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research*, *211*(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.004>
- Taymans, J.-M., Nkiliza, A., & Chartier-Harlin, M.-C. (2015). Deregulation of protein translation control, a potential game-changing hypothesis for Parkinson's disease pathogenesis. *Trends in Molecular Medicine*, *21*(8), 466-472. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.05.004>
- Taymans, J.-M., Vancraenenbroeck, R., Ollikainen, P., Beilina, A., Lobbstaël, E., De Maeyer, M., Baekelandt, V., & Cookson, M. R. (2011). LRRK2 Kinase Activity Is Dependent on LRRK2 GTP Binding Capacity but Independent of LRRK2 GTP Binding. *PLoS ONE*, *6*(8), e23207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023207>
- Tenreiro, S., Reimão-Pinto, M. M., Antas, P., Rino, J., Wawrzycka, D., Macedo, D., Rosado-Ramos, R., Amen, T., Waiss, M., Magalhães, F., Gomes, A., Santos, C. N., Kaganovich, D., & Outeiro, T. F. (2014). Phosphorylation Modulates Clearance of Alpha-Synuclein Inclusions in a Yeast Model of Parkinson's Disease. *PLoS Genetics*, *10*(5), e1004302. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004302>
- Terada, S., Ishizu, H., Yokota, O., Tsuchiya, K., Nakashima, H., Ishihara, T., Fujita, D., Ueda, K., Ikeda, K., & Kuroda, S. (2003). Glial involvement in diffuse Lewy body disease. *Acta Neuropathologica*, *105*(2), 163-169. <https://doi.org/10.1007/s00401-002-0622-9>
- Teves, J. M. Y., Bhargava, V., Kirwan, K. R., Corenblum, M. J., Justiniano, R., Wondrak, G. T., Anandhan, A., Flores, A. J., Schipper, D. A., Khalpey, Z., Sligh, J. E., Curriel-Lewandrowski, C., Sherman, S. J., & Madhavan, L. (2018). Parkinson's Disease Skin Fibroblasts Display Signature Alterations in Growth, Redox Homeostasis, Mitochondrial Function, and Autophagy. *Frontiers in Neuroscience*, *11*, 737. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00737>
- Tofaris, G. K., Layfield, R., & Spillantini, M. G. (2001). α -Synuclein metabolism and aggregation is linked to ubiquitin-independent degradation by the proteasome. *FEBS Letters*, *509*(1), 22-26. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)03115-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)03115-5)
- Tolosa, E., Vila, M., Klein, C., & Rascol, O. (2020). LRRK2 in Parkinson disease: Challenges of clinical trials. *Nature Reviews Neurology*, *16*(2), 97-107. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0301-2>
- Tong, Y., Giaime, E., Yamaguchi, H., Ichimura, T., Liu, Y., Si, H., Cai, H., Bonventre, J. V., & Shen, J. (2012). Loss of leucine-rich repeat kinase 2 causes age-dependent bi-phasic alterations of the autophagy pathway. *Molecular Neurodegeneration*, *7*(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-2>
- Tong, Y., Pisani, A., Martella, G., Karouani, M., Yamaguchi, H., Pothos, E. N., & Shen, J. (2009). R1441C mutation in LRRK2 impairs dopaminergic neurotransmission in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(34), 14622-14627. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906334106>
- Tong, Y., Yamaguchi, H., Giaime, E., Boyle, S., Kopan, R., Kelleher, R. J., & Shen, J. (2010). Loss of leucine-rich repeat kinase 2 causes impairment of protein degradation pathways, accumulation of α -synuclein, and apoptotic cell death in aged mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(21), 9879-9884. <https://doi.org/10.1073/pnas.1004676107>
- Toovey, S., Jick, S. S., & Meier, C. R. (2011). Parkinson's disease or Parkinson symptoms following seasonal influenza. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, *5*(5), 328-333. <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2011.00232.x>
- Torra, A., Parent, A., Cuadros, T., Rodríguez-Galván, B., Ruiz-Bronchal, E., Ballabio, A., Bortolozzi, A., Vila, M., & Bové, J. (2018). Overexpression of TFEB Drives a Pleiotropic Neurotrophic Effect and Prevents Parkinson's Disease-Related Neurodegeneration. *Molecular Therapy*, *26*(6), 1552-1567. <https://doi.org/10.1016/j.yjthe.2018.02.022>
- Tredici, K. D., & Braak, H. (2013). Dysfunction of the locus coeruleus–norepinephrine system and related circuitry in Parkinson's disease-related dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *84*(7), 774-783. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2011-301817>
- TRETIKOFF, C. (1919). Contribution a l'etude de l'Anatomie pathologique du Locus Niger de Soemmering avec quelques deduction relatives a la pathogenie des troubles du tonus musculaire et de la maladie de Parkinson. *Theses de Paris*. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10016928815/>
- Trist, B. (2019). *Superoxide dismutase 1 in the aetiology of Parkinson's disease*. <https://ses.library.usyd.edu.au/handle/2123/20579>
- Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (1998). Aggregation of Neurofilament and α -Synuclein Proteins in Lewy Bodies: Implications for the Pathogenesis of Parkinson Disease and Lewy Body Dementia. *Archives of Neurology*, *55*(2), 151-152. <https://doi.org/10.1001/archneur.55.2.151>
- Tsuboi, Y., Uchikado, H., & Dickson, D. W. (2007). Neuropathology of Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies with reference to striatal pathology. *Parkinsonism & Related Disorders*, *13*, S221-S224. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(08\)70005-1](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(08)70005-1)
- Tsukada, M., & Ohsumi, Y. (1993). Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, *333*(1-2), 169-174. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80398-E](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80398-E)
- Tsukamoto, S., Kuma, A., & Mizushima, N. (2008). The role of autophagy during the oocyte-to-embryo transition. *Autophagy*, *4*(8), 1076-1078. <https://doi.org/10.4161/auto.7065>
- Tu, P., Galvin, J. E., Baba, M., Giasson, B., Tomita, T., Leight, S., Nakajo, S., Iwatsubo, T., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (1998). Glial cytoplasmic inclusions in white matter oligodendrocytes of multiple system atrophy brains contain insoluble α -synuclein. *Annals of Neurology*, *44*(3), 415-422. <https://doi.org/10.1002/ana.410440324>
- U, U., T, L., & G, S. (1974). Behavioral, physiological, and neurochemical changes after 6-hydroxydopamine-induced degeneration of the nigro-striatal dopamine neurons. *Advances in Neurology*, *5*, 421-426.

- Uéda, K., Fukushima, H., Masliah, E., Xia, Y., Iwai, A., Yoshimoto, M., Otero, D. A., Kondo, J., Ihara, Y., & Saitoh, T. (1993). Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(23), 11282-11286. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.23.11282>
- Ujiie, S., Hatano, T., Kubo, S., Imai, S., Sato, S., Uchihara, T., Yagishita, S., Hasegawa, K., Kowa, H., Sakai, F., & Hattori, N. (2012). LRRK2 I2020T mutation is associated with tau pathology. *Parkinsonism & Related Disorders*, *18*(7), 819-823. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2012.03.024>
- Vaart, A. van der, & Reggiori, F. (2010). The Golgi complex as a source for yeast autophagosomal membranes. *Autophagy*, *6*(6), 800-801. <https://doi.org/10.4161/auto.6.6.12575>
- Van der Perren, A., Toelen, J., Casteels, C., Macchi, F., Van Rompuy, A.-S., Sarre, S., Casadei, N., Nuber, S., Himmelreich, U., Osorio Garcia, M. I., Michotte, Y., D'Hooge, R., Bormans, G., Van Laere, K., Gijsbers, R., Van den Haute, C., Debyser, Z., & Baekelandt, V. (2015). Longitudinal follow-up and characterization of a robust rat model for Parkinson's disease based on overexpression of alpha-synuclein with adeno-associated viral vectors. *Neurobiology of Aging*, *36*(3), 1543-1558. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.11.015>
- van Rooijen, B. D., Claessens, M. M. A. E., & Subramaniam, V. (2009). Lipid bilayer disruption by oligomeric α -synuclein depends on bilayer charge and accessibility of the hydrophobic core. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *1788*(6), 1271-1278. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.03.010>
- Vaz, R. L., Outeiro, T. F., & Ferreira, J. J. (2018). Zebrafish as an Animal Model for Drug Discovery in Parkinson's Disease and Other Movement Disorders: A Systematic Review. *Frontiers in Neurology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00347>
- Vekrellis, K., Xilouri, M., Emmanouilidou, E., Rideout, H. J., & Stefanis, L. (2011). Pathological roles of α -synuclein in neurological disorders. *The Lancet Neurology*, *10*(11), 1015-1025. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70213-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70213-7)
- Vellai, T., Takács-Vellai, K., Sass, M., & Klionsky, D. J. (2009). The regulation of aging: Does autophagy underlie longevity? *Trends in Cell Biology*, *19*(10), 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.07.007>
- Vilas, D., Ispuerto, L., Álvarez, R., Pont-Sunyer, C., Martí, M. J., Valldeoriola, F., Compta, Y., de Fabregues, O., Hernández-Vara, J., Puente, V., Calopa, M., Jaumà, S., Campdelacreu, J., Aguilar, M., Quílez, P., Casquero, P., Lomeña, F., Ríos, J., & Tolosa, E. (2015). Clinical and imaging markers in premotor LRRK2 G2019S mutation carriers. *Parkinsonism & Related Disorders*, *21*(10), 1170-1176. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.08.007>
- Visanji, N. P., Brotchie, J. M., Kalia, L. V., Koprach, J. B., Tandon, A., Watts, J. C., & Lang, A. E. (2016). α -Synuclein-Based Animal Models of Parkinson's Disease: Challenges and Opportunities in a New Era. *Trends in Neurosciences*, *39*(11), 750-762. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.09.003>
- Visanji, Wislet-Gendebien, & Oschipok. (2011). *DJ-1 interactions with α -synuclein attenuate aggregation and cellular toxicity in models of Parkinson's disease*—PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/proxy.insermbiblio.inist.fr/25058424/>
- Vitte, J., Traver, S., Maués De Paula, A., Lesage, S., Rovelli, G., Corti, O., Duyckaerts, C., & Brice, A. (2010). Leucine-Rich Repeat Kinase 2 Is Associated With the Endoplasmic Reticulum in Dopaminergic Neurons and Accumulates in the Core of Lewy Bodies in Parkinson Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *69*(9), 959-972. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181efc01c>
- Vogiatzi, T., Xilouri, M., Vekrellis, K., & Stefanis, L. (2008). Wild Type α -Synuclein Is Degraded by Chaperone-mediated Autophagy and Macroautophagy in Neuronal Cells. *Journal of Biological Chemistry*, *283*(35), 23542-23556. <https://doi.org/10.1074/jbc.M801992200>
- Volpicelli-Daley, L. A., Abdelmotilib, H., Liu, Z., Stoyka, L., Daher, J. P. L., Milnerwood, A. J., Unni, V. K., Hirst, W. D., Yue, Z., Zhao, H. T., Fraser, K., Kennedy, R. E., & West, A. B. (2016). G2019S-LRRK2 Expression Augments α -Synuclein Sequestration into Inclusions in Neurons. *Journal of Neuroscience*, *36*(28), 7415-7427. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3642-15.2016>
- Volpicelli-Daley, L. A., Luk, K. C., & Lee, V. M.-Y. (2014). Addition of exogenous α -synuclein preformed fibrils to primary neuronal cultures to seed recruitment of endogenous α -synuclein to Lewy body and Lewy neurite-like aggregates. *Nature Protocols*, *9*(9), 2135-2146. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.143>
- Volpicelli-Daley, L. A., Luk, K. C., Patel, T. P., Tanik, S. A., Riddle, D. M., Stieber, A., Meaney, D. F., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2011). Exogenous α -Synuclein Fibrils Induce Lewy Body Pathology Leading to Synaptic Dysfunction and Neuron Death. *Neuron*, *72*(1), 57-71. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.08.033>
- Volta, M., Beccano-Kelly, D. A., Paschall, S. A., Cataldi, S., MacIsaac, S. E., Kuhlmann, N., Kadgien, C. A., Tatarnikov, I., Fox, J., Khinda, J., Mitchell, E., Bergeron, S., Melrose, H., Farrer, M. J., & Milnerwood, A. J. (2017). Initial elevations in glutamate and dopamine neurotransmission decline with age, as does exploratory behavior, in LRRK2 G2019S knock-in mice. *ELife*, *6*, e28377. <https://doi.org/10.7554/eLife.28377>
- Wakabayashi, K., Engelender, S., Yoshimoto, M., Tsuji, S., Ross, C. A., & Takahashi, H. (2000). Synphilin-1 is present in Lewy bodies in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, *47*(4), 521-523. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200004\)47:4<521::AID-ANA18>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200004)47:4<521::AID-ANA18>3.0.CO;2-B)
- Wakabayashi, K., Tanji, K., Mori, F., & Takahashi, H. (2007). The Lewy body in Parkinson's disease: Molecules implicated in the formation and degradation of α -synuclein aggregates. *Neuropathology*, *27*(5), 494-506. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2007.00803.x>
- Wakabayashi, K., Yoshimoto, M., Tsuji, S., & Takahashi, H. (1998). Alpha-synuclein immunoreactivity in glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy. *Neuroscience Letters*, *249*(2-3), 180-182. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(98\)00407-8](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(98)00407-8)
- Wallings, R., Connor-Robson, N., & Wade-Martins, R. (2019). LRRK2 interacts with the vacuolar-type H⁺-ATPase pump α 1 subunit to regulate lysosomal function. *Human Molecular Genetics*, *28*(16), 2696-2710. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz088>
- Wallings, R. L., & Tansey, M. G. (2019). LRRK2 regulation of immune-pathways and inflammatory disease. *Biochemical Society Transactions*, *47*(6), 1581-1595. <https://doi.org/10.1042/BST20180463>

BIBLIOGRAPHIE

- Walusinski, O. (2018). Jean-Martin Charcot and Parkinson's disease: Teaching and teaching materials. *Revue Neurologique*, 174(7-8), 491-505. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.08.005>
- Wandinger-Ness, A., & Zerial, M. (2014). Rab Proteins and the Compartmentalization of the Endosomal System. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(11). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022616>
- Wandu, W. S., Tan, C., Ogbeifun, O., Vistica, B. P., Shi, G., Hinshaw, S. J. H., Xie, C., Chen, X., Klinman, D. M., Cai, H., & Gery, I. (2015). Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (Lrrk2) Deficiency Diminishes the Development of Experimental Autoimmune Uveitis (EAU) and the Adaptive Immune Response. *PLOS ONE*, 10(6), e0128906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128906>
- Wang, C., Cai, Y., Gu, Z., Ma, J., Zheng, Z., Tang, B.-S., Xu, Y., Zhou, Y., Feng, T., Wang, T., Chen, S.-D., & Chan, P. (2014). Clinical profiles of Parkinson's disease associated with common leucine-rich repeat kinase 2 and glucocerebrosidase genetic variants in Chinese individuals. *Neurobiology of Aging*, 35(3), 725.e1-725.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.08.012>
- Wang, F., Durfee, L. A., & Huibregtse, J. M. (2013). A cotranslational ubiquitination pathway for quality control of misfolded proteins. *Molecular Cell*, 50(3), 368-378. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.03.009>
- Wang, S., Liu, Z., Ye, T., Mabrouk, O. S., Maltbie, T., Aasly, J., & West, A. B. (2017). Elevated LRRK2 autophosphorylation in brain-derived and peripheral exosomes in LRRK2 mutation carriers. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0492-y>
- Wang, W., Perovic, I., Chittuluru, J., Kaganovich, A., Nguyen, L. T. T., Liao, J., Auclair, J. R., Johnson, D., Landeru, A., Simorellis, A. K., Ju, S., Cookson, M. R., Asturias, F. J., Agar, J. N., Webb, B. N., Kang, C., Ringe, D., Petsko, G. A., Pochapsky, T. C., & Hoang, Q. Q. (2011). A soluble α -synuclein construct forms a dynamic tetramer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(43), 17797-17802. <https://doi.org/10.1073/pnas.1113260108>
- Wang, X., Yan, M. H., Fujioka, H., Liu, J., Wilson-Delfosse, A., Chen, S. G., Perry, G., Casadesus, G., & Zhu, X. (2012). LRRK2 regulates mitochondrial dynamics and function through direct interaction with DLP1. *Human Molecular Genetics*, 21(9), 1931-1944. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds003>
- Watts, J. C., Giles, K., Oehler, A., Middleton, L., Dexter, D. T., Gentleman, S. M., DeArmond, S. J., & Prusiner, S. B. (2013). Transmission of multiple system atrophy prions to transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48), 19555-19560. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318268110>
- Wauters, L., Versées, W., & Kortholt, A. (2019). Roco Proteins: GTPases with a Baroque Structure and Mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 147. <https://doi.org/10.3390/ijms20010147>
- Waxman, E. A., & Giasson, B. I. (2008). Specificity and Regulation of Casein Kinase-Mediated Phosphorylation of α -Synuclein. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 67(5), 402-416. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3186fc995>
- Webb, J. L., Ravikumar, B., Atkins, J., Skepper, J. N., & Rubinsztein, D. C. (2003). α -Synuclein Is Degraded by Both Autophagy and the Proteasome. *Journal of Biological Chemistry*, 278(27), 25009-25013. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300227200>
- Weihofen, A., Liu, Y., Arndt, J. W., Huy, C., Quan, C., Smith, B. A., Baeriswyl, J.-L., Cavegn, N., Senn, L., Su, L., Marsh, G., Auluck, P. K., Montrasio, F., Nitsch, R. M., Hirst, W. D., Cedarbaum, J. M., Pepinsky, R. B., Grimm, J., & Weinreb, P. H. (2019). Development of an aggregate-selective, human-derived α -synuclein antibody BIB054 that ameliorates disease phenotypes in Parkinson's disease models. *Neurobiology of Disease*, 124, 276-288. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.10.016>
- Weinreb, P. H., Zhen, W., Poon, A. W., Conway, K. A., & Lansbury, P. T. (1996). NACP, A Protein Implicated in Alzheimer's Disease and Learning, Is Natively Unfolded. *Biochemistry*, 35(43), 13709-13715. <https://doi.org/10.1021/bi961799n>
- Weisskopf, M. G., O'Reilly, E., Chen, H., Schwarzschild, M. A., & Ascherio, A. (2007). Plasma urate and risk of Parkinson's disease. *American Journal of Epidemiology*, 166(5), 561-567. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm127>
- West, A. B. (2017). Achieving neuroprotection with LRRK2 kinase inhibitors in Parkinson disease. *Experimental Neurology*, 298, 236-245. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.07.019>
- West, A. B., Moore, D. J., Biskup, S., Bugayenko, A., Smith, W. W., Ross, C. A., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2005). Parkinson's disease-associated mutations in leucine-rich repeat kinase 2 augment kinase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(46), 16842-16847. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507360102>
- West, A. B., Moore, D. J., Choi, C., Andrabi, S. A., Li, X., Dikeman, D., Biskup, S., Zhang, Z., Lim, K.-L., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2007). Parkinson's disease-associated mutations in LRRK2 link enhanced GTP-binding and kinase activities to neuronal toxicity. *Human Molecular Genetics*, 16(2), 223-232. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl471>
- Westerlund, M., Ran, C., Borgkvist, A., Sterky, F. H., Lindqvist, E., Lundströmer, K., Pernold, K., Brené, S., Kallunki, P., Fisone, G., Olson, L., & Galter, D. (2008). Lrrk2 and α -synuclein are co-regulated in rodent striatum. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 39(4), 586-591. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.08.001>
- White, J. G., Southgate, E., Thomson, J. N., & Brenner, S. (1986). The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 314(1165), 1-340. <https://doi.org/10.1098/rstb.1986.0056>
- Wilkaniec, A., Lenkiewicz, A. M., Babiec, L., Murawska, E., Jęško, H. M., Cieślík, M., Culmsee, C., & Adamczyk, A. (2021). Exogenous Alpha-Synuclein Evoked Parkin Downregulation Promotes Mitochondrial Dysfunction in Neuronal Cells. Implications for Parkinson's Disease Pathology. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 0. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.591475>
- Winner, B., Melrose, H. L., Zhao, C., Hinkle, K. M., Yue, M., Kent, C., Braithwaite, A. T., Ogholikhan, S., Aigner, R., Winkler, J., Farrer, M. J., & Gage, F. H. (2011). Adult neurogenesis and neurite outgrowth are impaired in LRRK2 G2019S mice. *Neurobiology of Disease*, 41(3), 706-716. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.12.008>

- Winslow, A. R., Chen, C.-W., Corrochano, S., Acevedo-Arozena, A., Gordon, D. E., Peden, A. A., Lichtenberg, M., Menzies, F. M., Ravikumar, B., Imarisio, S., Brown, S., O'Kane, C. J., & Rubinsztein, D. C. (2010). α -Synuclein impairs macroautophagy: Implications for Parkinson's disease. *The Journal of Cell Biology*, 190(6), 1023-1037. <https://doi.org/10.1083/jcb.201003122>
- Withers, G. S., George, J. M., Banker, G. A., & Clayton, D. F. (1997). Delayed localization of synelfin (synuclein, NACP) to presynaptic terminals in cultured rat hippocampal neurons. *Developmental Brain Research*, 99(1), 87-94. [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(96\)00210-6](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(96)00210-6)
- Woerman, A. L., Oehler, A., Kazmi, S. A., Lee, J., Halliday, G. M., Middleton, L. T., Gentleman, S. M., Mordes, D. A., Spina, S., Grinberg, L. T., Olson, S. H., & Prusiner, S. B. (2019). Multiple system atrophy prions retain strain specificity after serial propagation in two different Tg(SNCA*A53T) mouse lines. *Acta Neuropathologica*, 137(3), 437-454. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01959-4>
- Wong, S. Q., Kumar, A. V., Mills, J., & Lapierre, L. R. (2020). Autophagy in aging and longevity. *Human Genetics*, 139(3), 277-290. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-02031-7>
- Wong, Y. C., & Holzbaur, E. L. F. (2015). Autophagosome dynamics in neurodegeneration at a glance. *Journal of Cell Science*, 128(7), 1259-1267. <https://doi.org/10.1242/jcs.161216>
- Wong, Y. C., & Krainc, D. (2017). α -synuclein toxicity in neurodegeneration: Mechanism and therapeutic strategies. *Nature Medicine*, 23(2), 1-13. <https://doi.org/10.1038/nm.4269>
- Wooten, M. W., Hu, X., Babu, J. R., Seibenhener, M. L., Geetha, T., Paine, M. G., & Wooten, M. C. (2006). Signaling, Polyubiquitination, Trafficking, and Inclusions: Sequestosome 1/p62's Role in Neurodegenerative Disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2006, e62079. <https://doi.org/10.1155/JBB/2006/62079>
- Wrasidlo, W., Tsigelny, I. F., Price, D. L., Dutta, G., Rockenstein, E., Schwarz, T. C., Ledolter, K., Bonhaus, D., Paulino, A., Eleuteri, S., Skjevik, Å. A., Kouznetsova, V. L., Spencer, B., Desplats, P., Gonzalez-Ruelas, T., Trejo-Morales, M., Overk, C. R., Winter, S., Zhu, C., ... Masliah, E. (2016). A de novo compound targeting α -synuclein improves deficits in models of Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 139(Pt 12), 3217-3236. <https://doi.org/10.1093/brain/aww238>
- Wu, B., Liu, Q., Duan, C., Li, Y., Yu, S., Chan, P., Uéda, K., & Yang, H. (2011). Phosphorylation of α -synuclein upregulates tyrosine hydroxylase activity in MN9D cells. *Acta Histochemica*, 113(1), 32-35. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2009.07.007>
- Wu, D.-C., Teismann, P., Tieu, K., Vila, M., Jackson-Lewis, V., Ischiropoulos, H., & Przedborski, S. (2003). NADPH oxidase mediates oxidative stress in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(10), 6145-6150. <https://doi.org/10.1073/pnas.0937239100>
- Wu, Y.-T., Tan, H.-L., Shui, G., Bauvy, C., Huang, Q., Wenk, M. R., Ong, C.-N., Codogno, P., & Shen, H.-M. (2010). Dual Role of 3-Methyladenine in Modulation of Autophagy via Different Temporal Patterns of Inhibition on Class I and III Phosphoinositide 3-Kinase*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(14), 10850-10861. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.080796>
- Xie, W., & Chung, K. K. K. (2012). Alpha-synuclein impairs normal dynamics of mitochondria in cell and animal models of Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, 122(2), 404-414. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07769.x>
- Xie, Y. X., Naseri, N. N., Fels, J., Kharel, P., Na, Y., Burré, J., & Sharma, M. (2021). Lysosomal Exocytosis Releases Pathogenic α -Synuclein Species from Neurons. *BioRxiv*, 2021.04.10.439302. <https://doi.org/10.1101/2021.04.10.439302>
- Xilouri, M., Brekk, O. R., Kirik, D., & Stefanis, L. (2013). LAMP2A as a therapeutic target in Parkinson disease. *Autophagy*, 9(12), 2166-2168. <https://doi.org/10.4161/auto.26451>
- Xilouri, M., Brekk, O. R., & Stefanis, L. (2016). Autophagy and Alpha-Synuclein: Relevance to Parkinson's Disease and Related Synucleopathies. *Movement Disorders*, 31(2), 178-192. <https://doi.org/10.1002/mds.26477>
- Xilouri, M., Vogiatzi, T., Vekrellis, K., Park, D., & Stefanis, L. (2009). Aberrant α -Synuclein Confers Toxicity to Neurons in Part through Inhibition of Chaperone-Mediated Autophagy. *PLoS ONE*, 4(5), e5515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005515>
- Xiong, Y., Neifert, S., Karuppagounder, S. S., Liu, Q., Stankowski, J. N., Lee, B. D., Ko, H. S., Lee, Y., Grima, J. C., Mao, X., Jiang, H., Kang, S.-U., Swing, D. A., Iacovitti, L., Tessarollo, L., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2018). Robust kinase- and age-dependent dopaminergic and norepinephrine neurodegeneration in LRRK2 G2019S transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(7), 1635-1640. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712648115>
- Xu, J., Gong, D. D., Man, C. F., & Fan, Y. (2014). Parkinson's disease and risk of mortality: Meta-analysis and systematic review. *Acta Neurologica Scandinavica*, 129(2), 71-79. <https://doi.org/10.1111/ane.12201>
- Xu, J., Kao, S.-Y., Lee, F. J. S., Song, W., Jin, L.-W., & Yankner, B. A. (2002). Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: A mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. *Nature Medicine*, 8(6), 600-606. <https://doi.org/10.1038/nm0602-600>
- Yakhine-Diop, S. M. S., Bravo-San Pedro, J. M., Gómez-Sánchez, R., Pizarro-Estrella, E., Rodríguez-Arribas, M., Climent, V., Aiastui, A., de Munain, A. L., Fuentes, J. M., & González-Polo, R. A. (2014). G2019S LRRK2 mutant fibroblasts from Parkinson's disease patients show increased sensitivity to neurotoxin 1-methyl-4-phenylpyridinium dependent of autophagy. *Toxicology*, 324, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.07.001>
- Yamasaki, T. R., Holmes, B. B., Furman, J. L., Dhavale, D. D., Su, B. W., Song, E.-S., Cairns, N. J., Kotzbauer, P. T., & Diamond, M. I. (2019). Parkinson's disease and multiple system atrophy have distinct α -synuclein seed characteristics. *Journal of Biological Chemistry*, 294(3), 1045-1058. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004471>
- Yamashita, T., Ishikawa, T., & Takahashi, T. (2003). Developmental Increase in Vesicular Glutamate Content Does Not Cause Saturation of AMPA Receptors at the Calyx of Held Synapse. *Journal of Neuroscience*, 23(9), 3633-3638. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-09-03633.2003>
- Yamin, G., Uversky, V. N., & Fink, A. L. (2003). Nitration inhibits fibrillation of human α -synuclein in vitro by formation of soluble oligomers. *FEBS Letters*, 542(1), 147-152. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00367-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00367-3)

BIBLIOGRAPHIE

- Yan, C. H., Levesque, M., Claxton, S., Johnson, R. L., & Ang, S.-L. (2011). Lmx1a and Lmx1b Function Cooperatively to Regulate Proliferation, Specification, and Differentiation of Midbrain Dopaminergic Progenitors. *Journal of Neuroscience*, *31*(35), 12413-12425. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1077-11.2011>
- Yang, J., Wang, H., Yuan, Y., Fan, S., Li, L., Jiang, C., Mao, C., Shi, C., & Xu, Y. (2021). Peripheral synucleinopathy in Parkinson disease with LRRK2 G2385R variants. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, *8*(3), 592-602. <https://doi.org/10.1002/acn3.51301>
- Yang, T.-T., Lin, C., Hsu, C.-T., Wang, T.-F., Ke, F.-Y., & Kuo, Y.-M. (2013). Differential distribution and activation of microglia in the brain of male C57BL/6J mice. *Brain Structure & Function*, *218*(4), 1051-1060. <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0446-x>
- Yang, X., Ren, H., Wood, K., Li, M., Qiu, S., Shi, F.-D., Ma, C., & Liu, Q. (2018). Depletion of microglia augments the dopaminergic neurotoxicity of MPTP. *The FASEB Journal*, *32*(6), 3336-3345. <https://doi.org/10.1096/fj.201700833RR>
- Yarnall, Rochester, & Burn. (2011). *The interplay of cholinergic function, attention, and falls in Parkinson's disease—Yarnall—2011—Movement Disorders—Wiley Online Library*. <https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mds.23932>
- Youle, R. J., & Narendra, D. P. (2011). Mechanisms of mitophagy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *12*(1), 9-14. <https://doi.org/10.1038/nrm3028>
- Ysselstein, D., Dehay, B., Costantino, I. M., McCabe, G. P., Frosch, M. P., George, J. M., Bezdard, E., & Rochet, J.-C. (2017). Endosulfine- α inhibits membrane-induced α -synuclein aggregation and protects against α -synuclein neurotoxicity. *Acta Neuropathologica Communications*, *5*(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0403-7>
- Ysselstein, D., Joshi, M., Mishra, V., Griggs, A. M., Asiago, J. M., McCabe, G. P., Stanciu, L. A., Post, C. B., & Rochet, J.-C. (2015). Effects of impaired membrane interactions on α -synuclein aggregation and neurotoxicity. *Neurobiology of Disease*, *79*, 150-163. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.04.007>
- Yu, S., Zuo, X., Li, Y., Zhang, C., Zhou, M., Zhang, Y. A., Uéda, K., & Chan, P. (2004). Inhibition of tyrosine hydroxylase expression in α -synuclein-transfected dopaminergic neuronal cells. *Neuroscience Letters*, *367*(1), 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.05.118>
- Yuan, J., & Yankner, B. A. (2000). Apoptosis in the nervous system. *Nature*, *407*(6805), 802-809. <https://doi.org/10.1038/35037739>
- Yuan, Y., Cao, P., Smith, M. A., Kramp, K., Huang, Y., Hisamoto, N., Matsumoto, K., Hatzoglou, M., Jin, H., & Feng, Z. (2011). Dysregulated LRRK2 Signaling in Response to Endoplasmic Reticulum Stress Leads to Dopaminergic Neuron Degeneration in *C. elegans*. *PLoS ONE*, *6*(8), e22354. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022354>
- Yue, M., Hinkle, K. M., Davies, P., Trushina, E., Fiesel, F. C., Christenson, T. A., Schroeder, A. S., Zhang, L., Bowles, E., Behrouz, B., Lincoln, S. J., Beevers, J. E., Milnerwood, A. J., Kurti, A., McLean, P. J., Fryer, J. D., Springer, W., Dickson, D. W., Farrer, M. J., & Melrose, H. L. (2015). Progressive dopaminergic alterations and mitochondrial abnormalities in LRRK2 G2019S knock-in mice. *Neurobiology of Disease*, *78*, 172-195. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.02.031>
- Zabetian, C. P., Yamamoto, M., Lopez, A. N., Ujike, H., Mata, I. F., Izumi, Y., Kaji, R., Maruyama, H., Morino, H., Oda, M., Hutter, C. M., Edwards, K. L., Schellenberg, G. D., Tsuang, D. W., Yearout, D., Larson, E. B., & Kawakami, H. (2009). LRRK2 mutations and risk variants in Japanese patients with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, *24*(7), 1034-1041. <https://doi.org/10.1002/mds.22514>
- Zaffagnini, G., & Martens, S. (2016). Mechanisms of Selective Autophagy. *Journal of Molecular Biology*, *428*(9 Pt A), 1714-1724. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.02.004>
- Zarranz, J. J., Fernández-Bedoya, A., Lambarki, I., Gómez-Esteban, J. C., Lezcano, E., Zamacona, J., & Madoz, P. (2005). Abnormal sleep architecture is an early feature in the E46K familial synucleinopathy. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *20*(10), 1310-1315. <https://doi.org/10.1002/mds.20581>
- Zecca, L., Zucca, F. A., Albertini, A., Rizzio, E., & Fariello, R. G. (2006). A proposed dual role of neuromelanin in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology*, *67*(7 suppl 2), S8-S11. https://doi.org/10.1212/WNL.67.7_suppl_2.S8
- Zeng, Geng, & Jia. (2018). *Neurotoxin-Induced Animal Models of Parkinson Disease: Pathogenic Mechanism and Assessment—PubMed*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29809058/>
- Zha, J., Liu, X., Zhu, J., Liu, S., Lu, S., Xu, P., Yu, X., & Liu, R. (2016). A scFv antibody targeting common oligomeric epitope has potential for treating several amyloidoses. *Scientific Reports*, *6*(1), 36631. <https://doi.org/10.1038/srep36631>
- Zhang, J., Li, X., & Li, J.-D. (2019). The Roles of Post-translational Modifications on α -Synuclein in the Pathogenesis of Parkinson's Diseases. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00381>
- Zhao, H. T., John, N., Delic, V., Ikeda-Lee, K., Kim, A., Weihofen, A., Swayze, E. E., Kordasiewicz, H. B., West, A. B., & Volpicelli-Daley, L. A. (2017). LRRK2 Antisense Oligonucleotides Ameliorate α -Synuclein Inclusion Formation in a Parkinson's Disease Mouse Model. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, *8*, 508-519. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.08.002>
- Zhao, J., Molitor, T. P., Langston, J. W., & Nichols, R. J. (2015). LRRK2 dephosphorylation increases its ubiquitination. *The Biochemical Journal*, *469*(1), 107-120. <https://doi.org/10.1042/BJ20141305>
- Zhao, Y., Perera, G., Takahashi-Fujigasaki, J., Mash, D. C., Vonsattel, J. P. G., Uchino, A., Hasegawa, K., Jeremy Nichols, R., Holton, J. L., Murayama, S., Dzamko, N., & Halliday, G. M. (2018). Reduced LRRK2 in association with retromer dysfunction in post-mortem brain tissue from LRRK2 mutation carriers. *Brain*, *141*(2), 486-495. <https://doi.org/10.1093/brain/awx344>
- Zhong, Y., Wang, Q. J., Li, X., Yan, Y., Backer, J. M., Chait, B. T., Heintz, N., & Yue, Z. (2009). Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin 1–phosphatidylinositol-3-kinase complex. *Nature Cell Biology*, *11*(4), 468-476. <https://doi.org/10.1038/ncb1854>
- Zhou, Q., Fu, X., Wang, X., Wu, Q., Lu, Y., Shi, J., Klainig, J. E., & Zhou, S. (2018). Autophagy plays a protective role in Mn-induced toxicity in PC12 cells. *Toxicology*, *394*, 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.12.001>

- Zhou, Y., Gu, G., Goodlett, D. R., Zhang, T., Pan, C., Montine, T. J., Montine, K. S., Aebersold, R. H., & Zhang, J. (2004). Analysis of α -Synuclein-associated Proteins by Quantitative Proteomics*[boxs]. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(37), 39155-39164. <https://doi.org/10.1074/jbc.M405456200>
- Zhu, X., Babar, A., Siedlak, S. L., Yang, Q., Ito, G., Iwatsubo, T., Smith, M. A., Perry, G., & Chen, S. G. (2006). LRRK2 in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Molecular Neurodegeneration*, *1*(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-1-17>
- Zimprich, A., Biskup, S., Leitner, P., Lichtner, P., Farrer, M., Lincoln, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Uitti, R. J., Calne, D. B., Stoessl, A. J., Pfeiffer, R. F., Patenge, N., Carbajal, I. C., Vieregge, P., Asmus, F., Müller-Myhsok, B., Dickson, D. W., Meitinger, T., ... Gasser, T. (2004). Mutations in LRRK2 Cause Autosomal-Dominant Parkinsonism with Pleomorphic Pathology. *Neuron*, *44*(4), 601-607. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.11.005>
- Zoppino, F. C. M., Militello, R. D., Slavin, I., Álvarez, C., & Colombo, M. I. (2010). Autophagosome Formation Depends on the Small GTPase Rab1 and Functional ER Exit Sites. *Traffic*, *11*(9), 1246-1261. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2010.01086.x>

Titre : Interaction entre l'α-synucléine et LRRK2 dans la maladie de Parkinson : focus sur l'autophagie

Mots clés : Alpha-synucléine – LRRK2 – Maladie de Parkinson – Autophagie – Neurones primaires

Résumé : La maladie de Parkinson (MP) se caractérise par la perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire *pars compacta* ainsi que la formation de corps de Lewy contenant de l'alpha-synucléine (α-syn). Cette dernière joue un rôle majeur dans la physiopathologie de la MP, tout comme Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) et notamment lorsqu'elle est associée à sa mutation G2019S. En lien avec des études antérieures menées *in vivo* dans notre équipe, ces deux protéines pourraient agir conjointement dans la neurodénérescence. Notre but est ainsi de déterminer comment l'α-syn et LRRK2 coopèrent dans le stress cellulaire, notamment dans des dérèglements de l'autophagie déjà décrits dans la physiopathologie de la MP.

Pour cela, nous utilisons des cultures primaires de neurones embryonnaires corticaux de rat surexprimant l'α-syn et LRRK2 par transduction virale. Ainsi, nous avons d'une part montré que l'α-syn peut bloquer l'autophagie et LRRK2 pourrait prévenir cet effet. D'autre part, LRRK2 favorise la phosphorylation de l'α-syn, forme pathologique de cette dernière, de façon kinase-dépendante. Cet effet apparaît également lié à l'interdépendance entre l'autophagie et le protéasome. Finalement, nous avons pu déterminer deux types d'interaction fonctionnelle entre l'α-syn et LRRK2 associée à l'autophagie, ouvrant la voie à l'identification de nouvelles cibles moléculaires dans le développement de stratégies thérapeutiques innovantes contre la MP.

Title : Interaction between α-synuclein and LRRK2 in Parkinson's Disease : a focus on autophagy

Keywords : Alpha-synuclein – LRRK2 – Parkinson's disease – Autophagy – Primary Neurons

Abstract : Parkinson's disease (PD) is characterized by the loss of dopaminergic neurons in the *substantia nigra pars compacta* as well as the formation of alpha-synuclein (α-syn) contained Lewy bodies. This protein plays a critical role in the pathology of PD, as does Leucine-Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) and especially when it is associated with its mutation G2019S. Supported by previous *in vivo* studies on our team, these proteins could act jointly in neurodegeneration. Thus, our goal is to determine how α-syn and LRRK2 may cooperate on cellular stress such as autophagy failure which has already been described in PD pathophysiology. For this, we use primary embryonic rat cortical neurons which

Overexpressed α-syn and LRRK2 by viral transduction. On the one hand, we have shown that α-syn is able to block autophagic processes and LRRK2 could protect this effect. On the other hand, LRRK2 promote α-syn phosphorylation, that correspond to a pathological form of the protein, in a kinase-dependent manner. This effect is also linked to the interdependence between autophagy and the proteasome pathway. Finally, we have determined two types of functional interaction between α-syn and LRRK2 linked to the autophagic process, paving the way for the identification of new molecular targets in the development of innovative therapeutic strategies against PD.