

2023-2024

# THÈSE

pour le

## DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en Neurologie

# METABO-HD

Approche métabolomique ciblée dans la maladie de  
Huntington chez des sujets présymptomatiques et  
symptomatiques débutants

**BENDIMERAD Mohamed**

Né le 24/05/1994 à Angers (49)

Sous la direction de Monsieur le Dr. CHAO DE LA BARCA Juan Manuel  
et Madame le Dr. PRUNDEAN Adriana

### Membres du jury

Monsieur le PUPH VERNY Christophe	Président
Monsieur le MCU CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	Codirecteur
Mme le Dr. PRUNDEAN Adriana	Codirectrice
Monsieur le PUPH REYNIER Pascal	Membre
Monsieur le PUPH CASSEREAU Julien	Membre

Soutenue publiquement le :  
06 juin 2024



**FACULTÉ  
DE SANTÉ**  
UNIVERSITÉ D'ANGERS



# ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je soussigné M. BENDIMERAD Mohamed  
déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une  
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,  
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.  
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées  
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant le **06/06/2024**

SERMENT D'HIPPOCRATE
----------------------

*« Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.*

*Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.*

*Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.*

*J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque ».*

# LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

---

**Doyen de la Faculté** : Pr Nicolas Lerolle

**Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie** : Pr Sébastien Faure

**Directeur du département de médecine** : Pr Cédric Annweiler

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	PHYSIOLOGIE	Médecine
ANGOULVANT Cécile	MEDECINE GENERALE	Médecine
ANNWEILER Cédric	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT	Médecine
ASFAR Pierre	REANIMATION	Médecine
AUBE Christophe	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
AUGUSTO Jean-François	NEPHROLOGIE	Médecine
BAUFRETON Christophe	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BELLANGER William	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELONCLE François	REANIMATION	Médecine
BIERE Loïc	CARDIOLOGIE	Médecine
BIGOT Pierre	UROLOGIE	Médecine
BONNEAU Dominique	GENETIQUE	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
BOURSIER Jérôme	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
BOUVARD Béatrice	RHUMATOLOGIE	
BRIET Marie	PHARMACOLOGIE	Médecine
CALES Paul	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CAMPONE Mario	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CASSEREAU Julien	NEUROLOGIE	Médecine
CLERE Nicolas	PHARMACOLOGIE / PHYSIOLOGIE	Pharmacie
CONNAN Laurent	MEDECINE GENERALE	Médecine
COPIN Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
COUTANT Régis	PEDIATRIE	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	PHYSIOLOGIE	Médecine
CRAUSTE-MANCIET Sylvie	PHARMACOTECHNIQUE HOSPITALIERE	Pharmacie
DE CASABIANCA Catherine	MEDECINE GENERALE	Médecine
DESCAMPS Philippe	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
D'ESCATHA Alexis	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
DINOMAS Mickaël	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine
DIQUET Bertrand	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE ; PHARMACOLOGIE CLINIQUE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
DUBEE Vincent	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
DUVAL Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie
DUVERGER Philippe	PEDOPSYCHIATRIE	Médecine
EVEILLARD Mathieu	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
FAURE Sébastien	PHARMACOLOGIE PHYSIOLOGIE	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	ANATOMIE	Médecine
FOUQUET Olivier	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
FURBER Alain	CARDIOLOGIE	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	PNEUMOLOGIE	Médecine

GOHIER Bénédicte	PSYCHIATRIE D'ADULTES	Médecine
GUARDIOLA Philippe	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
GUILET David	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
HAMY Antoine	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
HENNI Samir	MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
HUNAUT-BERGER Mathilde	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
IFRAH Norbert	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
JEANNIN Pascale	IMMUNOLOGIE	Médecine
KEMPF Marie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE	Médecine
LACOEUILLE FRANCK	RADIOPHARMACIE	Pharmacie
LACCOURREYE Laurent	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE	Médecine
LAGARCE Frédéric	BIOPHARMACIE	Pharmacie
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION	Médecine
LEBDAI Souhil	UROLOGIE	Médecine
LEGENDRE Guillaume	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
LEGRAND Erick	RHUMATOLOGIE	Médecine
LERMITE Emilie	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
LEROLLE Nicolas	REANIMATION	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
LUQUE PAZ Damien	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE	Médecine
MARCHAIS Véronique	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
MARTIN Ludovic	DERMATO-VERERELOGIE	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION	Médecine
MENEI Philippe	NEUROCHIRURGIE	Médecine
MERCAT Alain	REANIMATION	Médecine
PAPON Nicolas	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
PELLIER Isabelle	PEDIATRIE	Médecine
PETIT Audrey	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
PICQUET Jean	CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
PODEVIN Guillaume	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
PROCACCIO Vincent	GENETIQUE	Médecine
PRUNIER Delphine	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
PRUNIER Fabrice	CARDIOLOGIE	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	MEDECINE GENERALE	Médecine
REYNIER Pascal	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
RICHOME Pascal	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
RINEAU Emmanuel	ANESTHESIOLOGIE REANIMATION	Médecine
RODIEN Patrice	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
ROQUELAURE Yves	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
ROUSSEAU Audrey	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROUSSEAU Pascal	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROY Pierre-Marie	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
SAULNIER Patrick	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
SERAPHIN Denis	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
SCHMIDT Aline	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
TESSIER-CAZENEUVE Christine	MEDECINE GENERALE	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	PNEUMOLOGIE	Médecine

UGO Valérie	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
URBAN Thierry	PNEUMOLOGIE	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	PEDIATRIE	Médecine
VENARA Aurélien	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
VERNY Christophe	NEUROLOGIE	Médecine
WILLOTEAUX Serge	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine

## MAÎTRES DE CONFÉRENCES

AMMI Myriam	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BAGLIN Isabelle	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	IMMUNOLOGIE	Médecine
BEGUE Cyril	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELIZNA Cristina	MEDECINE INTERNE	Médecine
BENOIT Jacqueline	PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BESSAGUET Flavien	PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BERNARD Florian	ANATOMIE ; discipline hospit : NEUROCHIRURGIE	Médecine
BLANCHET Odile	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
BOISARD Séverine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
BRIET Claire	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
BRIS Céline	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
CANIVET Clémence	GASTROENTEROLOGIE-HEPATOLOGIE	Médecine
CAPITAIN Olivier	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHEVALIER Sylvie	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
CHOPIN Matthieu	MEDECINE GENERALE	Médecine
CODRON Philippe	NEUROLOGIE	Médecine
COLIN Estelle	GENETIQUE	Médecine
DEMAS Josselin	SCIENCES DE LA READAPTATION	Médecine
DERBRE Séverine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
DESHAYES Caroline	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	PHYSIOLOGIE	Médecine
GHALI Maria	MEDECINE GENERALE	Médecine
GUELFF Jessica	MEDECINE GENERALE	Médecine
HAMEL Jean-François	BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	BIOTECHNOLOGIE	Pharmacie
HINDRE François	BIOPHYSIQUE	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	MEDECINE GENERALE	Médecine
KHIATI Salim	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
LEGEAY Samuel	PHARMACOCINETIQUE	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	NEUROCHIRURGIE	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
LEPELTIER Elise	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
LETOURNEL Franck	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
LIBOUBAN Hélène	HISTOLOGIE	Médecine
MABILLEAU Guillaume	HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE	Médecine
MALLET Sabine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
MAROT Agnès	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
MESLIER Nicole	PHYSIOLOGIE	Médecine
MIOT Charline	IMMUNOLOGIE	Médecine

MOUILLIE Jean-Marc	PHILOSOPHIE	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	IMMUNOLOGIE	Pharmacie
PAILHORIE Hélène	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Médecine
PAPON Xavier	ANATOMIE	Médecine
PASCO-PAPON Anne	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
PECH Brigitte	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	SOCIOLOGIE	Médecine
PIHET Marc	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
POIROUX Laurent	SCIENCES INFIRMIERES	Médecine
PY Thibaut	MEDECINE GENERALE	Médecine
RIOU Jérémie	BIostatistiques	Pharmacie
RIQUIN Elise	PEDOPSYCHIATRIE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
RONY Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE	Médecine
ROGER Emilie	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
SAVARY Camille	PHARMACOLOGIE-TOXICOLOGIE	Pharmacie
SCHMITT Françoise	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	PHARMACIE CLINIQUE ET EDUCATION THERAPEUTIQUE	Pharmacie
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	MEDECINE GENERALE	Médecine
VIAULT Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie

### AUTRES ENSEIGNANTS

<b>PRCE</b>		
AUTRET Erwan	ANGLAIS	Santé
BARBEROUSSE Michel	INFORMATIQUE	Santé
COYNE Ashley-Rose	ANGLAIS	Santé
RIVEAU Hélène	ANGLAIS	
<b>PAST/MAST</b>		
BEAUVAIS Vincent	OFFICINE	Pharmacie
BRAUD Cathie	OFFICINE	Pharmacie
CAVAILLON Pascal	INDUSTRIE	Pharmacie
DILÉ Nathalie	OFFICINE	Pharmacie
GUILLET Anne-Françoise	PHARMACIE DEUST PREPARATEUR	Pharmacie
MOAL Frédéric	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
CHAMPAGNE Romain	MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION	Médecine
GUITTON Christophe	MEDECINE INTENSIVE-REANIMATION	Médecine
KAASSIS Mehdi	GASTRO-ENTEROLOGIE	Médecine
LAVIGNE Christian	MEDECINE INTERNE	Médecine
PICCOLI Giorgia	NEPHROLOGIE	Médecine
POMMIER Pascal	CANCEROLOGIE-RADIOTHERAPIE	Médecine
SAVARY Dominique	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
<b>PLP</b>		
CHIKH Yamina	ECONOMIE-GESTION	Médecine
<b>ATER</b>		
<b>HADJ MAHMOUD Dorra</b>	IMMUNOLOGIE	
LEMAN Géraldine	BIOCHIMIE	Pharmacie
<b>ECER</b>		
HASAN Mahmoud	PHARMACIE GALENIQUE ET PHYSICO-CHIMIQUE	Pharmacie
BARAKAT Fatima	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
PIRAUX Arthur	PRATIQUE OFFICINALE	Pharmacie



<b>AHU</b>		
CORVAISIER Mathieu	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
CHABRUN Floris	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 5EN D2L2GATION POUR UN AN°	Pharmacie
ROBIN Julien	SCIENCES BIOLOGIQUES, FONDAMENTALES ET CLINIQUES	Pharmacie

Nomination au 01/11/2023			
PAUVERT Adrien	Anatomie /Chirurgie orthopédique et traumat.	CCA	
HELIES Jérémie	Anatomie et cytologie pathologiques	AHU	
GOUJU Julien	Neurobiologie ; neuropathologie	AHU	
DONNARS Anne	Parasitologie ; mycologie	AHU	
MAURILLE Charles	Maladies infectieuses ; maladies tropicales	CCA	Poste TUS - Ch du Mans
LODIN Magalie	Génétique	AHU	
BORGNETTA Nathalie	Anesthésiologie-réanimation	CCA	
BAUDRILLER Antoine	Pharmacologie clinique	CCA	
CHIRARA Rayana	Médecine d'urgence	CCA	Poste TUS - CH Laval
MADIETA Lou	Psychiatrie d'adultes	CCA	
GALLET Quentin	Psychiatrie d'adultes	CCA	
RACAPÉ Hélène	Rhumatologie	CCA	
ESNAUD Rose	Pneumologie	CCA	
JUSTEAU Grégoire	Pneumologie	CCA	Poste TUS - CH de Laval
VACHER Eloi	Cardiologie	CCA	
BOUD'HORS Charlotte	Néphrologie	CCA	
BRIERE Olivier	Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement	CCA	
HAMMI Sami	Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement	CCA	Poste TUS - Ch du Mans
DOINEAU Lise	Pédiatrie	CCA	
LOURY Charlotte	Gynécologie-obstétrique	CCA	
TEPLIXKY Antoine	Oto-rhino-laryngologie	CCA	
DECHAUFOR Pierre	Chirurgie maxillo-faciale	CCA	
Renouvellement			
HERSANT Jeanne	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	CCA	prolongation 1 an pour mobilité
DELESTRE Maxime	Chirurgie viscérale et digestive	CCA	

BRILLAND Benoit	Néphrologie	CCA ass	poste d'associé pour 1 an
PEUROIS Matthieu	Médecine générale	CCU	
OUATTARA Bintou	Médecine générale	CCU	
LEVAILLANT Lucie	Pédiatrie	CCA	
SUTEAU- COURANT Valentine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	CCA	

A **Monsieur le Professeur Christophe VERNY**,

Merci tout d'abord de me faire l'honneur de présider ce jury. Je tiens à vous remercier également pour m'avoir permis d'intégrer la thématique de la neurologie métabolique, et d'avoir cru en ce projet de thèse le jour où vous me l'avez proposé. J'espère pouvoir vous le rendre comme il se doit, aujourd'hui et à l'avenir.

A **Monsieur le Docteur Juan-Manuel CHAO DE LA BARCA**, je tenais quand même à poser la forme mais ne t'en fais pas le reste s'adresse bien à celui que je nomme communément Juan. Merci pour avoir partagé toutes tes connaissances et compétences au service de cette thèse et de la recherche en générale. Ton encadrement a été précieux, et ta bonne humeur y est également pour beaucoup dans l'aboutissement de ce travail.

A **Madame le Docteur Adriana PRUNDEAN**, je te remercie pour les connaissances expérimentées que tu m'as partagé sur la maladie de Huntington, et pour ta relecture attentive du manuscrit. Merci également pour l'encadrement que tu as assuré sur cette thèse et sur ma formation d'interne.

A **Monsieur le Professeur Pascal REYNIER**, vos conseils et votre supervision durant toute la réalisation de ce travail ont été capitaux, c'est donc un grand honneur pour moi de vous voir intégrer ce jury. Vous avez participé à la fondation des connaissances biochimiques (et biomoléculaires) de nombreux premiers années dont j'ai fait partie, et pour cela je vous remercie.

A **Monsieur le Professeur Julien CASSEREAU**, merci d'avoir accepté de rejoindre mon jury de thèse. Je te remercie également pour toutes ces années de formation qui ont démarré dès le début de mon externat. Ta pédagogie a participé à me transmettre très tôt le goût insatiable de la neurologie.

Aux **Docteurs Alice RUCARD et Virginie PICHON**, vous avez été mes premières cheffes référentes, alors je tenais à vous remercier pour m'avoir accompagné dans mes débuts balbutiants mais fondateurs du début d'internat.

Aux **Docteurs Aldéric LECLUSE, Sophie GODARD et Alice CORFU**, que je tenais à remercier pour ma formation dans le domaine neurovasculaire.

Aux **Docteurs Frédérique ETCHARRY-BOUYX, Valérie CHAUVIRE, Clarisse SCHERER-GAGOU, Marie POULIQUEN, Mathilde VUARNESSE** je vous remercie pour votre encadrement et partage de connaissances durant ma formation dans le domaine de la neurologie générale.

Aux **Docteurs Brigitte RICARD-MOUSNIER, Oana CATAR, Lila AUTIER, Franck DEVIERE** pour votre formation aux explorations fonctionnelles.

Au **Docteur Philippe CODRON** pour la transmission de ta fibre de la recherche et les projets pédagogiques très enrichissants auxquels tu m'as permis de participer.

Au **Docteur Jules SURGES**, merci d'avoir encouragé mes projets durant tout cet internat, et conjuré aussi bien le mauvais sort durant nos gardes.

Aux **Docteurs Agnès GOUPIL, Yolaine OLIVIER, Arnaud MALBRANCHE, Cristina BARBIEUX-GHITU, Nesrine AMADA et Vincent BULOT** merci pour la formation que vous m'avez prodiguée sur mes deux semestres de neurologie manuelle, et pour ces bons moments de partage.

Aux **Docteurs Anne PASCO-PAPON, Vincent L'ALLINEC, Jean-Baptiste GIROT** pour cette initiation à la neuro-interventionnelle et les quelques visées pédiculaires.

Aux **Docteurs Jean-Yves TANGUY, Mathieu LABRIFFE, Grégoire LIGNON, Laurent DELAGNEAU** pour votre partage de connaissance exhaustif sur la neuroradiologie.

Au **Docteur Patrick DESBORDES DE CEPOY** et au maintenant **Docteur Aurélie ZANCANARO** pour ces créneaux d'urgence radio très formateurs avec une bonne pointe d'humour.

# REMERCIEMENTS

Au **Dr. Magalie BARTH** je vous remercie pour m'avoir montré la voie de la neurométabolique sur les derniers moments de mon d'externat. Vous m'avez apporté de bons conseils aux moments importants de ma formation, et je vous dois une bonne partie de ce parcours aujourd'hui.

A **Mme Audrey OLIVIER** pour ton travail de recherche dans l'inclusion de volontaires à l'étude METABO-HD, et les réponses à mes innombrables questions. Je remercie aussi l'ensemble des attachés de recherche clinique et équipes de soin qui ont participé de près ou de loin à ce projet.

Je tiens à remercier aussi l'ensemble des patients et familles qui ont souhaité participer à ces analyses, en espérant qu'ils aient à travers ce manuscrit un retour fidèle et sincère de leur contribution primordiale.

A mes cointernes de neurologie, **Romain** pour réussir à passer de soprano le soir à ténor le matin, que de bonnes rigolades partagées sur cet internat. A **Aurélia** pour avoir sauvé notre organisation d'internes, et nous avoir toujours bien représentés dans une bienveillance exemplaire. A **Jacques** pour ses conseils primordiaux entre 2 éternuements printaniers, sa pédagogie de premier ordre, et ses coups de raquettes endiablés doublés d'une détermination à toute épreuve. A **Benoît** ce fin connaisseur inspirant de sciences et vie, pour la fibre mancelle que nous partageons, les pensées que nous pensons partager, et le reste du monde qui se demande si la fin du quiproquo est arrivée. A **Vivien** pour ses conseils d'organisation et connaissances précieux, quelques coups de raquettes bien acérés, et ce niveau de gestion des rollercoasters qui n'a pas fini de nous donner le tournis. A **Maëlle** ma compatriote de la première heure aux soins, masquée non cagoulée, PCR dans le nez, merci pour cette bonne humeur communicative au quotidien. A **Mohamad** pour ces five dont beaucoup d'internes se souviendront, et les remontada du Real qui nous ont fait vibrer à l'unisson. A **Leïla** pour ces bonne rigolades, et pour mes futures avis à la reine de l'électroencéphalographie. A **Mélanie**, la bambina, venue tout droit de la west coast, flânant sur sa long board, la PL assurée, le sourire sous le nez. A **Candice** dont le calme fait retomber toutes les tempêtes, pleine de lucidité et d'une gentillesse à toute épreuve. A **Camille**, cette boule d'énergie fanfaronesque que rien n'arrête.

A mes toutes jeunes cointernes **Marion, Claire, Flavie** et **Christelle**.

Une mention spéciale à la team coaster avec qui je ne vois toujours pas la fin de ce grand huit qu'est la vie.

A mes jeunes cheffes, feu cointernes, **Isabelle** pour notre duo sur tous ces stages et ces repas copieux du Mans ; **Anne-Sophie** pour cette reconnaissance commune du KB9 (moins de l'OL) et ces bons repas de garde ; et **Chloé** pour ta bienveillance constante dès mes premiers jours d'interne.

A tous mes collègues de la neurologie passés ou présents en neurovasculaire Mathilde D, Mathilde G, Pauline C, Aurélia, Catherine, Mélanie, Claire B, Camille S, Karine, Franck, Ludo, Odile, Gwendolina, Anne, Lucie P, Laura B, Valentin, Chloé F, Rosine, Teddy, Cindy (94's), Constance (94's), Alice (94's), Marie G, Lorène, Lucie C, Reine-Guy, Laura D, Karène, Amélie, Flavie, Emeline, Anne-Laure, Florine, le grand Léo, la Marinette, Camille F, Camille C, Cheyenne et Emilie. A ceux de neurologie générale Maxime, Noélie, Claire, Kim, Julie, Elodie H, Léa, Pauline D, Clarisse, Laetitia, Ghislaine, Marjorie, Amandine, Grâce, Marine T, Chloé, Christine, Laurence, Lucie, Sandie, Laura, Justine, Cécile et Isabelle.

Aux cadres mesdames Nadia Moulière et Marie Louison.

A Marie et Corinne de l'hospit de jour. A Virginie, Aurélie, Chloé et Karen des explos fonctionnelles.

Aux équipes de nuit la doublette Pauline/Julie, Nathalie, Ludo, Estelle, Espé, Coline, Isoline, Sarah, Philippe, Geneviève, Lucie, Elodie, et encore Elodie, ainsi qu'au monument Lilian ; Anne-Claire, Babeth, Valérie, Steve, Konogan, Sophie, Madison, Fatma, Marie A, et le plus costaud Anatole. Au quatuor AC, Aurélie, Zoé et Emeline.

A nos kinés Anne-Gaëlle et Nathalie, les ergo Clémence et Cécile, les ortho David et Alice, ainsi qu'à notre diét Nathalie. A Fanny, Laëtitia et Caroline nos assistantes sociales. Aux secrétaires de neurologie.

A l'équipe du Mans neuro/cardio : Aurélia, Mélanie, Mélissa, Maxime, Lucie, Camille, Tatiana, Aurélie la cadre. A Vanessa dans notre quatuor avec Isa et Vincent de mon premier semestre manceau. A Audrey B ma collègue gériatre de mon semestre second semestre manceau.

A mes cointernes de radio Pierre-Elliott, Antonin, Julien, Agathe, Daniel, Lucas, Zoé, Tristan, Axel, Salomé, Alice et Claire.

A mes collègues de master Loïc, Damien, Ambre, Léa, Leena, Gaëlle, Martin, Hassan, et Guillaume.

A mes collègues de la Bébou's house Clara (fifi), Mathieu (loulou) et Aurélie. A l'ensemble de l'équipe de bioch Céline, Lydie, Justine, Karen, Jennifer, Anthony, Mélanie, Corinne, Lucie, Valérie, Naïg, Elvina, Cindy, Katia, Béatrice et Odile. Au grand Louis (le roi du prono) et Assan pour la touche bioinfo.

# REMERCIEMENTS

A mes amis depuis le début de l'externat (la team déter). Au Dr. **Nicolas** toujours sur le bon pied pour poursuivre la soirée, ces nombreux moments de passion sportive, et cette famille magnifique que tu t'es construit avec **Hélène**, Arthur et Margot. Au Dr. **Jean-Baptiste** mon gars sûr de la salle, du tennis, du ski, de toutes les aventures que la vie a pu nous offrir jusqu'ici et qu'elle nous offrira encore ; au professeur **Mélanie** et votre petit bout de chou Côme. Au Dr. **Paul**, alias el professor, le khey, lavallois devenu sarthois, et déjà notre futur marié que nous avons hâte de célébrer ; au Dr. **Pauline** pour former l'équipe d'équipe la plus redoutable, et le plus beau couple de cet été. Au Dr. **David**, le chef du village mayennais, compatriote de la place Ney, à nos innombrables discussions de chemin, et nos aventures sans fin ; au Dr. **Audrey** pour avoir émerveillé sa vie, et la joie qui t'anime à chaque sortie vacances. Au Dr. **Charlotte**, avec cette passion footballistique qui t'anime, la tête solide face aux parasols, et toutes ces vacances passées avec le groupe où je pense que l'on doit te remercier pour nous avoir permis de concrétiser autant de projets. Au Dr. **Pierre** ce sportif aguerri dans tous les domaines, cette bonne humeur doublée d'un humour décalé comme on les aime, choletais dans le coup droit et lyonnais dans la frappe du droit, encore merci de m'avoir sauvé de ce pokawa ! A **Maëlen** pour ces bons moments jeux de société/escape/surf passés avec le groupe. Au Dr. **Antoine**, un esprit sain dans un corps sain, le kebab jamais trop chargé, les frites justes bien salées, et j'espère une belle ascension cet été. Au Dr. **Jocelyn**, le cerveau, doublé d'un contrôle de balle de qualité, la fierté angevine et le futur de la neuroradiologie ; A **Pauline** pour ces moments jeux de société et escape-game de qualité. A **Rayane**, grand chercheur aguerri, toujours le coup d'avance, à jours dans les scans, les titres viendront bien vite khouya. Au Dr. **Alexis** le caennais, parce que pas une pierre ne reste sur son chemin (Cauteret), et merci pour toutes ces sous-colles. Au Dr. **Sihame**, qui ramène le soleil même dans le nord, et manie la coro comme personne dans les abords du vieux port. Au Dr. **Linh** pour ces bonnes rigolades qui ont démarré au ski et perdurent à chaque fois que l'on se revoit. Au Dr. **Victoire** ma collègue de Bordeaux maintenant, et qui a marqué ce pauvre arbre de Chamrousse. Au Dr. **Annette** notre tourangelle à la fibre littéraire passionnante et qui ne fait pas de vieux os. Au Dr. **Amélie** la lyonnaise de toutes les aventures, et à l'énergie toujours débordante. Au Dr. **Sonia**, ancienne voisine de la place bichon, que le temps a passé vite depuis cette première année. Au Dr. **Sophia**, malgré nos prises de becs pour ces moments de ski et de plage virevoltants.

Une petite pensée pour la BU, que nous avons côtoyée pour la plupart, et qui nous l'a bien rendu.

A **Mathilde** la chouette mayennaise et **Laura** pour ces bons moments de partage.

A **Thibault** le pro de la dermato, merci pour ces repas bien pimentés.

A **Brice S** et **Dimitri**, mes filleuls padawan devenus de grands jedi. A **Brice L** pour cette qualité de course, et cette finale dantesque de 2022.

A **Milàn** pour tous ces bons moments du lycée, et pour m'avoir partagé ce phrasé si bien amené dans les copies.

A la bande du Plessis **Nicolas** et **Sébastien** pour ces innombrables foots, ces courses de vélo, et ces 400 coups dans le quartier. A **Kevan** ce rugbyman aussi costaud que tordant de rire.

Pour ma famille,

A **mes parents** pour m'avoir encouragé et soutenu pendant toutes ces années, pour m'avoir fait grandir même quand je n'étais pas là, et m'avoir donné la détermination d'aller plus loin.

A ma fratrie que j'ai vu grandir et que je chérie chaque jour, plus particulièrement à ma soeur **Yasmine**, car tu comptes beaucoup pour moi. A mon frère **Chakib**, qui je l'espère me laissera quelques revanches FIFA et ping. A ma soeur **Ghizlène**, que ta passion de la physique t'amène le plus loin possible. A nos longs trajets vacances, parce que le chemin est tout aussi important que l'arrivée.

A mes grands-parents pour l'éducation qu'ils m'ont inculqué, merci **papi** pour tous ces beaux ouvrages que tu m'as partagés, ces courses de natation où je ne t'aurai jamais rattrapé, et l'initiation aux échecs que je n'ai pas lâchée. Merci mamie pour ta gentillesse et toute ton attention depuis mes premiers pas. A ma tante Nacera et sa famille. A mon oncle québécois Rachid et sa famille.

A mon oncle Benhouda et ses enfants. A mes tantes Hafeda, Fatima-Zohla, Horia, Fatiha et leurs enfants. A ma tante Amaria, paix à son âme. A ma tante Yamina, paix à son âme, pour ces passes dans le jardin. A mon oncle Mohamed que je n'ai pas connu, paix à son âme, pour avoir mené mon père jusque-là. A mes grands-parents paternels, paix à leurs âmes. A mon cousin parisien Khaled et sa famille. A tous mes cousins pour nos journées à taper la balle avec passion, et effacer les frontières du temps l'espace d'un été.

A ce long chemin depuis Sainte-Gemmes sur Loire, Cholet, Le Mans, Aïn el Hout, Tlemcen, et Oran.

## Liste des abréviations

[illegible]

# Plan

## RÉSUMÉ

### INTRODUCTION

#### 1. La maladie de Huntington

- 1.1. Généralités
- 1.2. Description clinique
  - 1.2.1. Signes moteurs
  - 1.2.2. Signes neurocognitifs
  - 1.2.3. Signes psychiatriques
  - 1.2.4. Autres signes neuronaux
  - 1.2.5. Signes extra-neuronaux
  - 1.2.6. Stades d'évolution clinique
- 1.3. Aspects génétiques
- 1.4. Aspects physiopathologiques
- 1.5. La quête de biomarqueurs
  - 1.5.1. Clinique
  - 1.5.2. Imagerie
  - 1.5.3. Biologie

#### 2. L'approche métabolomique

- 2.1. La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie
- 2.2. Métabolomique et maladie de Huntington : état de l'art
  - 2.2.1. Métabolisme glucidique
  - 2.2.2. Métabolisme lipidique
  - 2.2.3. Métabolisme protéique

#### 3. Objectifs de l'étude

### MÉTHODES

#### 1. Données démographiques

#### 2. Prélèvement et conservation des échantillons

#### 3. Analyse des échantillons

#### 4. Statistiques

- 4.1. Analyses des données démographiques
- 4.2. Analyse des données métabolomiques
- 4.3. Critères de jugement

#### 5. Ethique

### RÉSULTATS

#### 1. Caractéristiques de la population

#### 2. Analyses métabolomiques

- 2.1. Analyse en composantes principales
- 2.2. Métabolites discriminants entre les 3 groupes
- 2.3. Séparation entre groupes présymptomatique et symptomatique par un modèle de régression logistique
- 2.4. Corrélation entre métabolites et UHDRS moteur dans le groupe symptomatique

### DISCUSSION ET CONCLUSION

#### 1. Discussion des résultats

#### 2. Forces et limites de l'étude

**3. Perspectives**

**4. Conclusion**

**BIBLIOGRAPHIE**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**TABLE DES MATIERES**

**ANNEXE 1 : UHDRS MOTEUR (TMS)**

**ANNEXE 2 : CFT**



# RÉSUMÉ

Introduction: Huntington disease (HD) is a genetic neurodegenerative disorder touching 1 on 10 000 persons in Western Europe, and evenly affecting young men and women. Caused by expanded CAG repeats in HTT gene, it leads to a dysfunctional huntingtin protein and eventually to neuronal death. Up to date, there is no efficient treatment to slow down HD progression. CAG repeats can explain only around 50-70% of motor clinical onset. Biomarkers are therefore on active development to anticipate transition between premanifest and early manifest. Such biomarkers will allow a more detailed classification of HD before inclusion in clinical trials, and uncover potential new therapeutic targets.

Methods: 34 early manifest (UHDRS > 5, CFT > 10), 31 premanifest (UHDRS < 5, CFT = 13), and 29 controls (MMS > 27 and no abnormal movement) participated in this study carried by the University Hospital Angers (France) between 2017 and 2023. Targeted metabolomic analysis of fasting plasma samples was carried using Biocrates MxP 500 XL technology intended to quantify up to 1019 metabolites.

Results: 21 lipids including 4 cholesteryl esters (CE), 3 lysophosphatidylcholines (LPC), 2 phosphatidylcholines (PC), 3 lysophosphatidylethanolamines (LPE), 3 phosphatidylethanolamines (PE), 4 phosphatidylinositol (PI), 2 phosphatidylserines (PS), were retained as discriminating between premanifest and early manifest subjects after correction for risk I inflation (FDR < 5%). Except for three phosphatidylinositol species, the remaining 18 were found relatively increased in early manifest. Logistic regression using a cross-validation strategy showed that LPC 16:1 was the best discriminant metabolite between premanifest and early manifest (median AUROC > 80%). Further, many lipid molecules containing or probably containing docosahexaenoic acid (DHA or 22:6) negatively correlated with motor UHDRS.

Conclusion: The transition from premanifest to manifest phase is accompanied by an increase in some lipid species. LPC 16:1 and PC 32:1 are proposed as biomarkers of this transition. Decrease in the concentration of DHA containing lipids, especially PE 44:12, parallels clinical evolution. Variations on neuronal-derived extracellular vesicles release following the progression of the disease is proposed as a mechanism underlying the metabolomic signature.

# INTRODUCTION

## 1. La maladie de Huntington

### 1.1. Généralités

Les maladies neurodégénératives sont un enjeu majeur dans les objectifs de recherche à tous les niveaux. La maladie de Huntington est une maladie neurodégénérative génétique, liée à une mutation sur le chromosome 4 au niveau du gène HTT, codant pour une protéine nommée la huntingtine. Elle touche jusqu'à 1 personne sur 10 000 en Europe de l'Ouest (1,2). On estime qu'elle concernerait 6000 malades ainsi que 12 000 porteurs du gène asymptomatiques en France (3). Elle concerne indistinctement homme et femme avec la même fréquence, survenant en général durant la vie active entre 35 et 50 ans. Dans de rares cas, la pathologie peut se déclarer avant 20 ans (maladie de Huntington dite « juvénile) ou à un stade beaucoup plus tardif après 70 ans (4,5).

Le symptôme le plus connu de la maladie de Huntington est sans doute celui de la chorée, décrite cliniquement avec une grande précision par George Huntington en 1872. De nos jours, la description du tableau clinique de la maladie comporte trois catégories de symptômes : moteurs, neurocognitifs et psychiatriques.

L'espérance de vie est estimée à environ 25 ans après le diagnostic des premiers symptômes moteurs dans les dernières études, même si celle-ci est éminemment variable d'un individu à l'autre (6). L'impact fonctionnel est également majeur du fait d'une perte importante d'autonomie, ainsi que des difficultés de soins liées aux troubles moteurs et à l'atteinte cognitivo-comportementale. Cela représente donc un enjeu majeur de santé publique, en lien avec les aides humaines et matérielles multiples au quotidien, la sollicitation fréquente d'institutionnalisation en milieu spécifique, et le retentissement important sur l'entourage familial et les proches aidants (7).

Actuellement il n'existe pas de thérapeutique curative pour arrêter ou ralentir la maladie. La prise en charge est axée essentiellement sur des moyens humains et pharmacologiques à visée symptomatique, même si des traitements sont à l'étude notamment dans le domaine des thérapies géniques (8).

## 1.2. Description clinique

### 1.2.1. Signes moteurs

Les signes cliniques moteurs de la maladie de Huntington sont très bien décrits. Ce sont eux qui permettent actuellement de définir la date de début de la maladie. Ils comprennent notamment la chorée touchant 90% des patients. Elle peut affecter le tronc, le visage et les membres. La chorée est aggravée par la fatigue ou le stress, et disparaît généralement pendant le sommeil. Dans son évolution classique, elle gagne dans un premier temps en sévérité, puis stagne pour enfin régresser au profit d'un syndrome akinéto-rigide ou dystonique dans les phases avancées de la maladie (9).

La dystonie est un symptôme très fréquent retrouvé dans l'évolution pour 90% des cas. Elle est souvent associée à la rigidité qui est une augmentation du tonus musculaire basal, liée à une atteinte extrapyramidale (rigidité plastique) ou pyramidale (rigidité spastique). On retrouve aussi des myoclonies. Que ce soit la chorée, la dystonie, la rigidité ou les myoclonies, ceux-ci peuvent avoir un impact important sur la marche particulièrement lorsqu'ils concernent les membres inférieurs ou le tronc, voire empêcher la position debout ou assise (10). Si ceux-ci atteignent les muscles du visage, bucco-pharyngés, ou de la langue, des troubles de déglutition majeurs peuvent en résulter, ainsi que des troubles de l'élocution, voire des troubles respiratoires. Les troubles de la marche, de déglutition ou d'élocution peuvent se développer de façon inhérente aux atteintes motrices, pouvant dans ce cas être en rapport avec une perturbation de la construction de schémas moteurs, ayant à voir davantage avec les atteintes neurocognitives.

La coordination gestuelle, notamment dans les gestes fins de la main, est particulièrement atteinte. Ce type d'atteinte est potentiellement secondaire aux signes cités précédemment, mais peut également apparaître de façon indépendante suggérant dans ce cas une atteinte neurocognitive de planification de tâche, pouvant précéder les autres atteintes motrices (11). Il existe enfin des troubles oculomoteurs à type de saccades surajoutées (comme des mouvements choréiques oculaires) perturbant la fixation oculaire, un ralentissement des saccades oculaires (mouvements automatiques pour optimiser le champs visuel), et un ralentissement de l'oculomotricité volontaire également (12).

### **1.2.2. Signes neurocognitifs**

Les atteintes neurocognitives les plus fréquentes concernent la catégorie des fonctions exécutives, plus particulièrement l'altération du contrôle inhibiteur (comprenant le contrôle des impulsions, et le contrôle des erreurs) et de la flexibilité mentale (13). Des atteintes du langage surviennent sur des altérations de la fluence verbale et une dysarthrie indépendante des troubles moteurs (14), ainsi qu'une atteinte du champ lexical plus tard dans l'évolution de la pathologie. Des troubles de la mémoire épisodique concernant le processus d'enregistrement et de récupération des informations mais pas de stockage, peut être retrouvé (15). Des troubles visuo-spatiaux peuvent être particulièrement présents au cours de l'évolution, et une corrélation a été démontrée avec l'atteinte du cortex cérébral postérieur à l'imagerie (16).

L'évolution de l'ensemble des troubles neurocognitifs tend à être impacté par un ralentissement psychomoteur, dépendant de la complexité de la tâche cognitive effectuée (17).

On retrouve également des atteintes de la cognition sociale, définie globalement comme la capacité à percevoir et adapter les comportements et émotions lors d'une interaction sociale. Elle concerne surtout la reconnaissance d'expressions faciales projetant des émotions négatives (18,19).

### **1.2.3. Signes psychiatriques**

L'apathie est le signe comportemental le plus fréquent, s'aggravant de façon concomitante aux troubles neurocognitifs (20,21).

La dépression concerne plus de la moitié des patients symptomatiques (13). Cette atteinte est tout de même à mettre en relation avec l'expérience du vécu difficile de la maladie elle-même, puisque la fréquence de la dépression réalise un pic autour de l'annonce diagnostique ou de la constatation des premiers symptômes par le patient, avant de diminuer progressivement avec l'évolution de la pathologie (20). Il en est de même pour l'augmentation du risque suicidaire (22). L'irritabilité est un signe retrouvé assez couramment, typiquement fluctuante, dont l'expression peut s'associer à la difficulté de contrôle des impulsions et émotions, ou se compliquer d'une agitation. On identifie également des troubles anxieux, très liés à l'évolution des autres troubles psychiatriques, aux problèmes familiaux et économiques propres de l'individu, et à la souffrance ressentie par le patient

ou ses proches (23). Les troubles psychotiques incluant les hallucinations et les délires ont une prévalence revue à la hausse autour de 10% selon les dernières études. L'évolution clinique de ces patients est toute singulière car moins importante sur le plan moteur mais plus sévère sur le plan cognitif et fonctionnel (24,25). Des troubles obsessionnels compulsifs, mais aussi des troubles de persévérations (qui se distinguent des premiers par l'absence de la perception d'une pénibilité dans le phénomène de répétition des pensées) peuvent être présents.

#### **1.2.4. Autres signes neuronaux**

On retrouve de façon fréquente des troubles du sommeil, concernant le plus souvent une inversion du rythme circadien veille-sommeil (26), dont on suppose un lien avec une dysfonction de l'hypothalamus.

On peut retrouver des signes de dysautonomie avec une hypersudation et une hypersalivation. Il existe également des troubles de la continence urinaire, ainsi que des troubles sexuels s'inscrivant dans ces troubles dysautonomiques (27) mais pouvant être d'origine multifactorielle.

#### **1.2.5. Signes extra-neuronaux**

L'ensemble des signes décrits précédemment ont un lien confirmé ou supposé avec l'atteinte encéphalique. Mais on décrit de plus en plus de signes cliniques sur lesquels l'atteinte encéphalique n'aurait pas ou peu d'influence. Il existe notamment une perte de poids concomitante d'un déficit musculaire important, malgré une augmentation des apports caloriques sur des études contrôlées (28). On peut également retrouver de façon moins fréquente une intolérance au glucose (prédiabète), une ostéoporose, et une atrophie testiculaire (29). Des troubles gastro-intestinaux, et une insuffisance cardiaque sont également plus fréquents, mais peuvent avoir un lien avec une atteinte dysautonomique.

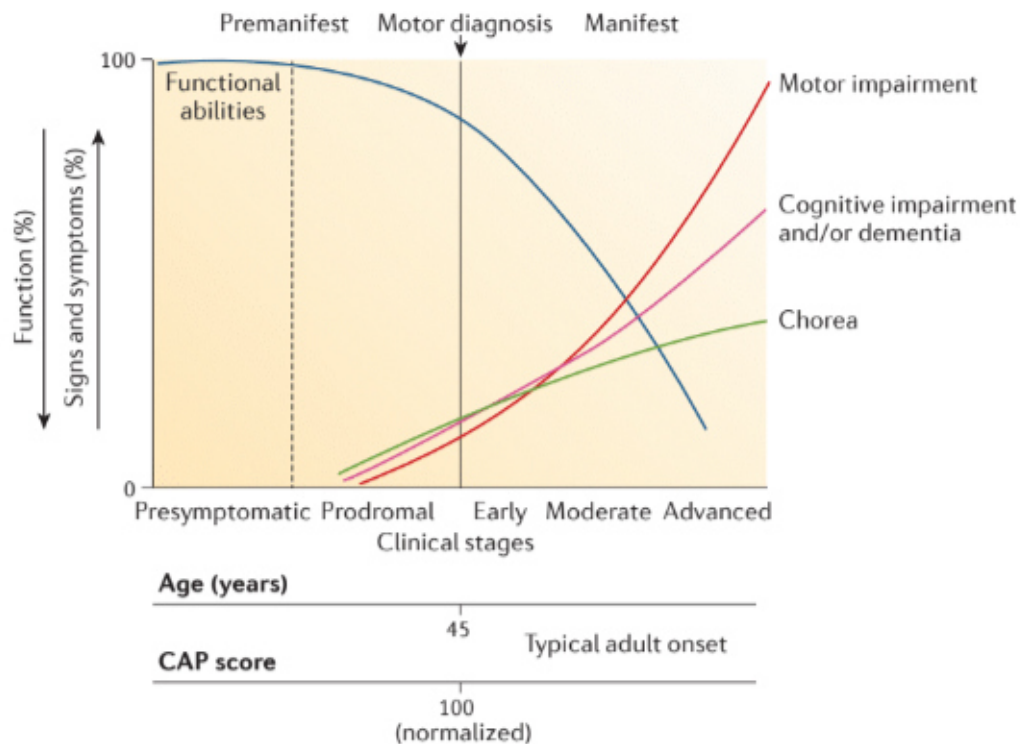
La relation entre ces signes et la physiopathologie de la maladie n'est pas encore bien établie, mais elle apporte des pistes de réflexion pour l'action de cette pathologie sur les tissus extra-neuronaux. Elle motiverait des dynamiques de recherche intéressant les tissus périphériques, jusqu'alors peu explorés ou interprétés comme un reflet de l'atteinte cérébrale.

### 1.2.6. Stades d'évolution clinique

Les conséquences cliniques de la maladie sont donc majeures, et quantifiées préférentiellement par une échelle validée nommée UHDRS (Unified Huntington's Disease Rating Scale) (30,31). Elle comporte un volet d'étude de la motricité nommé TMS (Total Motor Score), prenant en compte la chorée, la dystonie, les troubles oculaires, les troubles bulbaires, la coordination manuelle et l'équilibre. Elle comporte également des volets pour les atteintes cognitives, les atteintes comportementales, l'atteinte fonctionnelle et la dépendance. L'UHDRS moteur (TMS) est consultable en **Annexe 1**. Le mode de début de la maladie peut concerner indistinctement l'une des catégories cliniques citées précédemment, mais c'est le début des troubles moteurs qui définit l'entrée dans la maladie. On décrit classiquement une période présymptomatique, libre de tout symptôme moteur significatif, où par convention l'UHDRS moteur est  $\leq 5$  et la capacité fonctionnelle totale (CFT) est préservée. S'en suit la période symptomatique à partir d'un UHDRS moteur  $> 5$ .

En fonction du niveau d'altération fonctionnelle quantifié par la CFT, on décline des stades de la maladie allant de symptomatique débutant à symptomatique sévère (32). L'échelle de la CFT, consultable en **Annexe 2**, se base sur l'impact fonctionnel de la maladie au travail, dans la gestion des finances, les activités domestiques, l'autonomie, et le lieu de prise en charge requis.

Les signes cliniques neurocognitifs ou psychiatriques sont en général plus difficiles à objectiver, et les troubles moteurs peuvent aussi être assez subtils. Il a donc été défini une phase prodromale, qui est considérée comme une zone de transition entre la période présymptomatique et symptomatique, comportant des signes cliniques ne permettant pas de conclure formellement à un début de maladie de Huntington sur le plan moteur car l'UHDRS est  $\leq 5$  (33). L'évolution classique de la pathologie avec l'ensemble des termes évoqués est illustrée dans la **Figure 1**.



**Figure 1** : Histoire clinique des phases de la maladie de Huntington selon Reilmann (33,34)

### 1.3. Aspects génétiques

La maladie de Huntington est une maladie d'origine génétique à transmission autosomique dominante. Elle est plus précisément liée à une expansion de triplets de nucléotides CAG (Cytosine-Adenine-Guanine) sur le bras court du chromosome 4, au niveau du gène HTT anciennement nommé IT15 (35,36). Cette séquence répétée de CAG se situe au niveau d'un exon (partie du gène qui sera directement codée en protéine par opposition à intron), particulièrement au début de l'exon 1, donc à l'initiation même de la partie codante du gène. Le triplet de nucléotide CAG constitue un codon, qui code pour l'acide aminé de la glutamine. L'expansion de ce codon entraînera la traduction d'une protéine contenant davantage de glutamines au début de la protéine (partie N-terminale). Il s'agit d'un mécanisme commun à plusieurs pathologies génétiques regroupées sous le terme de maladies à polyglutamines (37).

Un allèle normal du gène comporte entre 6 et 35 répétitions CAG. Au-delà de 36 répétitions on parle d'allèle pathologique avec une pénétrance incomplète entre 36 et 39 répétitions alors que la pénétrance est complète (soit une expression certaine de la maladie) au-delà de 40 répétitions (38).

Entre 27 et 35 répétitions CAG le gène présente une instabilité dans sa transmission, avec un risque de passage en zone pathologique à la descendance.

Plus le nombre de répétitions de triplet CAG est important, plus l'individu risque de développer la maladie tôt au cours de sa vie (39), et cela est d'autant plus vrai quand le nombre de répétitions est très élevé comme dans les formes juvéniles (4).

Au moment de la division d'un gamète (cellule sexuelle), lorsque l'ADN est copié dans le cadre de sa réplication pour être transmis à une nouvelle cellule fille, des erreurs peuvent survenir entraînant des répétitions plus importantes du motif CAG. Ce phénomène survient plus fréquemment lors de la méiose paternelle, et si le nombre de répétitions de CAG est déjà élevé (40). Cela entraîne par conséquent un nombre de répétitions de triplets CAG plus important chez le descendant, et donc le risque de développer la maladie plus tôt. C'est le phénomène d'anticipation, qui peut expliquer une symptomatologie plus précoce et plus sévère chez les descendants d'un patient déjà atteint, ou présentant un nombre de répétitions CAG à la limite supérieure (entre 27 et 35 répétitions).

Le nombre de triplets CAG est un outil relativement fiable pour estimer l'âge de début des symptômes (41), et donc le passage à la forme symptomatique. Cependant, même si de nombreux modèles statistiques ont été développés pouvant expliquer jusqu'à 50-70% de l'âge du début des symptômes, il reste encore une variabilité importante sur l'âge de début estimé par rapport à l'âge de début réel des symptômes (39). D'autre part, il n'y a aucune corrélation entre le nombre de triplets CAG et le type de symptôme initial ou l'évolution clinique (35). Au sein d'une même famille, l'âge de début des symptômes, le type de symptôme initial, ainsi que l'évolution clinique peut là encore différer (42). D'autres variations sur le gène HTT ne concernant pas seulement la longueur de triplets CAG, mais aussi des gènes situés sur d'autres chromosomes, peuvent également avoir une influence sur l'âge de début des symptômes (43). Ces constatations soulignent le fait que les facteurs génétiques sont primordiaux mais pas suffisant pour expliquer toute la physiopathologie de la maladie.



## 1.4. Aspects physiopathologiques

Le gène HTT code physiologiquement pour la huntingtine dite sauvage, une protéine dont la fonction principale n'est pas complètement connue, mais dont on sait désormais qu'elle est essentielle dans le développement du système nerveux central, la production et le transport du facteur BDNF (facteur de survie des neurones), ainsi que l'adhésion cellulaire. La mutation mène à la production d'une huntingtine mutée (mHTT), induite par l'allongement de sa queue de polyglutamine (34). Cette protéine entraîne au niveau physiopathologique des perturbations de la transmission synaptique, du transport axonal, et du fonctionnement mitochondrial. Au niveau cérébral, cela s'exprime par une toxicité accrue pour les neurones, notamment au niveau d'une zone fonctionnelle anatomique du cerveau nommée le striatum (44).

Le striatum agit comme un filtre pour les commandes motrices, à la fois pour les mouvements volontaires et involontaires. Il est composé du noyau caudé et du putamen, qui sont en relation étroite avec la substance noire via la voie nigro-striée reliant ces structures (45). La substance noire est une zone de réserve de dopamine, dont certains neurones émettent des projections sur le striatum pour stimuler des récepteurs à la dopamine.

Cela va induire une cascade de rétrocontrôles inhibiteurs du striatum sur les structures sous-jacentes afin d'aboutir à un contrôle moteur adéquat, notamment pour éviter des mouvements involontaires. Dans la maladie de Huntington, il y a une altération précoce de certains récepteurs à la dopamine du striatum, expliquant la survenue de mouvements involontaires comme la chorée. Ce modèle explicatif est l'un des principaux retenus pour expliquer les symptômes moteurs, mais d'autres modèles plus complets permettent de fournir davantage d'éléments pour intégrer la physiopathologie des troubles neurocognitifs (46).

En ce qui concerne les symptômes extra-neurologiques, de la mHTT a été retrouvée sur des prélèvements de tissus périphériques, présentant des altérations physiopathologiques communes aux neurones (29), notamment sur des cellules du système immunitaire avec des altérations de leur fonctionnement précoce chez des sujets présymptomatiques (47).

Les questions persistantes à l'approche génétique, et l'implication de multiples acteurs physiopathologiques, amène à s'intéresser à d'autres objectifs cruciaux dans la prise en charge de la maladie, afin d'en suivre au mieux l'évolution avant et après les premiers symptômes.

Cela appelle donc au développement de ce que l'on nomme des biomarqueurs, qui sont des moyens d'identifier ou suivre l'évolution d'une pathologie au sens large, que ce soit par des méthodes cliniques, biologiques ou d'imagerie.

## **1.5. La quête de biomarqueurs**

### **1.5.1. Clinique**

L'étude détaillée des symptômes plus subtils visibles en phase prodromale peut fournir des informations intéressantes pour anticiper l'entrée dans la phase symptomatique. Les altérations motrices permettent certes de bien discriminer les différents stades d'évolution chez les patients symptomatiques, mais il restait difficile de distinguer de façon significative les sujets en phase prodromale de ceux au stade débutant de la maladie dans l'étude de grande ampleur TRACK-HD à 12 mois de suivi (48). Les atteintes neurocognitives en revanche, ayant été peu identifiées dans les premières définitions de l'entrée en phase symptomatique, sont maintenant bien décrites dès la phase prodromale (13). Il a en effet été retrouvé une altération des fonctions neurocognitives pouvant précéder de 10 à 20 ans l'apparition des premiers symptômes moteurs sur des cohortes de grande ampleur tel que PREDICT-HD (49). Cependant la quantification de ces changements reste difficile notamment pour estimer avec une certaine précision le temps restant avant l'entrée en phase symptomatique.

### **1.5.2. Imagerie**

Les premières études dans le domaine anatomopathologique amènent rapidement à s'intéresser aux noyaux gris centraux. En effet, une étude ayant autopsié 168 cerveaux post-mortem de patients diagnostiqués de la maladie de Huntington a mis en évidence une atrophie diffuse plus marquée au niveau du striatum (44).

L'IRM cérébrale permet une approche précise de cette atrophie. Une étude transversale sur la cohorte multicentrique internationale PREDICT-HD, portant sur des patients en phase prodromale, estime que

l'atrophie du striatum à l'IRM peut précéder de 15 ans la survenue des premiers symptômes moteurs (50). Une étude longitudinale sur la cohorte multicentrique internationale TRACK-HD, a montré que l'atrophie globale est corrélée à l'apparition et l'évolution des symptômes moteurs et cognitifs chez les patients en phase prodromale et symptomatique débutant (51).

Le TEP-scanner via le marqueur 18FDG, permet d'estimer la consommation de glucose, principal carburant énergétique du cerveau. Cette technique est ainsi très utilisée dans le domaine des maladies neurodégénératives où sa consommation est souvent diminuée dans les zones les plus atteintes. Dans le cadre de la maladie de Huntington, la consommation de glucose est progressivement diminuée au sein du striatum en TEP-scanner 18FDG. De façon intéressante, cette altération précède non seulement l'apparition de signes moteurs, mais aussi l'atrophie du striatum à l'IRM (52).

Comme nous l'avons vu, la perturbation de l'utilisation de la dopamine est prépondérante dans la physiopathologie de la maladie. Les techniques de TEP-scanner, cette fois avec un marqueur ciblant les récepteurs de la dopamine D2, ont démontré une corrélation de la diminution de ces récepteurs en phase prodromale avec l'atteinte motrice et neuropsychologique (53,54), mais cette corrélation était moins évidente une fois l'entrée dans la phase symptomatique actée. Dans le prolongement de cette logique d'altération des voies impliquant la dopamine, la phosphodiesterase PDE10A joue un rôle important dans la régulation et la disponibilité de la dopamine au niveau du striatum. Le TEP-scanner avec utilisation de marqueurs ciblant la PDE10A a ainsi permis de repérer des altérations très précoces chez des sujets présymptomatiques même si il s'agissait d'effectifs restreints (55).

### **1.5.3. Biologie**

Au vu des nombreux processus biologiques impliqués, plusieurs cibles de choix ont constitué un terrain de développement des biomarqueurs sur liquides biologiques, à commencer par le liquide cébrospinal (LCS). La mHTT, bien que mesurable en très faible quantité dans le LCS, a été décrite comme bien corrélée à l'évolution de la maladie sur l'UHDRS, ainsi qu'à l'âge de début des symptômes (56). Les neurofilaments, qui sont des produits de la dégradation neuronale déjà connus dans l'étude d'autres pathologies neurodégénératives, sont également corrélés dans le LCS de

patients Huntington à l'évolution de la pathologie selon l'UHDRS et permettent une bonne discrimination entre phase présymptomatique et symptomatique. Leur dosage dans le plasma sanguin est d'ailleurs bien corrélé à leur taux dans le LCS, permettant un meilleur accès au dosage de neurofilaments en routine (57).

## **2. L'approche métabolomique**

La métabolomique est définie comme l'étude de l'ensemble des petites molécules (<1.5 kDa) du métabolisme contenues dans un système biologique. Cet ensemble est connu sous le nom de métabolome. Du fait du dynamisme du métabolome dans le temps, lors de l'extraction d'un échantillon il convient d'arrêter les réactions enzymatiques rapidement (souvent par le froid), pour offrir l'analyse la plus fiable des métabolites à un instant donné.

Les deux objectifs principaux de la métabolomique en recherche clinique/préclinique sont la découverte de biomarqueurs métaboliques (diagnostique, pronostique, thérapeutique, de suivi), et l'approfondissement mécanistique des différents processus physiologiques ou physiopathologiques. Ce dernier point permet de renforcer le lien de causalité entre un biomarqueur et le processus ou maladie étudiée, pouvant aboutir à la proposition de nouvelles pistes thérapeutiques.

Aujourd'hui on répertorie > 200 000 métabolites chez l'homme selon le Human Metabolome Database (58). Ces métabolites sont identifiés essentiellement par spectrométrie de masse (MS) et résonance magnétique nucléaire (59).

De par sa sensibilité et spécificité analytiques, le temps réduit d'analyse (haut débit) et le faible volume d'échantillon nécessaire, la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase liquide est la méthode analytique la plus utilisée en métabolomique clinique et préclinique.

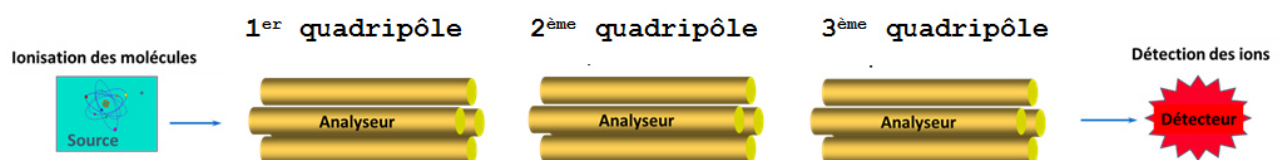
### **2.1. La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie**

Pour un certain nombre de molécules une séparation par l'intermédiaire d'une colonne de chromatographie est réalisée. Pour cela l'échantillon est déposé en tête de la colonne de chromatographie remplie par une phase fixe, dite phase stationnaire. La phase stationnaire est traversée par un solvant ou phase mobile. Cette phase mobile est souvent un mélange de plusieurs

solvants (eau, éthanol, acétonitrile, etc.) dont la proportion varie dans le temps selon un gradient défini au préalable. Les métabolites, en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile, vont sortir de la colonne à des temps différents. Le temps de rétention ( $t_R$ ) est défini comme le temps écoulé entre le dépôt de l'échantillon dans la colonne chromatographique et sa sortie vers le spectromètre de masse. Le  $t_R$  est une donnée spécifique à chaque métabolite qui va contribuer à son identification.

La spectrométrie de masse permet de séparer des éléments sur la base de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). La structure classique d'un spectromètre de masse comprend une source où va se réaliser l'ionisation, un analyseur souvent composé de 3 quadripôles, et un détecteur. Dans un premier temps les molécules sont ionisées par un courant électrique, afin de leur conférer une charge. Ensuite, vient le 1<sup>er</sup> quadripôle, dont la conformation à un instant  $t$ , va ne permettre le passage que des ions ayant un rapport  $m/z$  donné. La conformation de ce quadripôle va progressivement changer tout au long du temps pour balayer l'ensemble des rapports  $m/z$  que l'on souhaite étudier. Un seul quadripôle n'est en général pas suffisant pour ne sélectionner qu'un ion moléculaire, notamment lorsqu'il s'agit d'isobares (molécules de même rapport  $m/z$ ). C'est là qu'intervient le 2<sup>nd</sup> quadripôle qui a pour but d'entraîner une fragmentation des ions ayant passé le premier quadripôle. De la sorte, vont naître des ions fils, plus spécifiques encore de la molécule mère, et permettant de discriminer des isobares. Ces ions fils vont passer dans le troisième quadripôle où le processus expliqué pour le premier quadripôle sera répété afin d'effectuer un nouveau balayage de la gamme de  $m/z$ . Ce rapport  $m/z$  et le temps de rétention expliqué plus haut constituent une signature spécifique de chaque métabolite, déterminant son identification avec une grande certitude. Enfin, le nombre d'ions qui arrivent au détecteur à un instant donné déterminent l'intensité du signal. Pour une molécule donnée la somme des signaux dans le temps se présente sous la forme d'un pic d'allure gaussienne, dont l'aire sous la courbe est proportionnelle à la concentration dans l'échantillon. Le processus d'analyse du spectromètre de masse est donc extrêmement dynamique, nécessitant une coordination minutieuse de chacun de ses composants. Ceci explique le succès de cette méthode analytique tant sur le plan qualitatif que quantitatif.

L'approche métabolomique peut être non ciblée ou ciblée. Dans le premier cas, on obtient toute une gamme de pics, dont il faut identifier la provenance grâce à différents logiciels d'identification qui vont se baser sur le rapport  $m/z$  et sur le temps de rétention de la molécule. Dans le second cas, on définit à priori un groupe de molécules d'intérêt que l'on va quantifier à l'aide de courbes de calibration faites à partir des métabolites ou étalons internes marqués avec des isotopes stables. On balaye ainsi une plage de rapports  $m/z$  moins large, mais elle se fait de manière plus précise et donc d'une meilleure qualité par rapport à l'analyse non ciblée. Dans le laboratoire de Biochimie du CHU d'Angers l'analyse métabolomique est de type ciblée. Cette technologie n'a eu de cesse de s'améliorer sur ces dernières années, permettant la quantification de plus de 1000 métabolites dans un même échantillon



**Figure 2** : Schéma simplifié d'un spectromètre de masse à triple quadripôles conçu par  
le Dr. CHAO DE LA BARCA

## 2.2. Métabolomique et maladie de Huntington : état de l'art

Nous avons donc à travers l'étude métabolomique, un outil pour générer des biomarqueurs intéressants, pouvant précéder l'apparition de signes cliniques. Des études dans ce domaine ont été menées à différentes échelles du vivant, que ce soit au niveau cellulaire, animal ou humain.

### 2.2.1. Métabolisme glucidique

Les glucides sont une source énergétique importante, et l'altération de leur consommation a été mise en évidence dans la maladie de Huntington. Il a en effet été décrit une augmentation de monosaccharides dont le glucose chez des modèles murins et chez l'homme (60). Cela concorde avec des descriptions cliniques d'intolérance au glucose chez les patients atteints de la maladie de Huntington.

Dans une configuration classique, pour produire de l'énergie à partir de molécules de glucose, les cellules s'orientent préférentiellement vers une glycolyse aérobie permettant la production de pyruvate, par rapport à une glycolyse anaérobie aboutissant à la production de lactate. L'intérêt dans la production de pyruvate est de pouvoir le convertir en acétyl-CoA via l'enzyme pyruvate déshydrogénase (PDH), qui permet le fonctionnement du cycle de Krebs puis de la chaîne respiratoire. Il a été démontré une diminution de l'activité de la PDH sur du plasma de souris (61,62), et du LCR de patients (63). Il a également été retrouvé une altération de la voie des pentoses phosphates par diminution de l'activité de la G6PD (61).

### **2.2.2. Métabolisme lipidique**

Les analyses de plasma en spectrométrie de masse ont révélé des perturbations du métabolisme lipidique chez la souris (64,65), puis l'homme (66,67), particulièrement sur les phosphatidylcholines où il a été retrouvé une corrélation avec l'évolution de la maladie. Ces lipides sont intimement liés à la dynamique des membranes cellulaires, ainsi qu'à la signalisation cellulaire dépendant de l'acide arachidonique et ses dérivés, d'une importance primordiale dans les phénomènes de réponse inflammatoire.

De façon plus spécifique au métabolisme cérébral, il a été objectivé une augmentation de la concentration de 24-OH cholestérol dans le plasma humain chez des patients symptomatiques, indifféremment du stade de la maladie, par rapport aux témoins (68,69). Ce métabolite est en effet régulé par une enzyme qui est connue pour n'être présente qu'au niveau cérébral. Il était d'ailleurs constaté dans la même étude que le 24-OH cholestérol n'était pas augmenté de manière significative chez les sujets présymptomatiques, suggérant son importance lors du passage à la phase symptomatique. Il n'y avait cependant pas de progression du 24-OH cholestérol entre les différents stades de la maladie.

### **2.2.3. Métabolisme protéique**

Le travail de Skene et collaborateurs a montré des perturbations du cycle de l'urée et du monoxyde d'azote sur des modèles transgéniques de mouton avec une bonne discrimination entre des groupes symptomatique, présymptomatique, et contrôle (70). Les recherches de Rodrigues et collaborateurs

orientaient vers un dysfonctionnement du métabolisme du tryptophane sur les modèles murins, sans que de telles altérations puissent être confirmées sur des prélèvements humains (71). Le cofacteur NAD produit à partir de certains acides aminés, jouant un rôle prépondérant dans le métabolisme énergétique, est perturbé dans le plasma et le liquide cébrospinal chez des patients symptomatiques (72). Il a été également démontré des déficits en acides aminés branchés (leucine, isoleucine et valine) sur plasma humain (67,73). Ces acides aminés sont les plus fréquemment retrouvés au sein des protéines, et leur diminution concorde avec un catabolisme protéique accru, connu du fait de la fréquence d'une cachexie dans l'évolution de la maladie de Huntington.

Des études ont tenté de colliger les résultats entre les modèles transgéniques animaux et humains dans le cadre d'approches multiomiques, apportant des pistes sur la perturbation du métabolisme des acides aminés et du glutathion notamment (74).

Très peu d'études ont donc mené ce type de recherche par approche métabolomique chez l'homme en post-mortem ou sur plasma sanguin. Une étude métabolomique sur plasma humain n'a pas trouvé de différences significatives entre présymptomatiques et symptomatiques, mais avec des échantillons relativement restreints et une technique RMN non ciblée (75).



### 3. Objectifs de l'étude

Comme vu plus haut, l'âge de début de la maladie est variable, et la définition des premiers symptômes de la pathologie ne se cantonne pas à une définition motrice. La définition en conséquence d'une phase prodromale, constitue une période d'incertitude diagnostique où des phénomènes moteurs subtiles, des atteintes cognitives, des perturbations à l'imagerie et à la biologie sont objectivés par les différentes études citées. L'un des enjeux majeur dans la prise en charge de la maladie de Huntington étant la découverte d'un traitement permettant de ralentir ou stopper l'évolution de la pathologie, il devra de préférence intervenir de la façon la plus précoce possible pour éviter toute dégradation neuronale non nécessaire. Dans le même temps, il ne devra pas être précipité sans arguments probant pour une évolution péjorative, sous peine d'une prise de risque qui ne serait pas acceptable tant scientifiquement qu'éthiquement.

L'objectif principal de notre étude était donc d'identifier, par une approche métabolomique ciblée, un ou des métabolites pouvant constituer un biomarqueur suffisamment discriminant entre sujets présymptomatiques (UHDRS  $\leq 5$ ) et symptomatiques débutants (UHDRS  $> 5$ , CFT  $> 10$ ).

Les objectifs secondaires de l'étude étaient d'identifier la corrélation d'un ou plusieurs métabolites avec l'UHDRS moteur chez les patients symptomatiques débutants (marqueur de suivi), ainsi que d'identifier un ou des métabolites discriminants entre les sujets contrôles et présymptomatiques (marqueur physiopathologique).

# MÉTHODES

## 1. Données démographiques

Étaient inclus les personnes ayant un âge compris entre 20 et 70 ans, et ayant fourni leur consentement écrit signé après explication éclairée du protocole. Les sujets présymptomatiques avaient un diagnostic génétique de la maladie de Huntington (CAG>36) et un UHDRS moteur  $\leq 5$ . Les sujets à un stade débutant avaient un diagnostic génétique de la maladie de Huntington (CAG>36) avec un UHDRS moteur  $> 5$  et une CFT  $> 10$ . Les sujets contrôles n'avaient aucun argument clinique pour la maladie de Huntington (absence de mouvements anormaux involontaires lors de l'examen neurologique, absence de troubles cognitifs significatifs au MMSE), et ne justifiant donc pas de recherche génétique selon notre protocole.

Ont été exclus les personnes n'étant pas affiliées ou n'ayant pas droit à la sécurité sociale, privées de liberté par décision administrative ou judiciaire, sous tutelle, n'ayant pas donné leur consentement éclairé et signé par écrit, les femmes enceintes ou allaitantes, ainsi que les personnes ayant participé à un autre essai thérapeutique dans les 3 mois précédant l'inclusion.

Il était prévu initialement des effectifs de 50 personnes par groupe, soit 150 au total. Après réévaluation des objectifs, par rapport à la fréquence de la pathologie, notre vitesse d'inclusion, d'autres études métabolomiques avec des cohortes similaires ou moindres, nous avons finalement retenu le seuil de 30 personnes par groupe pour un risque  $\alpha$  de 5% et une puissance de 80% sur le critère de jugement principal. Cela a également été défini comme nombre de sujets nécessaires dans les études cliniques pour l'UHDRS moteur comme critère de jugement principal (76).

Pour chaque individu, les données anthropométriques et cliniques suivantes ont été récupérées : genre, âge, constantes, fumeur/non-fumeur, traitements concomitants, taille, poids, comorbidités, antécédents médicaux, MMSE (Mini Mental State Examination), examen neurologique standard. Les comorbidités psychiatriques comprenaient les troubles de l'humeur, les troubles anxieux, et les troubles psychotiques.

Un bilan biologique à jeun a également été réalisé comprenant numération de formule sanguine, vitesse de sédimentation, TP, TCK, ionogramme sanguin, glycémie, créatinine, urée, protidémie, Cholestérol (HDL/LDL) triglycérides, bilan hépatique complet avec bilirubine totale et conjuguée, T3, T4, TSH, lactate, albumine,  $\beta$ HCG.

Pour les sujets présymptomatiques et symptomatiques il a également été réalisé une évaluation clinique par l'UHDRS moteur, une évaluation de l'autonomie par la Capacité Fonctionnelle Totale (CFT), le score fonctionnel et l'indice de Barthel (évalue la dépendance), ainsi que des tests neuropsychologiques par le test de fluence verbale PRV, le test des symboles (SMDT), et le Stroop test (dénomination, lecture, interférence).

L'échelle PBA-short form (Problem Behaviors Assessment) a été utilisée pour évaluer la fréquence et la sévérité des symptômes comportementaux ou psychiatriques sur les 4 dernières semaines. Les items étudiés dans cette échelle sont ceux de la dépression, l'apathie, l'irritabilité, l'anxiété, le délire, l'hallucination et l'agressivité.

## **2. Prélèvement et conservation des échantillons**

Dans le service de neurologie, une prise de sang était réalisée à jeun, comprenant un bilan sanguin standard sur 5 tubes soit 20 ml, et 4 tubes héparinés soit 30 ml pour l'étude métabolomique, donc 9 tubes comprenant environ 50 ml de sang au total.

Un échantillon biologique (1 tube de l'étude métabolomique) était traité dans le service de neurologie (centrifugation à 2500g à température ambiante pendant 15 min à 2 reprises) puis envoyé à la plateforme PREMMi (Pôle de Recherche et d'Enseignement en Médecine Mitochondriale) pour être stockés à -20°C. Les 4 autres tubes de l'étude métabolomique ont été traités rapidement (dans la glace puis centrifugés à 2500g à 4°C pendant 10 min) et stockés à -80°C par le CRB (Centre de Ressources Biologiques) d'Angers.

Deux tubes destinés à l'analyse métabolomique ont été envoyés dans la carboglace (-80°C) à la plateforme METANUTRIBIOTA Metabolomics de Lyon où l'analyse métabolomique a été réalisée.

### 3. Analyse des échantillons

Les échantillons sanguins ont été analysés de façon randomisée, en utilisant 2 kits MxP Quant 500 XL (Biocrates Life Science AG, Innsbruck, Austria) dans un spectromètre de masse triple quadripolaire XEVO TQ-XS®. Cent six métabolites sont quantifiés après une séparation chromatographique en utilisant un système de chromatographie liquide de haute performance ou HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*, Waters™, Milford, Massachusetts, USA). Les 913 métabolites restants, essentiellement des lipides, sont quantifiés sans séparation chromatographique préalable par une méthode d'injection en flux continu ou FIA (*Flow Injection Analysis*). Un kit a été utilisé pour l'analyse de 44 échantillons (septembre 2023), et un second kit pour l'analyse des 50 échantillons restants (février 2024). La distribution des échantillons entre les 2 kits a été randomisée et ajustée sur leur statut (contrôle, présymptomatique ou symptomatique).

Cette analyse globale a été développée pour quantifier 1019 métabolites, provenant de 39 classes biochimiques distinctes qui peuvent être classées en métabolites polaires ou apolaires. La famille des métabolites polaires inclus 93 molécules. La famille des métabolites apolaires inclus 926 molécules comprenant hormones stéroïdiennes, acides gras libres, acylcarnitines, esters de cholestérol, diglycérides, triglycérides, glycérophospholipides et sphingolipides. Il est important de mentionner que les consommables, réactifs, méthodes, et instructions inclus dans le kit ont été implémentés comme mentionné par la société Biocrates® sans modification. Ce kit confère les instructions et les réglages exacts pour les différents paramètres de la HPLC, de la FIA, et de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Avant l'analyse, les solvants et phases mobiles ont été préparés comme indiqué par le fabricant. Les prélèvements sanguins, les calibrants et les contrôles qualités ont été déposés sur des plaques à 96 puits, avec au préalable des étalons internes disposés dans chacun de ces puits. Les différentes phases consistaient en une dérivation, extraction, et dilution, selon les instructions du fabricant et expliquées dans le Manuel du kit. Alcaloïdes, amines oxydes, acides aminés, amines biogènes et autres métabolites dérivés d'acides aminés, acides biliaires, acides carboxyliques, crésols, acides gras, certaines hormones, dérivés d'indole, métabolites de bases nucléiques, et la choline ont été quantifiés par LC-MS/MS en utilisant la colonne MxP Quant 500. Acylcarnitines, acides

lysophosphatidiques (LPA), acides phosphatidiques (PA), lysophosphatidylcholines (LPC), phosphatidylcholines (PC), lysophosphatidyléthanolamines (LPE), phosphatidyléthanolamines (LPE), lysophosphatidylglycérols (LPG), phosphatidylglycérols (PG), lysophosphatidylinositols (LPI), phosphatidylinositols (PI), lysophosphatidylsérines (LPS), phosphatidylsérines (PS), sphinganine et sphingosine (SPB), sphinganine et sphingosine phosphate (SPBP), sphingomyélines (SM), céramides (Cer), dihydrocéramides (Cer d), hexosylcéramides (Hex-Cer d), dihexosylcéramides (Hex2Cer d), trihexosylcéramides (Hex3er d), cholesteryl esters (CE), monoglycérides (MG), diglycérides (DG), triglycérides (TG) et la somme des hexoses ont été quantifiés par FIA-MS/MS.

La quantification des métabolites a été réalisée au moyen d'une courbe de calibration à 7 points (LC-MS/MS) ou à 1 point (FIA-MS/MS). Pour la FIA, on injecte directement dans la source du spectromètre de masse sans séparation chromatographique préalable. Dans ce dernier cas la méthode est dite semi-quantitative car un seul métabolite marqué sert à quantifier l'ensemble des métabolites de la même famille biochimique. La préparation des prélèvements (utilisant 2 x 10 µL de sérum), les instruments d'analyses, les mesures de contrôle qualité, et la quantification des métabolites ont été réalisés là encore selon les instructions du fabricant. Les données ont été collectées avec le logiciel MassLynx® (Waters, Milford, Massachusetts, USA) et analysées avec le logiciel Biocrates WebIDQ™ (Biocrates Life Sciences AG, Innsbruck, Austria). WebIDQ™ permet le calcul de plus de 400 indicateurs métabolites quantifiables (sommes et ratios) qui aident à l'interprétation des données. Parmi ceux-là nous avons exclu ceux dédiés au dépistage néonatal pour ne conserver que 137 indicateurs.

La limite inférieure de quantification (LLOQ) est définie comme la valeur au-dessous de laquelle l'incertitude sur la concentration mesurée n'est plus acceptable. Pour retenir un métabolite dans les analyses statistiques, il devait avoir moins de 30% de ses valeurs inférieures à la LLOQ, ou avoir entre 30% et 50% de valeurs inférieures à la LLOQ avec un test de Kruskal-Wallis significatif (comparant la médiane entre les trois groupes). En effet, les métabolites vérifiant la deuxième condition sont informatifs dans notre étude même si d'autres méthodes d'analyse devraient être réalisées pour les quantifier de manière plus précise.

## 4. Statistiques

### 4.1. Analyses des données démographiques

Concernant les données démographiques, la plupart des variables quantitatives ne suivaient pas une loi normale ( $P$ -value test de Shapiro-Wilk  $< 0.05$ ). En conséquence le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les médianes des trois groupes (contrôle, présymptomatique et symptomatique). Pour les variables qualitatives, le test de Chi2 ou de Fischer a été employé selon la taille de l'effectif concerné.

### 4.2. Analyse des données métabolomiques

Concernant les données métabolomiques, les concentrations à l'intérieur de chaque kit ont été d'abord centrées et réduites (moyenne de 0 et écart-type de 1) pour s'affranchir d'un « effet kit » inhérent à la variabilité éventuelle entre les deux kits utilisés. Des analyses multivariées ont été réalisées par des méthodes non supervisées PCA (*principal component analysis*) afin d'identifier des échantillons similaires et atypiques (*outliers*) qui ont ensuite été éliminés du reste de l'analyse statistique.

Pour les analyses univariées, le test ANOVA à 2 facteurs sur les concentrations log-transformées a été réalisé. Le test des étendues de Tukey a permis de descendre plus spécifiquement les groupes responsables de la significativité du test ANOVA. Pour ces deux tests le seuil alpha a été corrigé par la méthode de Benjamini et Hochberg afin de prendre en compte l'inflation du risque de 1<sup>ère</sup> espèce. Chaque métabolite dont la moyenne différait significativement entre les groupes comparés a été soumis à une régression logistique (RL) afin de mieux connaître sa capacité à discriminer les individus présymptomatiques des symptomatiques. L'ensemble des sujets de ces deux groupes a été divisé en un jeu d'entraînement-validation comprenant 2/3 des échantillons, et le 1/3 restant pour le jeu de test. Dans le jeu d'entraînement-validation contenant 40 individus (20 présymptomatiques et 20 symptomatiques), nous avons construit 3360 modèles ajustés sur le sexe, chaque modèle correspondant à une combinaison de 12 individus présymptomatiques et 12 individus symptomatiques pour le jeu d'entraînement ( $n=24$ ), ainsi que 8 individus présymptomatiques et 8

individus symptomatiques pour le jeu de validation (n=16). Avec le jeu d'entraînement-validation plusieurs combinaisons ont été étudiées comprenant un métabolite isolément ou l'association de 2 ou 3 métabolites. L'objectif de cette étape de validation croisée était de proposer un nombre réduit de candidats biomarqueurs potentiellement quantifiables en routine. Le paramètre utilisé pour évaluer la performance de ces modèles de RL était la surface sous la courbe ROC (AUROC) du modèle appliqué au jeu de validation, avec un seuil à 0.8 pour séparer les modèles jugés discriminants ( $AUROC \geq 0.8$ ). Le cas échéant, un modèle de RL construit avec tous les échantillons d'entraînement-validation et les métabolites choisis à l'issue de cette étape, a été appliqué au jeu de test. Finalement l'estimation des coefficients de la régression logistique a été réalisée avec l'ensemble des échantillons par une méthode de type bootstrap en incluant dans le modèle final les variables âge et sexe (modèle complet). La capacité discriminante de ce modèle « complet » a été comparée à celle de modèles plus parcimonieux (en enlevant la variable métabolite, âge, ou sexe) par test ANOVA pour des modèles emboîtés. La significativité de ce test (p-value  $< 0.05$ ) indique que le modèle le plus complet est significativement plus informatif que le modèle réduit, et nous contraint à le conserver.

Un modèle multivarié supervisé de type PLS (partial least squares) comprenant une variable latente a été appliqué, afin d'expliquer l'évolution du score UHDRS moteur à partir de l'ensemble des métabolites dans la population des individus symptomatiques. La sélection du meilleur modèle et des métabolites impliqués (méthode emboîtée) dans la corrélation entre la variable latente construite par le modèle PLS et le score UHDRS moteur a aussi été faite par l'utilisation d'une stratégie de type validation croisée.

Pour cela, les échantillons ont été alloués de manière aléatoire en un jeu d'entraînement-validation comprenant 2/3 des échantillons, et le 1/3 restant pour le jeu de test. De manière succincte : le modèle PLS initial est construit avec les échantillons d'entraînement et contient toutes les variables (métabolites). Les capacités prédictives de ce modèle initial sont évaluées par la corrélation entre la valeur prédite par le modèle de l'UHDRS et la vraie valeur de l'UHDRS moteur pour le jeu de validation. Ce processus est réalisé un nombre relativement élevé de fois (validation croisée) afin d'obtenir des estimations de cette corrélation. Dans le cas où la comparaison du coefficient de

corrélation à zéro (P value médiane) n'est pas significative, les métabolites les moins importants sont éliminés puis le processus est répété avec un nombre plus restreint de métabolites. L'importance de chaque variable pour le modèle final et pour la sélection de variables lors de la validation croisée a été mesurée par le

VIP (variable importance in projection) et le loading. Le VIP mesure l'importance globale du métabolite pour le modèle, tandis que le loading mesure l'importance du métabolite dans la construction de la variable latente. Les variables avec un  $VIP > 1$  sont considérées comme importantes.

### **4.3. Critères de jugement**

Le critère de jugement principal était la différence significative d'un métabolite du groupe présymptomatique par rapport au groupe symptomatique après test univarié et correction du risque alpha comme détaillé dans le chapitre Statistiques.

Le critère de jugement secondaire était l'importance du métabolite, mesurée par le VIP, dans la construction de la variable latente (modèle PLS) expliquant le score UHDRS moteur chez les patients symptomatiques.



## 5. Ethique

Lors de l'inclusion, le consentement était recueilli par l'investigateur après un entretien et la délivrance d'une lettre d'information écrite dans un langage compréhensible par le sujet. Le formulaire de consentement expliqué était ensuite signé en 2 exemplaires par les différents partis.

Les individus avaient la possibilité de retirer leur consentement ou demander à sortir de l'étude à n'importe quel moment et quelle qu'en soit la raison. L'investigateur pouvait interrompre temporairement ou définitivement la participation d'un sujet à l'étude pour toute raison qui servirait au mieux les intérêts de l'individu. Compte tenu de la nature transversale de l'étude, il n'était pas prévu de comité de surveillance indépendant.

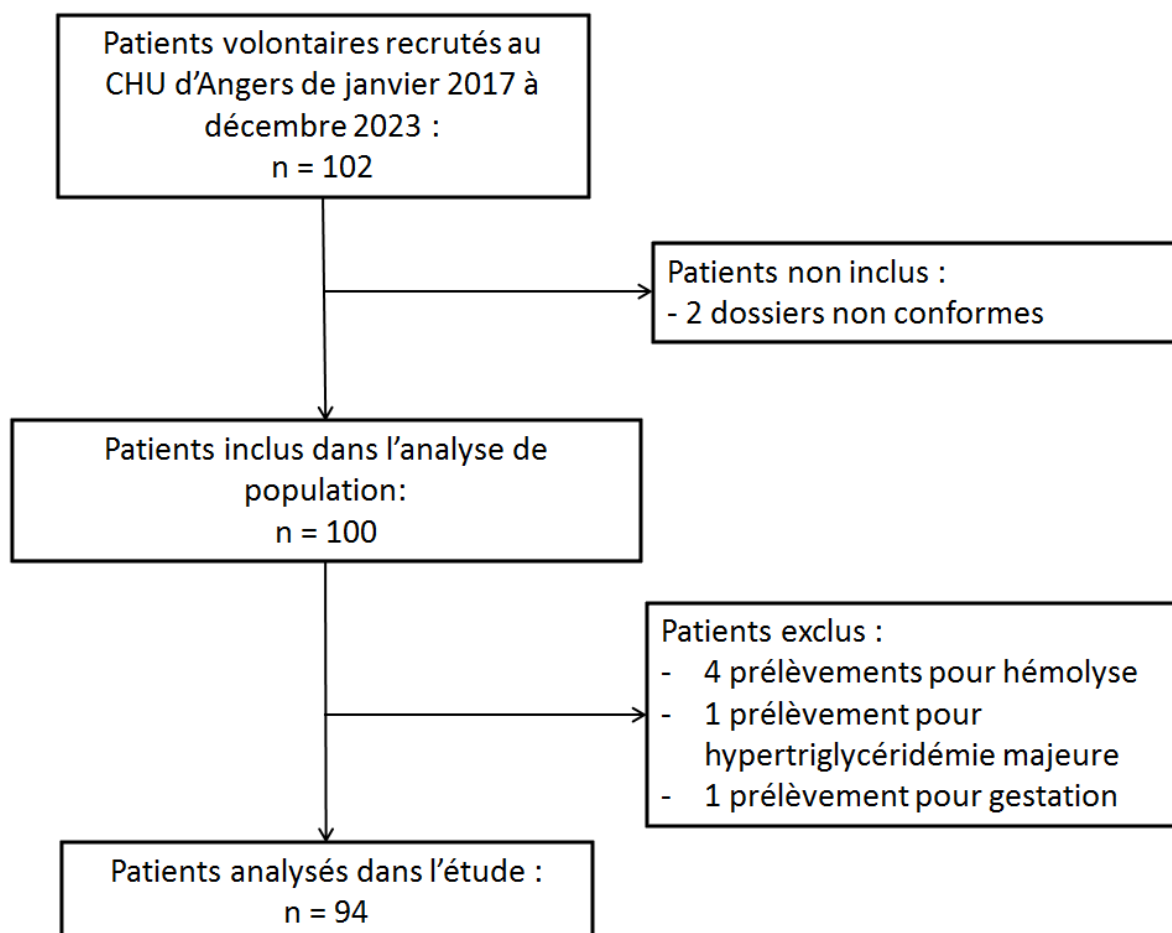
Les données ont été recueillies de manière codée, les participants étaient identifiés par un numéro composé d'une lettre selon le type de sujet (A: présymptomatique, B: symptomatique, C: contrôle) et d'un numéro d'ordre d'inclusion. Une liste de correspondance était conservée sous la responsabilité de l'investigateur principal du centre.

Le dossier de l'étude a été soumis au Comité de Protection des Personnes (CPP), et a été enregistré sur le registre Commission Nationale Informatique et libertés (CNIL) des « Traitements à finalité de recherche ou réalisés dans le cadre de la recherche » du CHU d'Angers. L'étude a été validée comme recherche interventionnelle avec risques et contraintes minimales (catégorie 2).

# RÉSULTATS

## 1. Caractéristiques de la population

Les sujets ont été recrutés au CHU d'Angers entre 2017 et 2023 sur la base du volontariat après présentation concise du protocole d'étude. Pour l'analyse de population, 2 individus ont dû être exclus pour dossier non conforme. Pour l'analyse des données, 6 sujets ont été exclus : 4 pour hémolyse du prélèvement (1 contrôle, 2 présymptomatiques, et 1 symptomatique), 1 symptomatique pour hypertriglycémie majeure, et 1 symptomatique pour déclaration de grossesse en cours de protocole.



**Figure 3** : Diagramme de flux à l'inclusion

Les caractéristiques de la population d'étude sont décrites dans le **Tableau I et II**. Les présymptomatiques (39 ans,  $p=0.02$ ) étaient en moyenne significativement plus jeunes que les symptomatiques (46 ans) et contrôles (44 ans). Il y avait une majorité de femmes dans le groupe contrôle (76.7%,  $p = 0.03$ ) comparé aux groupes présymptomatique (44.4%) et symptomatique (52.9%). Il n'existait en revanche pas de différence significative entre les groupes sur le poids, la taille et l'IMC. Le MMS était significativement plus bas chez les symptomatiques (27/30,  $p < 0.01$ ) comparé aux présymptomatiques (28.7/30) et contrôles (29.4/30). Il existait une différence significative pour l'antécédent d'hypothyroïdie chez les contrôles (5 individus,  $p = 0.03$ ), comparé aux présymptomatiques (0 individus) et symptomatiques (2 individus), mais il n'existait pas de différence significative sur la TSH. Il y avait une différence non significative sur les antécédents psychiatriques entre symptomatique (10 patients,  $p = 0.07$ ) comparé aux contrôles et présymptomatiques. Il n'y avait pas de différence significative sur les antécédents de dyslipidémie, diabète et hypertension artérielle. Il n'y avait pas de différence significative au niveau des traitements sur la prise de neuroleptiques ou de statines. Il n'y avait pas non plus de différence significative sur le taux d'albumine, de LDL-c, ou de triglycérides.

En données complémentaires parmi les symptomatiques, les premiers symptômes étaient survenus en moyenne 4 ans avant leur inclusion dans l'étude (écart-type de 3.0 ans), avec un âge moyen au début des symptômes de 41 ans (écart-type de 11.1 ans).

**Tableau I** : Caractéristiques générales de la population (moyenne avec écart-type, ou pourcentage)

<b>Variables</b>	<b>Contrôles (n=29)</b>	<b>Présymptomatiques (n=34)</b>	<b>Symptomatiques (n=31)</b>	<b>P-value</b>
<b>Age (années)</b>	44 (12.8)	39 (10.9)	46 (10.7)	0,021*
<b>Homme (%)</b>	23,3	55,6	47,1	0,026*
<b>Taille (cm)</b>	166 (8.8)	168 (10.7)	168 (8.3)	0,49
<b>Poids (kg)</b>	66,5 (12.9)	70,3 (19.1)	66,0 (19.4)	0,54
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,0 (4.3)	24,5 (4.6)	23,7 (7.2)	0,37
<b>MMS</b>	29,4 (1.1)	28,7 (1.7)	27,0 (3.1)	< 0,01*
<b>Dyslipidémie</b>	3	3	0	0,16
<b>Diabète</b>	1	0	0	0,30
<b>Hypertension artérielle</b>	3	2	2	0,79
<b>Hypothyroïdie</b>	5	0	2	0,022*
<b>Antécédents psychiatriques</b>	2	7	10	0,059
<b>Neuroleptiques</b>	0	2	2	0,67
<b>Statines</b>	2	3	0	0,21
<b>Albumine (g/l)</b>	45.1 (3.5)	45.4 (3.3)	44.8 (3.9)	0,68
<b>LDL-c (g/l)</b>	3,0 (0.9)	3,2 (0.9)	3,3 (0.9)	0,37
<b>Triglycérides (g/l)</b>	1.0 (0.6)	1.0 (0.4)	1.1 (0.7)	0.49
<b>TSH</b>	1.7 (0.8)	1.9 (1.0)	2.02 (1.1)	0.46

\* &lt; 0.05 ; \*\*&lt;0.01

Comme attendu, il existait une différence significative sur l'UHDRS moteur entre les présymptomatiques (1.11,  $p < 0.01$ ) et les symptomatiques (18.94) ; ainsi que sur l'ensemble des échelles cognitives. Il n'existait en revanche pas de différence au niveau des échelles psychiatriques entre les groupes présymptomatique et symptomatique, et il n'y avait notamment pas de patient avec antécédent de psychose.

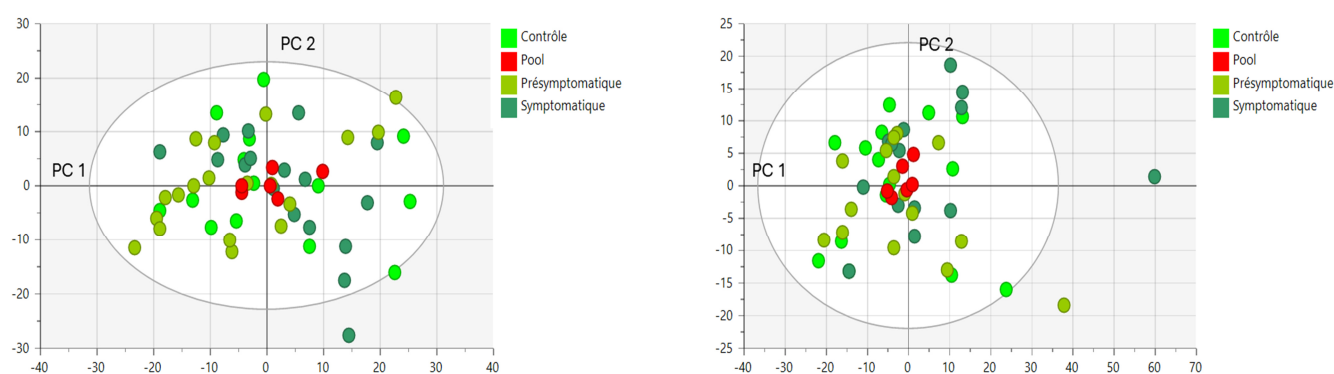
**Tableau II** : Caractéristiques génétiques et cliniques de la population (moyenne avec écart-type)

<b>Variable</b>	<b>Présymptomatiques (n=36)</b>	<b>Symptomatiques (n=34)</b>	<b>P-value</b>
<b>Répétitions CAG</b>	43,0 (3.0)	44,7 (3.4)	0.035
<b>UHDRS moteur</b>	1.1 (1.5)	18.9 (12.2)	< 0.0001
<b>CFT</b>	13.0 (0.0)	12.5 (0.7)	< 0.0001
<b>Score fonctionnel</b>	25.0 (0.0)	24.4 (1.0)	< 0.001
<b>Echelle de dépendance</b>	100.0 (0.0)	95.6 (7.8)	< 0.01
<b>Fluence verbale (mots)</b>	45.4 (12.5)	35.8 (14.4)	< 0.01
<b>Reconnaissance symboles</b>	51.71 (9.3)	37.18 (11.8)	< 0.0001
<b>Stroop test dénomination</b>	96.1 (14.1)	68.3 (12.0)	< 0.0001
<b>Stroop test lecture</b>	94.3 (11.5)	75.6 (14.4)	< 0.0001
<b>Stroop test interférence</b>	50.9 (14.4)	33.6 (9.4)	< 0.0001
<b>TMT A (temps)</b>	26.2 (14.7)	48.4 (27.9)	< 0.0001
<b>TMT B (temps)</b>	48.3 (15.8)	100.7 (55.4)	< 0.0001
<b>Dépression</b>	1.5 (3.1)	3.2 (5.2)	0.13
<b>Irritabilité</b>	0.5 (1.3)	1.2 (2.8)	0.27
<b>Psychose</b>	0.0	0.0	NA
<b>Apathie</b>	0.1 (0.4)	0.6 (1.6)	0.29
<b>Fonctions exécutives</b>	0.1 (0.7)	1.1 (3.2)	0.14

## 2. Analyses métabolomiques

### 2.1. Analyse en composantes principales

684 métabolites ont remplis les critères d'acceptabilité et ont été utilisés dans les analyses statistiques univariées et multivariées. L'analyse en composantes principales a montré une variabilité analytique (représentée par les pools) inférieure à la dispersion biologique des individus pour les deux kits, comme on peut le voir sur la **Figure 4**. Un échantillon a été considéré comme outlier car dépassant la borne 99% de Hotelling. Il s'agit d'un patient symptomatique avec une hypertriglycémie majeure qui a donc été exclu des analyses ultérieures.



**Figure 4** : PCA pour le kit 1 (A) et le kit 2 (B). PC : composante principale

### 2.2. Métabolites discriminants entre les 3 groupes

Les p-values corrigées de l'ANOVA ont mis en évidence 22 lipides dont la concentration variait significativement entre les 3 groupes (**Tableau III**) : 5 esters de cholestérol (CE 16:1, CE 17:1, CE 18:1, CE 18:3 et CE 22:5), 4 lysophosphatidylcholines (LPC 16:1, LPC 20:3, LPC 26:0 et LPC 26:1), 2 phosphatidylcholines (PC 32:1 et PC 34:1), 3 lysophosphatidyléthanolamines (LPE 20:3, LPE 20:4 et LPE 22:4), 2 phosphatidyléthanolamines (PE 34:4 et PE 44:12), 2 phosphatidylsérines (PS 34:2 et PS 36:4) et 4 phosphatidylinositols (PI 16:0\_17:0, PI 16:0\_17:2, PI 16:0\_22:1 et PI 18:0\_22:0).

Le test de Tukey a montré que 20 de ces 22 lipides étaient significativement différents entre les groupes présymptomatique et symptomatique. De plus, la moyenne du PE 44:11 était significativement différente entre ces deux groupes (**Tableau III**). Il n'y avait en revanche pas de différence significative entre groupes contrôle et présymptomatique, ni entre groupes contrôle et

symptomatique. Nous nous sommes donc focalisés sur la comparaison des groupes présymptomatique et symptomatique pour la suite des analyses.

**Tableau III** : Moyenne ( $\mu\text{mol/L}$ ) des métabolites significativement modifiés

Métabolites	Contrôles (n=29)	Présymptomatiques (n=34)	Symptomatiques (n=31)	P-value (ANOVA) générale	P-value (Tukey) symptomatiques VS présymptomatiques
<b>CE 16:1</b>	51,49	43,37	70,05	<0,0001	<0,0001
<b>CE 17:1</b>	3,41	2,88	4,06	<0,01	<0,01
<b>CE 18:1</b>	206,69	196,11	270,61	<0,01	<0,01
<b>CE 18:3</b>	41,09	38,02	54,73	<0,001	<0,001
<b>CE 22:5</b>	1,07	1,13	1,44	<0,01	0,0135
<b>PE 34:4</b>	0,05	0,03	0,06	<0,001	<0,001
<b>PE 44:11</b>	0,07	0,05	0,07	0,0029	<0,01
<b>PE 44:12</b>	0,11	0,09	0,14	<0,001	<0,001
<b>LPE 20:3</b>	0,11	0,09	0,15	<0,0001	<0,0001
<b>LPE 20:4</b>	1,01	0,97	1,15	<0,01	<0,01
<b>LPE 22:4</b>	0,17	0,14	0,19	<0,001	<0,001
<b>PC 32:1</b>	17,53	14,36	21,16	<0,001	<0,001
<b>PC 34:1</b>	207,00	196,20	238,13	<0,01	<0,01
<b>LPC 16:1</b>	2,53	2,28	2,99	<0,001	<0,001
<b>LPC 20:3</b>	1,81	1,82	2,33	<0,01	0,0067
<b>LPC 26:0</b>	0,27	0,23	0,29	<0,001	<0,001
<b>LPC 26:1</b>	0,30	0,26	0,32	<0,001	<0,001
<b>PS 34:2</b>	0,04	0,02	0,04	<0,01	<0,01
<b>PS 36:4</b>	0,14	0,13	0,16	<0,001	<0,001
<b>PI 16:0_17:0</b>	1,01	1,43	0,51	<0,01	<0,01
<b>PI 16:0_17:2</b>	27,21	27,45	32,01	<0,001	<0,01
<b>PI 16:0_22:1</b>	1,12	1,54	0,80	<0,01	<0,01
<b>PI 18:0_22:0</b>	4,36	6,19	2,20	<0,01	<0,01

Parmi 137 ratios et sommes analysées, 4 étaient modifiés de façon significative après correction du risque de première espèce : la somme des lysophosphatidylcholines à très longue chaîne ( $\Sigma$  VLCFA-LPC), la somme des phosphatidylcholines monoinsaturés ( $\Sigma$  MUFA-PC), le ratio entre la somme de phosphatidylcholines polyinsaturées et les phosphatidylcholines mono-insaturées (PUFA-PC/MUFA-PC), et la somme des esters de cholestérol mono insaturés ( $\Sigma$  MUFA-CE), disponible également sur le

**Tableau IV.**

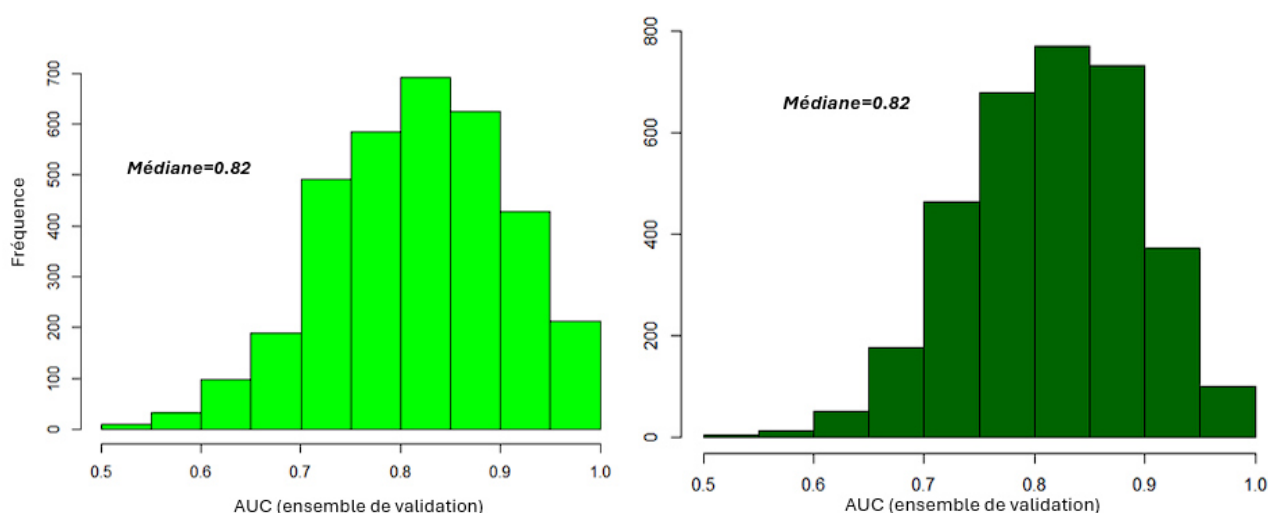
**Tableau IV** : Moyennes des sommes ( $\mu\text{mol/L}$ ) et ratios significativement modifiés entre présymptomatiques et symptomatiques en ANOVA

<b>Sommes et ratios</b>	<b>Présymptomatiques (n=34)</b>	<b>Symptomatiques (n=31)</b>	<b>P-value</b>
<b><math>\Sigma</math> VLCFA-LPC</b>	0,65	0,78	< 0,01
<b><math>\Sigma</math> MUFA-PC</b>	279,63	337,94	< 0,001
<b>PUFA-PC / MUFA-PC</b>	4,11	3,68	<0,001
<b><math>\Sigma</math> MUFA-CE</b>	241,76	343,96	<0,01



### 2.3. Séparation entre groupes présymptomatique et symptomatique par un modèle de régression logistique

Le modèle de régression logistique a permis d'identifier 2 métabolites dans le passage de la forme présymptomatique à symptomatique après validation croisée avec une AUROC >0.8 dans l'ensemble de validation. Il s'agissait du métabolite LPC 16:1 avec une AUROC de 0.82 ( $p = 0.027$ ), et du métabolite PC 32:1 avec une AUROC de 0.82 ( $p = 0.048$ ) représentés en **Figure 5**.



**Figure 5** : Histogramme de l'AUC de la regression logistique incluant LPC 16:1 (à gauche) ou PC 32:1 (à droite)

Il existe de plus une corrélation positive entre la LPC 16:1 et la PC 32:1 (coefficient de corrélation partielle  $r_{\text{LPC16:1/PC32:1}} = 0.88$ ,  $p\text{-value} < 0.001$ ). Du fait de cette redondance nous avons choisi la LPC 16:1 comme potentiel biomarqueur discriminant entre les groupes présymptomatique et symptomatique.

Le modèle complet retenu pour la régression logistique contient la LPC 16:1, l'âge et le sexe.

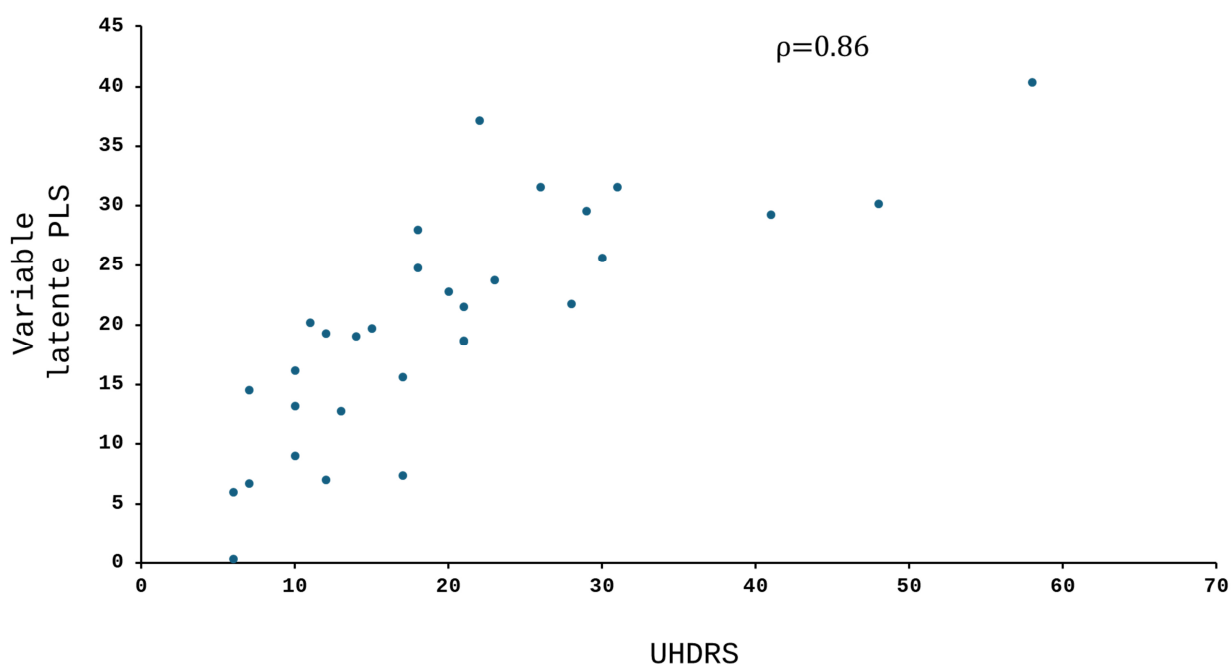
En recherchant le modèle le plus réduit en termes de variables d'intérêt, c'est le modèle de régression logistique contenant la LPC 16:1 et l'âge qui est resté le plus informatif comparé au modèle complet ( $p = 0.063$ ). Les  $p$ -values médianes des modèles réduits ne contenant pas l'âge ou la LPC 16:1 étaient respectivement de 0.00656 et  $1.37 \times 10^{-12}$ , ne permettant donc pas d'exclure ces variables.

Le modèle de régression logistique ainsi retenu est :

$$\text{Logit Pr(Symptomatique)} = -7.19 + 2.077(\text{LPC 16:1}) + 0.045 \times \text{âge}$$

## 2.4. Corrélation entre métabolites et UHDRS moteur dans le groupe symptomatique

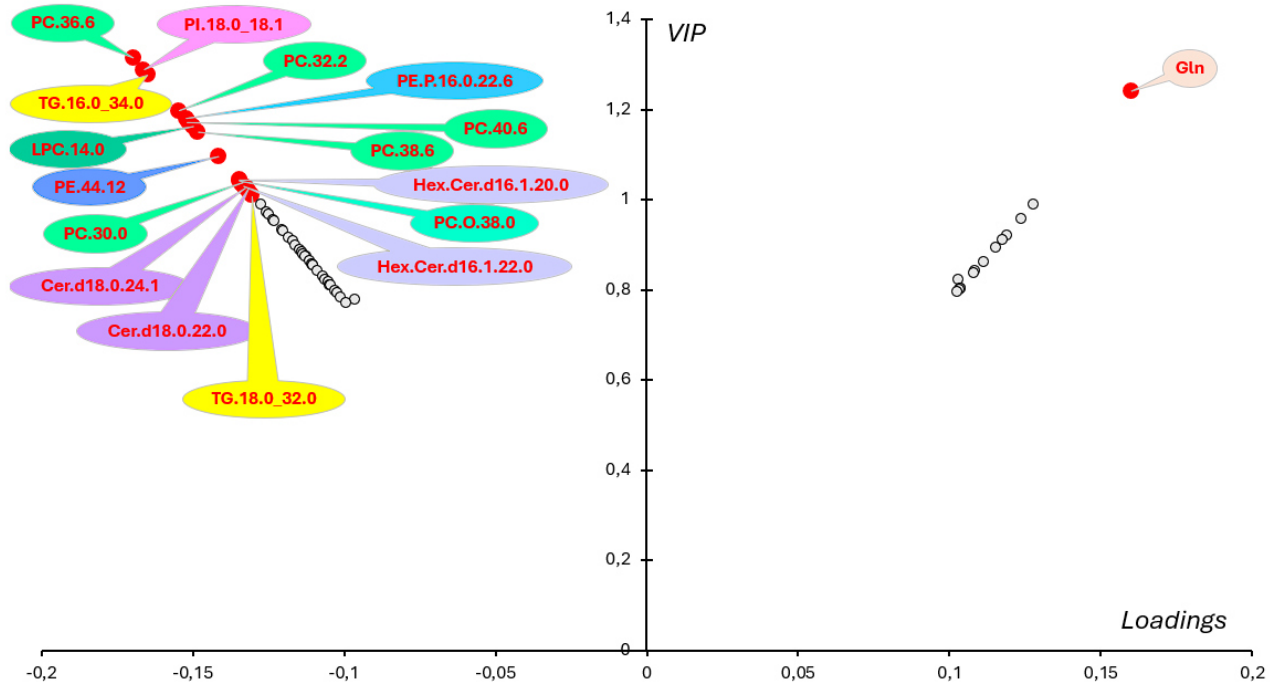
Un modèle supervisé de type PLS à une variable latente construit avec 60 métabolites a été obtenu par validation croisée. Dans ce modèle avec les patients symptomatiques, la variable réponse est le score UHDRS moteur. La corrélation de Spearman entre les valeurs du (vrai) score UHDRS moteur et les valeurs prédites par le modèle est de 0.86 (**Figure 6**).



**Figure 6** : Graphique représentant le score UHDRS moteur (abscisses) et l'approche de ce score par le modèle PLS (ordonnées) contenant 60 métabolites chez tous les symptomatiques

Les valeurs de VIP et de loadings obtenues par bootstrap sont données dans le **Tableau V**. Les 17 métabolites les plus importants ( $VIP \geq 1$ ) dans la construction de la variable latente sont représentés **Figure 7**. Parmi ces métabolites, la glutamine (Gln) corrèle positivement avec l'UHDRS moteur. Les métabolites qui corrélaient négativement avec le score UHDRS moteur sont des lipides : six phosphatidylcholines (PC) dont une plasménylcholine (PC-O 38:0) et 3 PC avec 6 insaturations (PC 36:6, PC 40:6 et PC 38:6), la myristoyl-lysophosphatidylcholine (LPC 14:0), deux phosphatidyléthanolamines dont la PE 44 :12 (PE 22:6/22:6) et une plasményléthanolamine (PE-P 16:0/22:6), un phosphatidylinositol (PI 18:0/18:1), deux céramides (Cer 18:0 /22:0 et Cer 18:0/24:1) et deux monohexosylcéramides (Hex-Cer 16:1/20:0 et Hex-Cer 16:1/22:0) ainsi que 2

triglycérides (TG 16:0/34:0 et TG 18:0/32:0). A noter que ces deux triglycérides sont très probablement des isomères de position contenant chacun deux résidus palmitoyls (16:0/16:0) et un résidu oléyl (18:0).



**Figure 7** : VIP des métabolites selon leur corrélation avec l'UHDRS moteur (significatif si > 1)

**Tableau V** : Valeurs des VIP et loadings pour les métabolites les mieux corrélés à l'UHRS moteur

<b>Métabolites</b>	<b>Loading</b>	<b>VIP</b>
<b>PC 36:6</b>	-0,169613202	1,313818213
<b>PI 18:0_18:1</b>	-0,166155457	1,287034633
<b>TG 16:0_34:0</b>	-0,164888662	1,277222081
<b>Glutamine</b>	0,160226336	1,241107859
<b>PC 32:2</b>	-0,154488424	1,196662186
<b>PE.P 16:0_22:6</b>	-0,152217101	1,17916025
<b>PC 40:6</b>	-0,151177334	1,171014594
<b>LPC 14:0</b>	-0,150021555	1,162061967
<b>PC 38:6</b>	-0,148323621	1,148909828
<b>PE 44:12</b>	-0,141379055	1,095117452
<b>Hex.Cer d16:1_20:0</b>	-0,134609591	1,043294386
<b>PC.O 38:0</b>	-0,13463221	1,042856616
<b>PC 30:0</b>	-0,1337041	1,035667508
<b>Hex.Cer d16:1_22:0</b>	-0,132930395	1,029758261
<b>Cer d18:0_24:1</b>	-0,132483698	1,027429976
<b>Cer d18:0_22:0</b>	-0,131508084	1,018683052
<b>TG 18:0_32:0</b>	-0,130363814	1,00979376

# DISCUSSION ET CONCLUSION

## 1. Discussion des résultats

Les dernières études avaient davantage insisté sur des perturbations du cycle de Krebs, d'éléments de la chaîne respiratoire, ou de dérivés de la kynurénine intervenant dans la voie de la dopamine en usant notamment de modèles animaux. Comme dans notre étude, il a déjà été décrit des perturbations sur les phosphatidylcholines (PC) et lysophosphatidylcholines (LPC), qui étaient d'ailleurs majoritairement saturées ou monoinsaturés (66), ainsi que des diminutions d'esters de cholestérol à acides gras estérifiés monoinsaturés (77). Il a également été démontré, essentiellement sur des modèles animaux, une augmentation de la glutamine avec l'évolution de la pathologie, processus supposé commun à plusieurs maladies neurodégénératives (78). Les analyses de la lipidomique étaient cependant limitées avec les techniques utilisées, et la population d'étude ne concernait pas de façon spécifique des patients en début de maladie.

Notre étude a mis en évidence une signature lipidique encore non décrite à notre connaissance. En effet, les glycérophospholipides dont la tête polaire est faite d'éthanolamine n'avaient pas été mentionnés dans la littérature avec une longueur et un nombre d'insaturations aussi importants. Ceci pourrait s'expliquer par la couverture plus limitée des anciennes analyses ciblées n'incluant pas des lipides polyinsaturés à longue chaîne de cette classe. Les phosphatidyléthanolamines (PE) et leurs dérivés les lysophosphatidyléthanolamines (LPE), sont principalement retrouvées au niveau de la couche interne des membranes cellulaires, et au niveau de la couche externe des vésicules extracellulaires (79). Une déplétion en phosphatidyléthanolamine a déjà été mesurée sur des tissus port-mortem de patients atteints de la maladie de Huntington (80). Les acides gras à longue chaîne sont particulièrement présents au niveau du système nerveux central, et leur présence dans le plasma sous forme de PE et LPE pourrait signifier leur excrétion du cerveau sous forme de vésicules extracellulaires.

Les vésicules extracellulaires sont des ultrastructures particulières ayant plusieurs fonctions, notamment la transmission de molécules (vésicules synaptiques, ou exosomes), et la formation de

corps apoptotiques (apoptosomes) (81). Les vésicules extracellulaires ont été identifiées comme jouant un rôle important dans l'évolution de la maladie, où la huntingtine est retrouvée au sein de la matrice et de la membrane des vésicules extracellulaires dans le plasma (82). De plus il a été montré que la huntingtine mutée interagissait davantage avec des molécules de phosphatidylinositol et de phosphatidyléthanolamine comparé à la huntingtine sauvage sur des cellules de modèle murin muté (83). Les cellules neuronales ne produisant pas de lipoprotéines, et les acides gras observés étant présents essentiellement au niveau du tissu cérébral, il est plus probable que nos observations proviennent de ces vésicules extracellulaires pour les phosphatidyléthanolamines.

Nous avons retrouvé plus particulièrement des phospholipides contenant de l'acide docosahexaénoïque (DHA) caractérisé par une chaîne de 22 carbones avec 6 insaturations (C22:6), dont le cerveau est particulièrement pourvu (84), et dont la déplétion a déjà été prouvée dans le plasma de patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou de déficit cognitif modéré (85). Les phospholipides en contenant comme la PE 44:12 (PE 22:6/22:6) ou PE 44:11 (22:6/22:5), discriminant entre les stades présymptomatique et symptomatique débutant dans notre étude, peuvent être des biomarqueurs très intéressants pour anticiper l'entrée en phase symptomatique. Sur un plan biophysique il est établi que les phosphatidyléthanolamines contenant du DHA, a fortiori celles contenant deux résidus docosahexaénoyl comme la PE 44:12, privilégient une structure hexagonale plutôt qu'une structure en bicouche, changeant les propriétés de surface membranaire et favorisant la formation de vésicules extracellulaires (86).

Nous avons identifié d'autres phospholipides dont la concentration diminuait avec l'aggravation de la maladie contenant explicitement (PE P16:0/22:6) ou potentiellement (PC 36:6, PC 38:6 et PC 40:6) du DHA. À noter que parmi les variables qui sont aussi importantes pour le modèle PLS avec un VIP  $\geq$  0.8 on retrouve le DHA libre (FA 22:6), la PE 40:6, la PE P 18:0/22:6 et la PE P 18:1/22:6. Toutes ces molécules sont négativement corrélées avec l'UHRS moteur.

Le DHA peut également constituer une cible thérapeutique privilégiée. Il a en effet été démontré que l'utilisation de DHA ou d'acide eicosapentaénoïque (EPA) permet de modifier considérablement la dynamique des membranes cellulaires (87).

Des essais thérapeutiques ont déjà été réalisés avec l'EPA (C20:5) dans la maladie de Huntington. Un premier essai publié en 2005 n'avait pas réussi à démontrer d'efficacité en intention de traiter mais en per protocole à 1 an sur l'UHDRS (88). Il y a eu par la suite un double essai publié en 2008 par le comité Huntington Study Group dans le cadre de l'étude TREND-HD : l'un sur une population américaine qui a démontré l'efficacité de l'EPA sur l'UHDRS à 1 an mais sur un essai réalisé en ouvert ne permettant pas de conclure formellement (89), et l'autre sur une population européenne ne retrouvant pas d'efficacité de l'EPA sur l'UHDRS à 6 mois (90).

Au-delà d'un potentiel thérapeutique qui reste donc à démontrer, les phospholipides contenant des acides gras polyinsaturés à longue chaîne comme la PE 44:11 et PE 44:12, pourraient être des marqueurs intéressants pour aider à l'anticipation de l'arrivée en phase symptomatique, avec l'objectif global d'offrir la meilleure fenêtre thérapeutique dans le cadre d'un essai clinique.

Bien que la plupart des métabolites discriminants soient plus élevés chez les individus symptomatiques débutants par rapport aux présymptomatiques dans notre étude, c'est bien leur diminution qui est corrélée à l'UHDRS moteur, et qui est retrouvé à des stades plus avancés dans d'autres études (66). Dans ce sens, parmi les 53 métabolites avec un  $VIP \geq 0.8$  dans le modèle PLS nous retrouvons la LPC 16:1 et la PC 32:1 dont les concentrations diminuent avec l'augmentation de l'UHDRS moteur. Il faut noter qu'il existe très probablement un lien biochimique direct entre ces deux glycérophospholipides ( $PC\ 32:1 = LPC\ 16:1 + FA\ 16:0$ , réaction catalysée par la phospholipase A1). Cela suggère donc un switch physiopathologique dans la dynamique de l'excrétion de ces métabolites lipidiques, qui surviendrait durant la phase symptomatique débutante, potentiellement par épuisement de leur réserve dans l'organisme dont on peut supposer une origine en partie cérébrale au vu des études post-mortem (91).

## 2. Forces et limites de l'étude

Notre étude comporte des limites inhérentes à l'analyse transversale des données, ne permettant pas d'évaluer de façon simple l'évolution des métabolites d'un patient dans le temps. Cependant ce manque d'information longitudinal est contrebalancé par une technique de prélèvement sanguin systématique et précise (prélèvement à jeun, temps d'acheminement réduit), permettant une excellente comparaison des résultats entre les individus. Comparaison d'autant plus forte que les patients symptomatiques étaient tous considérés en phase débutante, donc avec une certaine homogénéité du groupe symptomatique sur le plan fonctionnel. De plus la réalisation de l'évaluation clinique et des tests neuropsychologiques étaient réalisés de façon rapprochée par rapport au prélèvement sanguin, permettant d'avoir une relation très fiable entre l'état clinique d'un patient et son état métabolique à un instant donné.

Il s'agit de patients suivis régulièrement au CHU d'Angers, dont le suivi longitudinal clinique est donc assuré, et pourra éventuellement mener à des études complémentaires pour affiner la corrélation entre l'évolution des métabolites et l'évolution des signes cliniques moteurs ou neuropsychologiques.

Il existe également une limite de disparité sur le sex ratio dans le groupe contrôle avec seulement 7 hommes pour 22 femmes, pouvant limiter l'objectivation de métabolites discriminant entre ce groupe et le groupe présymptomatique ou symptomatique, et ne nous permettant pas de répondre à cet objectif secondaire.

La taille relativement faible de la cohorte représente également une certaine limite, à modérer avec la prévalence de la maladie de Huntington dans la population générale, et les objectifs d'effectifs recommandés par la littérature pour la constitution d'essais cliniques avec l'UHDRS en critère de jugement principal (76), qui reste concordant avec les effectifs de notre étude.



### 3. Perspectives

Par rapport à ce qu'il a été énoncé, l'objectif d'identifier plus particulièrement la contenance en acides gras au sein des phospholipides significativement modifiées entre présymptomatiques et symptomatiques semble être une piste prometteuse pour confirmer les hypothèses générées par les résultats de notre étude. Cela permettrait d'affirmer plus concrètement les variations supposées du pool de DHA incorporés à certains phospholipides comme la PC 36:6, PE44:11 ou PE44:12. Une collaboration a d'ailleurs été engagée dans ce sens avec un laboratoire ayant mis au point une analyse fine des différentes espèces lipidiques présentes dans le plasma afin d'identifier la composition précise en acide gras de chaque phospholipide (92).

Une autre question essentielle subsiste quant à la nature de ces résultats dans le plasma. Nous ne pouvons effectivement pas affirmer avec certitude l'origine de leur production, le plasma sanguin recueillant globalement l'ensemble des métabolites produits par l'organisme. De ce fait, des études sur un tissu ayant des propriétés similaires aux neurones d'individus Huntington débutants et présymptomatiques serait une bonne source d'information de la provenance des métabolites que nous avons identifiés dans le plasma. Des études sur du tissu post-mortem ont déjà apporté des éléments de réponse (93,94), mais concernent des populations de patients Huntington naturellement bien plus avancées que dans notre étude. Pour s'approcher au mieux de la métabolomique de patients Huntington débutants, nous menons actuellement un projet sur des cultures cellulaires de striatum murin transfectées du gène HTT muté humain, ayant déjà été exploré dans le domaine de la métabolique (62,95). L'objectif de ces explorations sera d'identifier des métabolites similaires à ceux retrouvés dans le plasma humain. Cet objectif pourra être éventuellement complété par des résultats sur des cultures de cellules fibroblastiques provenant de patients Huntington débutants, secondairement différenciées en neurone du striatum (96). Dans le même objectif d'identification de la provenance des métabolites, par extrapolation au tissu cérébral quelques résultats proviennent d'études sur du LCS de patients Huntington (72,97). Mais ces études sont bien plus rares que celles concernant le plasma humain, et sont difficiles à mettre en place du fait de la disponibilité relativement moins aisée du LCS comparé au plasma ou fibroblastes de patients.

Enfin des études prospectives par le recueil de plusieurs prélèvements sanguins espacés dans le temps permettra de mieux caractériser l'évolution des métabolites dans les différentes phases de la maladie, avec des débuts de résultat intéressant sur une étude très récente (77), approche que nous tentons de développer également au CHU d'Angers.

De plus, nous envisageons une exploration de la dynamique des vésicules extracellulaires d'origine neuronale dans le plasma de patients Huntington aux différents stades de la maladie.

## 4. Conclusion

Cette étude a donc permis de retenir une vingtaine de métabolites lipidiques discriminant dans le passage de la forme présymptomatique à symptomatique débutant, dont certains n'étaient pas identifiés dans les explorations métabolomiques précédentes. Nous avons choisi la palmitoléyl lysophosphatidylcholine (LPC 16:1) comme un candidat biomarqueur séparant ces deux formes. L'étude a permis également dans ses objectifs secondaires d'identifier l'évolution de certains de ces métabolites dans la phase débutante de la maladie, notamment la PE 44:12 et d'autres glycérophospholipides enrichies en acide docosahexaénoïque (DHA). Nos résultats s'inscrivent donc plus largement dans la recherche mécanistique et de biomarqueurs dans la maladie de Huntington, en compléments des biomarqueurs déjà proposés, afin d'anticiper au mieux l'arrivée en phase symptomatique, et donc proposer une fenêtre thérapeutique optimale pour l'inclusion dans les essais cliniques.

## BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques numérotées dans l'ordre d'apparition dans le texte, selon le modèle correspondant à la revue visée, ou, à défaut, selon les règles de Vancouver.

1. Evans SJ, Douglas I, Rawlins MD, Wexler NS, Tabrizi SJ, Smeeth L. Prevalence of adult Huntington's disease in the UK based on diagnoses recorded in general practice records. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. oct 2013;84(10):1156-60.
2. Pringsheim T, Wiltshire K, Day L, Dykeman J, Steeves T, Jette N. The incidence and prevalence of Huntington's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. août 2012;27(9):1083-91.
3. Youssov K, Bachoud-Lévi A. Maladie de Huntington : aspects diagnostiques actuels et applications pratiques. Elsevier-Masson. 1 sept 2017;15(1):1-15.
4. Bakels HS, Roos RAC, Van Roon-Mom WMC, De Bot ST. Juvenile-Onset Huntington Disease Pathophysiology and Neurodevelopment: A Review. *Mov Disord*. janv 2022;37(1):16-24.
5. Volpi E, Terenzi F, Bagnoli S, Latorraca S, Nacmias B, Sorbi S, et al. Late-onset Huntington disease: An Italian cohort. *J Clin Neurosci*. avr 2021;86:58-63.
6. Rodrigues FB, Abreu D, Damásio J, Goncalves N, Correia-Guedes L, Coelho M, et al. Survival, Mortality, Causes and Places of Death in a European Huntington's Disease Prospective Cohort. *Mov Disord Clin Pract*. sept 2017;4(5):737-42.
7. Youssov K, Audureau E, Vandendriessche H, Morgado G, Layese R, Goizet C, et al. The burden of Huntington's disease: A prospective longitudinal study of patient/caregiver pairs. *Parkinsonism Relat Disord*. oct 2022;103:77-84.
8. Tabrizi SJ, Estevez-Fraga C, Van Roon-Mom WMC, Flower MD, Scahill RI, Wild EJ, et al. Potential disease-modifying therapies for Huntington's disease: lessons learned and future opportunities. *Lancet Neurol*. juill 2022;21(7):645-58.
9. Mahant N, McCusker EA, Byth K, Graham S, The Huntington Study Group. Huntington's disease: Clinical correlates of disability and progression. *Neurology*. 28 oct 2003;61(8):1085-92.
10. Rao AK, Muratori L, Louis ED, Moskowitz CB, Marder KS. Spectrum of gait impairments in presymptomatic and symptomatic Huntington's disease. *Mov Disord*. 15 juin 2008;23(8):1100-7.
11. Reilmann R, Bohlen S, Klopstock T, Bender A, Weindl A, Saemann P, et al. Grasping premanifest Huntington's disease – shaping new endpoints for new trials. *Mov Disord*. 15 déc 2010;25(16):2858-62.
12. Lasker AG, Zee DS. Ocular motor abnormalities in Huntington's disease. *Vision Res*. déc 1997;37(24):3639-45.
13. Martinez-Horta S, Perez-Perez J, Van Duijn E, Fernandez-Bobadilla R, Carceller M, Pagonabarraga J, et al. Neuropsychiatric symptoms are very common in

premanifest and early stage Huntington's Disease. *Parkinsonism Relat Disord.* avr 2016;25:58-64.

14. Rusz J, Saft C, Schlegel U, Hoffman R, Skodda S. Phonatory Dysfunction as a Preclinical Symptom of Huntington Disease. Gonzalez-Alegre P, éditeur. *PLoS ONE.* 19 nov 2014;9(11):e113412.
15. Aretouli E, Brandt J. Episodic Memory in Dementia: Characteristics of New Learning that Differentiate Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's Diseases. *Arch Clin Neuropsychol.* 1 août 2010;25(5):396-409.
16. Labuschagne I, Cassidy AM, Scahill RI, Johnson EB, Rees E, O'Regan A, et al. Visuospatial Processing Deficits Linked to Posterior Brain Regions in Premanifest and Early Stage Huntington's Disease. *J Int Neuropsychol Soc.* juill 2016;22(6):595-608.
17. Stout JC, Paulsen JS, Queller S, Solomon AC, Whitlock KB, Campbell JC, et al. Neurocognitive signs in prodromal Huntington disease. *Neuropsychology.* janv 2011;25(1):1-14.
18. Valadoux AS, Scherer C. La perception des émotions dans la maladie de Huntington : Une étude avec des stimuli statiques unimodaux et des stimuli dynamiques multimodaux chez des patients aux stades pré-symptomatique et symptomatique de la maladie. [Internet]. 2021. Disponible sur: <https://dune.univ-angers.fr/documents/dune14330>
19. Sprengelmeyer R, Young AW, Calder AJ, Karnat A, Lange H, Hömberg V, et al. Loss of disgust: Perception of faces and emotions in Huntington's disease. *Brain.* 1996;119(5):1647-65.
20. Van Duijn E, Craufurd D, Hubers AAM, Giltay EJ, Bonelli R, Rickards H, et al. Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* déc 2014;85(12):1411-8.
21. Reedeker N, Bouwens JA, Van Duijn E, Giltay EJ, Roos RAC, Van Der Mast RC. Incidence, Course, and Predictors of Apathy in Huntington's Disease: A Two-Year Prospective Study. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* janv 2011;23(4):434-41.
22. Fiedorowicz JG, Mills JA, Ruggle A, Langbehn D, Paulsen JS, PREDICT-HD Investigators of the Huntington Study Group. Suicidal Behavior in Prodromal Huntington Disease. *Neurodegener Dis.* 2011;8(6):483-90.
23. Dale M, Van Duijn E. Anxiety in Huntington's Disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* oct 2015;27(4):262-71.
24. Connors MH, Teixeira-Pinto A, Loy CT. Psychosis and longitudinal outcomes in Huntington disease: the COHORT Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* janv 2020;91(1):15-20.
25. Jaini A, Yomtoob J, Yeh C, Bega D. Understanding HD Psychosis: An Analysis from the ENROLL-HD Database. *Tremor Hyperkinetic Mov.* 7 juill 2020;10(1):16.
26. Bellosta Diago E, Pérez Pérez J, Santos Lasaosa S, Vilorio Alebesque A, Martínez Horta S, Kulisevsky J, et al. Circadian rhythm and autonomic dysfunction in

presymptomatic and early Huntington's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* nov 2017;44:95-100.

27. Aziz NA, Anguelova GV, Marinus J, Van Dijk JG, Roos RAC. Autonomic symptoms in patients and pre-manifest mutation carriers of Huntington's disease. *Eur J Neurol.* août 2010;17(8):1068-74.
28. Trejo A, Tarrats RM, Alonso MaE, Boll MC, Ochoa A, Velásquez L. Assessment of the nutrition status of patients with Huntington's disease. *Nutrition.* févr 2004;20(2):192-6.
29. Van Der Burg JM, Björkqvist M, Brundin P. Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol.* août 2009;8(8):765-74.
30. Unified Huntington's disease rating scale: Reliability and consistency. *Mov Disord.* mars 1996;11(2):136-42.
31. Mestre TA, Forjaz MJ, Mähknecht P, Cardoso F, Ferreira JJ, Reilmann R, et al. Rating Scales for Motor Symptoms and Signs in Huntington's Disease: Critique and Recommendations. *Mov Disord Clin Pract.* mars 2018;5(2):111-7.
32. Shoulson I. Huntington disease: Functional Capacities in patients treated with neuroleptic and antidepressant drugs. *Neurology.* oct 1981;31(10):1333-1333.
33. Reilmann R, Leavitt BR, Ross CA. Diagnostic criteria for Huntington's disease based on natural history. *Mov Disord.* 15 sept 2014;29(11):1335-41.
34. Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, Hayden MR, Kay C, Leavitt BR, et al. Huntington disease. *Nat Rev Dis Primer.* 23 avr 2015;1(1):15005.
35. Andrew SE, Paul Goldberg Y, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, et al. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet.* août 1993;4(4):398-403.
36. Macdonald M. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell.* mars 1993;72(6):971-83.
37. Bunting EL, Hamilton J, Tabrizi SJ. Polyglutamine diseases. *Curr Opin Neurobiol.* févr 2022;72:39-47.
38. Duyao M, Ambrose C, Myers R, Novelletto A, Persichetti F, Frontali M, et al. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat Genet.* août 1993;4(4):387-92.
39. Langbehn DR, Hayden MR, Paulsen JS, and the PREDICT-HD Investigators of the Huntington Study Group. CAG-repeat length and the age of onset in Huntington disease (HD): A review and validation study of statistical approaches. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* mars 2010;153B(2):397-408.
40. Wheeler VC, Persichetti F, McNeil SM, Mysore JS, Mysore SS, MacDonald ME, et al. Factors associated with HD CAG repeat instability in Huntington disease. *J Med Genet.* 23 août 2007;44(11):695-701.
41. Langbehn D, Brinkman R, Falush D, Paulsen J, Hayden M, on behalf of an International Huntington's Disease Collaborative Group. A new model for prediction

of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. Clin Genet. avr 2004;65(4):267-77.

42. Hong EP, MacDonald ME, Wheeler VC, Jones L, Holmans P, Orth M, et al. Huntington's Disease Pathogenesis: Two Sequential Components. Jones L, Pearson CE, Wheeler V, éditeurs. J Huntingt Dis. 9 févr 2021;10(1):35-51.
43. Wright GEB, Collins JA, Kay C, McDonald C, Dolzhenko E, Xia Q, et al. Length of Uninterrupted CAG, Independent of Polyglutamine Size, Results in Increased Somatic Instability, Hastening Onset of Huntington Disease. Am J Hum Genet. juin 2019;104(6):1116-26.
44. Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP. Neuropathological Classification of Huntington's Disease: J Neuropathol Exp Neurol. nov 1985;44(6):559-77.
45. Sonne J, Reddy V, Beato MR. Neuroanatomy, Substantia Nigra. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cité 26 mars 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536995/>
46. Koch ET, Raymond LA. Dysfunctional striatal dopamine signaling in Huntington's disease. J Neurosci Res. déc 2019;97(12):1636-54.
47. Björkqvist M, Wild EJ, Thiele J, Silvestroni A, Andre R, Lahiri N, et al. A novel pathogenic pathway of immune activation detectable before clinical onset in Huntington's disease. J Exp Med. 4 août 2008;205(8):1869-77.
48. Tabrizi SJ, Scahill RI, Durr A, Roos RA, Leavitt BR, Jones R, et al. Biological and clinical changes in premanifest and early stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: the 12-month longitudinal analysis. Lancet Neurol. janv 2011;10(1):31-42.
49. Paulsen JS, Langbehn DR, Stout JC, Aylward E, Ross CA, Nance M, et al. Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the Predict-HD study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1 août 2008;79(8):874-80.
50. Paulsen JS, Nopoulos PC, Aylward E, Ross CA, Johnson H, Magnotta VA, et al. Striatal and white matter predictors of estimated diagnosis for Huntington disease. Brain Res Bull. mai 2010;82(3-4):201-7.
51. Tabrizi SJ, Scahill RI, Owen G, Durr A, Leavitt BR, Roos RA, et al. Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. Lancet Neurol. juill 2013;12(7):637-49.
52. Feigin A, Tang C, Ma Y, Mattis P, Zgaljardic D, Guttman M, et al. Thalamic metabolism and symptom onset in preclinical Huntington's disease. Brain. 5 avr 2007;130(11):2858-67.
53. Pavese N, Andrews TC, Brooks DJ, Ho AK, Rosser AE, Barker RA, et al. Progressive striatal and cortical dopamine receptor dysfunction in Huntington's disease: a PET study. Brain. 1 mai 2003;126(5):1127-35.

54. Pavese N, Politis M, Tai YF, Barker RA, Tabrizi SJ, Mason SL, et al. Cortical dopamine dysfunction in symptomatic and premanifest Huntington's disease gene carriers. *Neurobiol Dis.* févr 2010;37(2):356-61.
55. Niccolini F, Haider S, Reis Marques T, Muhlert N, Tziortzi AC, Searle GE, et al. Altered PDE10A expression detectable early before symptomatic onset in Huntington's disease. *Brain.* oct 2015;138(10):3016-29.
56. Wild EJ, Boggio R, Langbehn D, Robertson N, Haider S, Miller JRC, et al. Quantification of mutant huntingtin protein in cerebrospinal fluid from Huntington's disease patients. *J Clin Invest.* 1 mai 2015;125(5):1979-86.
57. Byrne LM, Rodrigues FB, Johnson EB, Wijeratne PA, De Vita E, Alexander DC, et al. Evaluation of mutant huntingtin and neurofilament proteins as potential markers in Huntington's disease. *Sci Transl Med.* 12 sept 2018;10(458):eaat7108.
58. Wishart DS, Guo A, Oler E, Wang F, Anjum A, Peters H, et al. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. *Nucleic Acids Res.* 7 janv 2022;50(D1):D622-31.
59. Gika HG, Theodoridis GA, Plumb RS, Wilson ID. Current practice of liquid chromatography-mass spectrometry in metabolomics and metabonomics. *J Pharm Biomed Anal.* janv 2014;87:12-25.
60. Underwood BR, Broadhurst D, Dunn WB, Ellis DI, Michell AW, Vacher C, et al. Huntington disease patients and transgenic mice have similar pro-catabolic serum metabolite profiles. *Brain.* 1 avr 2006;129(4):877-86.
61. Ferreira IL, Cunha-Oliveira T, Nascimento MV, Ribeiro M, Proença MT, Januário C, et al. Bioenergetic dysfunction in Huntington's disease human cybrids. *Exp Neurol.* sept 2011;231(1):127-34.
62. Ismailoglu I, Chen Q, Popowski M, Yang L, Gross SS, Brivanlou AH. Huntingtin protein is essential for mitochondrial metabolism, bioenergetics and structure in murine embryonic stem cells. *Dev Biol.* juill 2014;391(2):230-40.
63. Nicoli F, Vion-Dury J, Maloteaux JM, Delwaide C, Confort-Gouny S, Sciaky M, et al. CSF and serum metabolic profile of patients with Huntington's chorea: A study by high resolution proton NMR spectroscopy and HPLC. *Neurosci Lett.* mai 1993;154(1-2):47-51.
64. Pont L, Benavente F, Jaumot J, Tauler R, Alberch J, Ginés S, et al. Metabolic profiling for the identification of Huntington biomarkers by on-line solid-phase extraction capillary electrophoresis mass spectrometry combined with advanced data analysis tools: CE and CES. *ELECTROPHORESIS.* mars 2016;37(5-6):795-808.
65. Hashimoto M, Watanabe K, Miyoshi K, Koyanagi Y, Tadano J, Miyawaki I. Multiplatform metabolomic analysis of the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *FEBS Open Bio.* oct 2021;11(10):2807-18.
66. Mastrokolas A, Pool R, Mina E, Hettne KM, Van Duijn E, Van Der Mast RC, et al. Integration of targeted metabolomics and transcriptomics identifies deregulation of

phosphatidylcholine metabolism in Huntington's disease peripheral blood samples. *Metabolomics*. 2016;12(8):137.

67. Cheng ML, Chang KH, Wu YR, Chen CM. Metabolic disturbances in plasma as biomarkers for Huntington's disease. *J Nutr Biochem*. mai 2016;31:38-44.
68. Leoni V, Mariotti C, Tabrizi SJ, Valenza M, Wild EJ, Henley SMD, et al. Plasma 24S-hydroxycholesterol and caudate MRI in pre-manifest and early Huntington's disease. *Brain*. nov 2008;131(11):2851-9.
69. Leoni V, Mariotti C, Nanetti L, Salvatore E, Squitieri F, Bentivoglio AR, et al. Whole body cholesterol metabolism is impaired in Huntington's disease. *Neurosci Lett*. mai 2011;494(3):245-9.
70. Skene DJ, Middleton B, Fraser CK, Pennings JLA, Kuchel TR, Rudiger SR, et al. Metabolic profiling of presymptomatic Huntington's disease sheep reveals novel biomarkers. *Sci Rep*. 22 févr 2017;7(1):43030.
71. Rodrigues FB, Byrne LM, Lowe AJ, Tortelli R, Heins M, Flik G, et al. Kynurenine pathway metabolites in cerebrospinal fluid and blood as potential biomarkers in Huntington's disease. *J Neurochem*. juill 2021;158(2):539-53.
72. McGarry A, Gaughan J, Hackmyer C, Lovett J, Khadeer M, Shaikh H, et al. Cross-sectional analysis of plasma and CSF metabolomic markers in Huntington's disease for participants of varying functional disability: a pilot study. *Sci Rep*. 24 nov 2020;10(1):20490.
73. Mochel F, Charles P, Seguin F, Barritault J, Coussieu C, Perin L, et al. Early Energy Deficit in Huntington Disease: Identification of a Plasma Biomarker Traceable during Disease Progression. *Mueller U, éditeur. PLoS ONE*. 25 juill 2007;2(7):e647.
74. Pradhan SS, Thota SM, Rajaratnam S, Bhagavatham SKS, Pulukool SK, Rathnakumar S, et al. Integrated multi-omics analysis of Huntington disease identifies pathways that modulate protein aggregation. *Dis Model Mech*. 1 oct 2022;15(10):dmm049492.
75. Nambron R, Silajdžić E, Kalliolia E, Ottolenghi C, Hindmarsh P, Hill NR, et al. A Metabolic Study of Huntington's Disease. *Eckel J, éditeur. PLOS ONE*. 8 janv 2016;11(1):e0146480.
76. Salem L, Saleh N, Youssov K, Olivier A, Charles P, Scherer C, et al. The most appropriate primary outcomes to design clinical trials on Huntington's disease: meta-analyses of cohort studies and randomized placebo-controlled trials. *Fundam Clin Pharmacol*. déc 2014;28(6):700-10.
77. McGarry A, Hunter K, Gaughan J, Auinger P, Ferraro TN, Pradhan B, et al. An exploratory metabolomic comparison of participants with fast or absent functional progression from 2CARE, a randomized, double-blind clinical trial in Huntington's disease. *Sci Rep*. 11 janv 2024;14(1):1101.
78. Andersen JV, Markussen KH, Jakobsen E, Schousboe A, Waagepetersen HS, Rosenberg PA, et al. Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration. *Neuropharmacology*. sept 2021;196:108719.



79. Rai A, Huynh K, Poh QH, Fang H, Claridge B, Cross J, et al. Multi-omics discovery of hallmark protein and lipid features of circulating small extracellular vesicles in humans [Internet]. 2024 [cité 30 avr 2024]. Disponible sur: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.03.16.585131>
80. Ellison DW, Beal MF, Martin JB. Phosphoethanolamine and ethanolamine are decreased in Alzheimer's disease and Huntington's disease. *Brain Res.* août 1987;417(2):389-92.
81. Cano A, Ettcheto M, Bernuz M, Puerta R, Esteban De Antonio E, Sánchez-López E, et al. Extracellular vesicles, the emerging mirrors of brain physiopathology. *Int J Biol Sci.* 2023;19(3):721-43.
82. DiFiglia M, Sapp E, Chase K, Schwarz C, Meloni A, Young C, et al. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron.* mai 1995;14(5):1075-81.
83. Kegel KB, Sapp E, Alexander J, Valencia A, Reeves P, Li X, et al. Polyglutamine expansion in huntingtin alters its interaction with phospholipids. *J Neurochem.* sept 2009;110(5):1585-97.
84. Mitchell RW, Hatch GM. Fatty acid transport into the brain: Of fatty acid fables and lipid tails. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids PLEFA.* nov 2011;85(5):293-302.
85. Conquer JA, Tierney MC, Zecevic J, Bettger WJ, Fisher RH. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids.* déc 2000;35(12):1305-12.
86. Stipanuk MH, éditeur. *Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition.* 3. ed. St. Louis, Mo: Elsevier; 2013. 948 p.
87. Onuki Y, Morishita M, Chiba Y, Tokiwa S, Takayama K. Docosahexaenoic Acid and Eicosapentaenoic Acid Induce Changes in the Physical Properties of a Lipid Bilayer Model Membrane. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2006;54(1):68-71.
88. Puri BK, Leavitt BR, Hayden MR, Ross CA, Rosenblatt A, Greenamyre JT, et al. Ethyl-EPA in Huntington disease: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Neurology.* 26 juill 2005;65(2):286-92.
89. Randomized Controlled Trial of Ethyl-Eicosapentaenoic Acid in Huntington Disease: The TREND-HD Study. *Arch Neurol* [Internet]. 1 déc 2008 [cité 25 avr 2024];65(12). Disponible sur: <http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archneur.65.12.1582>
90. Ferreira JJ, Rosser A, Craufurd D, Squitieri F, Mallard N, Landwehrmeyer B. Ethyl-eicosapentaenoic acid treatment in Huntington's disease: A placebo-controlled clinical trial. *Mov Disord.* sept 2015;30(10):1426-9.
91. Hunter M, Demarais NJ, Faull RLM, Grey AC, Curtis MA. An imaging mass spectrometry atlas of lipids in the human neurologically normal and Huntington's disease caudate nucleus. *J Neurochem.* juin 2021;157(6):2158-72.
92. Decaix T, Magny R, Gouin-Thibaut I, Delavenne X, Mismetti P, Salem J, et al. Plasma lipidomic analysis to investigate putative biomarkers of P-glycoprotein activity in healthy volunteers. *Clin Transl Sci.* oct 2023;16(10):1935-46.

93. Browne SE, Bowling AC, Macgarvey U, Baik MJ, Berger SC, Muquit MMK, et al. Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease: Selective vulnerability of the basal ganglia. *Ann Neurol.* mai 1997;41(5):646-53.
94. Patassini S, Begley P, Xu J, Church SJ, Reid SJ, Kim EH, et al. Metabolite mapping reveals severe widespread perturbation of multiple metabolic processes in Huntington's disease human brain. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* sept 2016;1862(9):1650-62.
95. Kumar KK, Goodwin CR, Uhouse MA, Bornhorst J, Schwerdtle T, Aschner M, et al. Untargeted metabolic profiling identifies interactions between Huntington's disease and neuronal manganese status. *Metallomics.* 2015;7(2):363-70.
96. Victor MB, Richner M, Olsen HE, Lee SW, Monteys AM, Ma C, et al. Striatal neurons directly converted from Huntington's disease patient fibroblasts recapitulate age-associated disease phenotypes. *Nat Neurosci.* mars 2018;21(3):341-52.
97. Herman S, Niemelä V, Emami Khoonsari P, Sundblom J, Burman J, Landtblom AM, et al. Alterations in the tyrosine and phenylalanine pathways revealed by biochemical profiling in cerebrospinal fluid of Huntington's disease subjects. *Sci Rep.* 11 mars 2019;9(1):4129.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Histoire clinique des phases de la maladie de Huntington selon Reilmann (33,34) .....	7
<b>Figure 2</b> : Schéma simplifié d'un spectromètre de masse à triple quadripôles .....	14
<b>Figure 3</b> : Diagramme de flux à l'inclusion.....	26
<b>Figure 4</b> : PCA pour le kit 1 (A) et le kit 2 (B). PC : composante principale .....	30
<b>Figure 5</b> : Histogramme de l'AUC de la regression logistique incluant LPC 16:1 ou PC 32:1 .....	33
<b>Figure 6</b> : Graphique représentant le score UHDRS moteur (abscisses) et l'approche de ce score par le modèle PLS (ordonnées) contenant 60 métabolites chez tous les symptomatiques .....	34
<b>Figure 7</b> : VIP des métabolites selon leur corrélation avec l'UHDRS moteur (significatif si $> 1$ ) .....	35

## LISTE DES TABLEAUX

<b><u>Tableau I</u></b> : Caractéristiques générales de la population .....	28
<b><u>Tableau II</u></b> : Caractéristiques génétiques et cliniques de la population .....	29
<b><u>Tableau III</u></b> : Moyenne ( $\mu\text{mol/L}$ ) des métabolites significativement modifiés .....	31
<b><u>Tableau IV</u></b> : Moyennes des sommes ( $\mu\text{mol/L}$ ) et ratios significativement modifiés entre présymptomatiques et symptomatiques en ANOVA.....	32
<b><u>Tableau V</u></b> : Valeurs des VIP et loadings pour les métabolites les mieux corrélés à l'UHDRS moteur. .....	36

# TABLE DES MATIERES

<b>RESUME</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>2</b>
<b>1. La maladie de Huntington</b>	<b>2</b>
1.1. Généralités	2
1.2. Description clinique	3
1.2.1. Signes moteurs	3
1.2.2. Signes neurocognitifs	4
1.2.3. Signes psychiatriques	4
1.2.4. Autres signes neuronaux	5
1.2.5. Signes extra-neuronaux	5
1.2.6. Stades d'évolution clinique	6
1.3. Aspects génétiques	7
1.4. Aspects physiopathologiques	9
1.5. La quête de biomarqueurs	10
1.5.1. Clinique	10
1.5.2. Imagerie	10
1.5.3. Biologie	11
<b>2. L'approche métabolomique</b>	<b>12</b>
2.1. La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie	12
2.2. Métabolomique et maladie de Huntington : état de l'art	14
2.2.1. Métabolisme glucidique	14
2.2.2. Métabolisme lipidique	15
2.2.3. Métabolisme protéique	15
<b>3. Objectifs de l'étude</b>	<b>17</b>
<b>MÉTHODES</b>	<b>18</b>
<b>1. Données démographiques</b>	<b>18</b>
<b>2. Prélèvement et conservation des échantillons</b>	<b>19</b>
<b>3. Analyse des échantillons</b>	<b>20</b>
<b>4. Statistiques</b>	<b>22</b>
4.1. Analyses des données démographiques	22
4.2. Analyse des données métabolomiques	22
4.3. Critères de jugement	24
<b>5. Ethique</b>	<b>25</b>
<b>RÉSULTATS</b>	<b>26</b>
<b>1. Caractéristiques de la population</b>	<b>26</b>
<b>2. Analyses métabolomiques</b>	<b>30</b>
2.1. Analyse en composantes principales	30
2.2. Métabolites discriminants entre les 3 groupes	30
2.3. Séparation entre groupes présymptomatique et symptomatique par un modèle de régression logistique	33
2.4. Corrélation entre métabolites et UHDRS moteur dans le groupe symptomatique	34
<b>DISCUSSION ET CONCLUSION</b>	<b>37</b>
<b>1. Discussion des résultats</b>	<b>37</b>
<b>2. Forces et limites de l'étude</b>	<b>40</b>
<b>3. Perspectives</b>	<b>41</b>

<b>4. Conclusion .....</b>	<b>42</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>43</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>51</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>52</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>53</b>
<b>ANNEXE 1 : UHDRS MOTEUR (TMS) .....</b>	<b>I</b>
<b>ANNEXE 2 : CFT .....</b>	<b>II</b>

# ANNEXE 1 : UHDRS MOTEUR (TMS)

## UHDRS Moteur

- |  |                          |                          |  |                          |                          |
|--|--------------------------|--------------------------|--|--------------------------|--------------------------|
|  | Horizontal               | Vertical                 |  | Droite                   | Gauche                   |
| <b>1. Poursuite oculaire</b>                                 | 1a. <input type="text"/> | 1b. <input type="text"/> | <b>6. Opposition pouce-index</b>   | 6a. <input type="text"/> | 6b. <input type="text"/> |
| 0 = normale (complète)                                       |                          |                          | 0 = normal (> ou = 15/5 secondes)  |                          |                          |
| 1 = saccadée   |                          |                          | 1 = petit ralentissement (11 à 14/5 secondes) ou légère réduction d'amplitude                                  |                          |                          |
| 2 = poursuites interrompues mais complètes                   |                          |                          | 2 = 7 à 10/5 secondes. Atteinte nette. Fatigue certaine et précoce. Pausés éventuelles au cours du mouvement   |                          |                          |
| 3 = amplitude incomplète                                     |                          |                          | 3 = Atteinte sévère, fréquentes hésitations à l'initiation ou pauses en cours de mouvements (3 à 6/5 secondes) |                          |                          |
| 4 = poursuite impossible                                     |                          |                          | 4 = peut à peine faire le mouvement (0 à 2/5 secondes)   |                          |                          |
| <b>2. Début de saccade</b>                                   | 2a. <input type="text"/> | 2b. <input type="text"/> | <b>7. Prono-supination</b>   | 7a. <input type="text"/> | 7b. <input type="text"/> |
| 0 = normal   |                          |                          | 0 = normal   |                          |                          |
| 1 = latence augmentée (isolée)                               |                          |                          | 1 = léger ralentissement et/ou irrégularité  |                          |                          |
| 2 = mouvements de la tête ou clignements répressibles        |                          |                          | 2 = ralentissement et/ou irrégularité nets   |                          |                          |
| 3 = mouvements de la tête ou clignements irrépressibles      |                          |                          | 3 = ralentissement et/ou irrégularité sévères  |                          |                          |
| 4 = initiation de saccade impossible                         |                          |                          | 4 = impossible   |                          |                          |
| <b>3. Vitesse de saccade</b>                                 | 3a. <input type="text"/> | 3b. <input type="text"/> | <b>8. Luria (poing-tranche-paume)</b>  |                          | 8. <input type="text"/>  |
| 0 = normal   |                          |                          | 0 = > ou = 4/10 secondes sans indice verbal  |                          |                          |
| 1 = léger ralentissement                                     |                          |                          | 1 = < 4/10 secondes sans indice verbal   |                          |                          |
| 2 = ralentissement net                                       |                          |                          | 2 = > ou = 4/10 secondes avec indice verbal  |                          |                          |
| 3 = fort ralentissement, saccade complète                    |                          |                          | 3 = < 4/10 secondes avec indice verbal   |                          |                          |
| 4 = saccade incomplète                                       |                          |                          | 4 = impossible   |                          |                          |
| <b>4. Dysarthrie</b>   | 4. <input type="text"/>  |                          | <b>9. Rigidité des bras</b>  | 9a. <input type="text"/> | 9b. <input type="text"/> |
| 0 = normal   |                          |                          | 0 = absente  |                          |                          |
| 1 = discutable, non nécessaire de faire répéter              |                          |                          | 1 = légère ou présente seulement lors de l'activation  |                          |                          |
| 2 = nécessité de faire répéter pour comprendre               |                          |                          | 2 = légère à modérée   |                          |                          |
| 3 = quasiment incompréhensible                               |                          |                          | 3 = sévère, constante au cours du mouvement  |                          |                          |
| 4 = anarthrie  |                          |                          | 4 = sévère et limitation du mouvement  |                          |                          |
| <b>5. Protrusion de la langue</b>                            | 5. <input type="text"/>  |                          | <b>10. Bradykinésie</b>  |                          | 10. <input type="text"/> |
| 0 = peut tenir la langue complètement protruse pendant 10 s  |                          |                          | 0 = normal   |                          |                          |
| 1 = peut tenir la langue complètement protruse moins de 10 s |                          |                          | 1 = peut-être normal, discrètement ralenti   |                          |                          |
| 2 = peut tenir la langue complètement protruse moins de 5 s  |                          |                          | 2 = légèrement mais clairement ralenti   |                          |                          |
| 3 = ne peut pas sortir la langue complètement                |                          |                          | 3 = nettement ralenti, quelques hésitations  |                          |                          |
| 4 = ne peut pas passer la langue au-delà des lèvres          |                          |                          | 4 = très lents, longs retards à l'initiation des mouvements  |                          |                          |

**11. Dystonie maximale**

- 0 = absente  
 1 = intermittente/légère  
 2 = intermittente/nette, ou habituellement présente/légère  
 3 = habituellement présente  
 4 = permanente/sévère

11a. Tronc	<input type="text"/>
11b. Bras droit	<input type="text"/>
11c. Bras gauche	<input type="text"/>
11d. Jambe droite	<input type="text"/>
11e. Jambe gauche	<input type="text"/>

**12. Chorée maximale**

- 0 = absente  
 1 = intermittente/légère  
 2 = intermittente/nette, ou habituellement présente/légère  
 3 = habituellement présente  
 4 = permanente/sévère

12a. Face	<input type="text"/>
12b. bucco-oro-lingual	<input type="text"/>
12c. Tronc	<input type="text"/>
12d. Bras droit	<input type="text"/>
12e. Bras gauche	<input type="text"/>
12f. Jambe droite	<input type="text"/>
12g. Jambe gauche	<input type="text"/>

**13. Marche**13. 

- 0 = normale  
 1 = lente, polygone de sustentation élargi  
 2 = polygone de sustentation élargi et difficulté à marcher  
 3 = ne marche qu'avec une aide  
 4 = ne peut pas marcher

**14. Marche en tandem**14. 

- 0 = normale sur 10 pas  
 1 = 1 à 3 déviations de la ligne  
 2 = > 3 déviations  
 3 = ne peut pas terminer l'épreuve  
 4 = ne peut pas l'entreprendre

**15. Rétropulsion**15. 

- 0 = normal  
 1 = anormal mais se récupère de lui-même  
 2 = tomberait si on ne le retenait pas  
 3 = a tendance à tomber spontanément  
 4 = ne peut pas tenir debout

**16. Degré de confiance du diagnostic**16. 

Quel est votre degré de certitude sur la présence d'un désordre extrapyramidal sans autre cause évidente que la MH chez ce patient ?

- 0 = PAS de désordre  
 1 = anomalies motrices non-spécifiques (< 50 % de certitude)  
 2 = anomalies motrices qui pourraient être des signes de MH (50 < - < 89 % de certitude)  
 3 = anomalies motrices probablement associées à la MH (90 < - < 98 % de certitude)  
 4 = anomalies motrices liées à la MH (> ou = 99 % de certitude)

**SCORE MOTEUR = | \_ | \_ | \_ | / 124**



## ANNEXE 2 : CFT

### ECHELLE DE CAPACITE FONCTIONNELLE TOTALE (CFT)

#### 1. Travail

- 0 = incapable
- 1 = uniquement marginal
- 2 = capacité diminuée mais dans le travail habituel
- 3 = capacité normale

#### 2. Gestion des finances

- 0 = incapable
- 1 = assistance majeure
- 2 = assistance légère
- 3 = capacité normale

#### 3. Tâches domestiques

(faire la lessive, mettre le table, cuisiner...)

- 0 = incapable
- 1 = difficile
- 2 = capacité normale

#### 4. Activités de vie quotidiennes (manger, s'habiller, se laver)

- 0 = aide pour tout
- 1 = aide pour certaines tâches
- 2 = altération minimale
- 3 = capacité normale

#### 5. Environnement requis

- 0 = nursing continu
- 1 = domicile ou structure de soins chroniques
- 2 = à domicile

#### Sources d'information

Ces capacités fonctionnelles ont été établies à partir d'informations données par :

- 1 = le patient seul
- 2 = le patient et sa famille

**SCORE CFT = | \_ | \_ | / 13**

**METABO-HD : Approche métabolomique ciblée dans la maladie de Huntington chez des sujets présymptomatiques et symptomatiques débutants****RÉSUMÉ**

**Introduction** : La maladie de Huntington (MH) est une maladie génétique neurodégénérative touchant 1 personne sur 10 000 en Europe de l'Ouest. Elle est causée par une expansion de triplets CAG dans le gène HTT, entraînant un dysfonctionnement de la protéine huntingtine, et à terme une neurodégénérescence. À ce jour, il n'existe pas de traitement efficace pour ralentir la progression de la maladie. Les répétitions CAG ne peuvent expliquer qu'environ 50 à 70 % de l'apparition des symptômes moteurs. Des biomarqueurs sont donc en cours de développement pour anticiper la transition entre stade présymptomatique et symptomatique débutant. Ces biomarqueurs permettront une classification plus détaillée de la MH avant l'inclusion dans les essais cliniques.

**Méthodes** : 34 symptomatiques débutants (UHDRS > 5, CFT > 10), 31 présymptomatiques (UHDRS < 5, CFT = 13), et 29 témoins (MMS > 27 et pas de mouvement anormal) ont participé à cette étude portée par le CHU d'Angers (France) entre 2017 et 2023. Une analyse métabolomique ciblée d'échantillons de plasma à jeun a été réalisée avec la technologie Biocrates MxP 500 XL destinée à quantifier jusqu'à 1019 métabolites.

**Résultats** : 21 lipides étaient discriminants entre les sujets présymptomatiques et symptomatiques débutants dont 4 esters de cholestérol (CE), 3 lysophosphatidylcholines (LPC), 2 phosphatidylcholines (PC), 3 lysophosphatidyléthanamines (LPE), 3 phosphatidyléthanamines (PE), 4 phosphatidylinositol (PI), 2 phosphatidylsérines (PS). À l'exception de trois espèces de PI, les 18 autres étaient relativement augmentées chez les symptomatiques débutants. La régression logistique a montré que LPC 16:1 était le métabolite le plus discriminant entre présymptomatique et symptomatique débutant (AUROC médian > 80 %). En outre, de nombreuses molécules lipidiques contenant de l'acide docosahexaénoïque (DHA ou 22:6) présentaient une corrélation négative avec l'UHDRS.

**Conclusion** : La transition de la phase présymptomatique à la phase symptomatique s'accompagne d'une augmentation de certains lipides. LPC 16:1 et PC 32:1 sont proposés comme biomarqueurs de cette transition. La diminution de la concentration des lipides contenant du DHA, en particulier PE 44:12, est corrélée à l'UHDRS moteur. La variation de production ou composition des vésicules extracellulaires neuronales est proposé comme mécanisme sous-jacent à cette signature métabolomique.

**Mots clés** : maladie de Huntington, métabolomique, phospholipides, DHA

**METABO-HD : Targeted metabolomics in Huntington's disease for premanifest and early manifest subjects****ABSTRACT**

**Introduction** : Huntington disease (HD) is a genetic neurodegenerative disorder touching 1 on 10 000 persons in Western Europe, and evenly affecting young men and women. Caused by expanded CAG repeats in HTT gene, it leads to a dysfunctional huntingtin protein and eventually to neuronal death. Up to date, there is no efficient treatment to slow down HD progression. CAG repeats can explain only around 50-70% of motor clinical onset. Biomarkers are therefore on active development to anticipate transition between premanifest and early manifest. Such biomarkers will allow a more detailed classification of HD before inclusion in clinical trials, and uncover potential new therapeutic targets.

**Methods** : 34 early manifest (UHDRS > 5, CFT > 10), 31 premanifest (UHDRS < 5, CFT = 13), and 29 controls (MMS > 27 and no abnormal movement) participated in this study carried by the University Hospital of Angers (France) between 2017 and 2023. Targeted metabolomic analysis of fasting plasma samples was carried using Biocrates MxP 500 XL technology intended to quantify up to 1019 metabolites.

**Results** : 21 lipids including 4 cholesteryl esters (CE), 3 lysophosphatidylcholines (LPC), 2 phosphatidylcholines (PC), 3 lysophosphatidylethanamines (LPE), 3 phosphatidylethanamines (PE), 4 phosphatidylinositol (PI), 2 phosphatidylserines (PS), were retained as discriminating between premanifest and early manifest subjects after correction for risk I inflation (FDR < 5%). Except for three phosphatidylinositol species, the remaining 18 were found relatively increased in early manifest. Logistic regression using a cross-validation strategy showed that LPC 16:1 was the best discriminant metabolite between premanifest and early manifest (median AUROC > 80%). Further, many lipid molecules containing or probably containing docosahexaenoic acid (DHA or 22:6) negatively correlated with motor UHDRS.

**Conclusion** : The transition from premanifest to manifest phase is accompanied by an increase in some lipid species. LPC 16:1 and PC 32:1 are proposed as biomarkers of this transition. Decrease in the concentration of DHA containing lipids, especially PE 44:12, parallels clinical evolution. Variations on neuronal-derived extracellular vesicles release following the progression of the disease is proposed as a mechanism underlying the metabolomic signature.

**Keywords** : Huntington's disease, metabolomic, phospholipids, DHA



**FACULTÉ  
DE SANTÉ**

UNIVERSITÉ D'ANGERS