UNIVERSITÉ DE LORRAINE | BIBLIOTHÈQUES UNIVERSITAIRES

AVERTISSEMENT
DROIT D'AUTEUR

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document. Toute contrefaçon, plagiat ou reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
34 COURS LÉOPOLD — CS 25233
54052 NANCY CEDEX
WWW.UNIV-LORRAINE.FR

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Sciences de la Vie et de la Santé

par **Elise POURIÉ**

Sous la direction du Pr Mathilde Renaud

Conséquences d'une altération du métabolisme des monocarbones sur la physiopathologie de la maladie de Huntington

Le 30 avril 2025

Membres du jury :

Rapporteurs : Sandrine BETUING : Professeure des Universités - Sorbonne Université UMR 8265-NeuroSU

Régis GUIEU : Professeur des Universités – Praticien Hospitalier – Hôpital de la Timone de Marseille

Présidente : Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUÉANT : Professeure des Universités – Praticienne Hospitalière – CHRU de Nancy – NGERE-UMRS 1256

Examinateurs : Patrick ANGLARD : Directeur de recherche LNCA - UMR 7364 CNRS

Mathilde RENAUD : Professeure des Universités – Praticienne Hospitalière – CHRU de Nancy - INSERM – NGERE – UMRS 1256

REMERCIEMENTS

A Madame Mathilde Renaud, ma directrice de thèse.
Merci d'avoir monté ce projet ambitieux de thèse avec ma mère. Merci pour ton soutien, ton optimisme et ta bonne humeur à toute épreuve. Félicitations, tu as réussi à supporter la relation mère-fille/directrice de thèse-thésard et nous savons toutes les trois que ça n'a pas été toujours facile (voire jamais). Nous avons eu pas mal de soucis inhérents à la recherche et malgré ça tu n'as jamais douté. Merci énormément pour ton expertise sur le domaine clinique notamment et ton investissement. J'ai été ravie de participer à ton HDR et à l'obtention de ton concours (félicitations encore, Professeure Renaud). La thèse n'aurait pas été la même sans toi, aussi bien sur le plan personnel que professionnel.

A Madame Sandrine Betuing et Monsieur Régis Guieu, rapportrices de ce travail.
Merci de me faire l'honneur d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et plus particulièrement en tant que rapportrices. J'ai eu le plaisir de vous rencontrer dans le contexte d'un congrès international EHDN-Enroll à Strasbourg lors duquel nous avons pu commencer à échanger sur mes travaux et je vous remercie de l'expertise que vous m'avez déjà apportée à ce moment-là.

A Messieurs Cyril Goizet et Patrick Anglarad, examinateurs et membres du comité de suivi de thèse.
Je vous remercie d'avoir accepté et pris le temps de faire partie de mon comité de suivi de thèse, ainsi que pour vos précieux conseils.

A Madame Rosa-Maria Rodriguez-Guéant, examinatrice de ce travail.
Je vous remercie de votre expertise sur notre projet notamment par rapport au NGS des patients, votre accompagnement lors des congrès ainsi que votre soutien au laboratoire.

A Monsieur Jean-Louis Guéant.
Merci pour votre accompagnement tout au long de ma thèse, depuis les répétitions du concours de l'école doctorale (qui ont dû se faire en moins de trois jours) jusqu'à la possibilité de participer à deux congrès internationaux au cours desquels j'ai pu présenter mes travaux de recherche. Merci pour l'accompagnement, le soutien et, je dirais même, pour la promotion que vous avez faite aussi bien de mes travaux que de mon CV auprès d'experts du sujet lors de ces congrès.

A Jean-Marc, ingénieur d'études et maître référent du laboratoire.
Je tenais à t'exprimer ma gratitude pour ton aide et pour toutes les fois où tu as littéralement sauvé mes manips. Merci également pour ton expertise notamment sur le métabolisme des monocarbones.

Merci à **Amélia**, **Rémi** et **Okan** pour leur patience ainsi que leur soutien émotionnel et technique, qui m'a permis de présenter autant de résultats dans cette thèse.
Merci à **Aurélie** et aux « **MICI girls** » pour le support émotionnel (carrément le soutien psy disons-le clairement) et félicitations pour avoir réussi à me supporter tous les jours pendant trois ans. Merci pour les discussions lunaires, les rire et parfois, il faut le dire, les pleurs et les cris (et n'oublions pas les Midi-Burger aka team grosse bouffe). Remerciement spécial à **Djésia** qui, malgré elle, a joué un rôle de grande sœur à la perfection. Tu as su me mettre un coup de pied au cul quand je le méritais (souvent) et me tenir la main quand j'en avais besoin. Alors désolée pour toi, mais t'es coincée avec moi maintenant, car tu es devenue bien plus qu'une collègue.

A Justine et Manon, mes supers-nanas ma DDE préférée. Je n'aurais pas pu le faire sans vous ! Je ne pensais pas rencontrer des personnes qui allaient devenir aussi importantes pour moi en thèse. Merci de m'avoir écoutée me plaindre (aka faire Gnegnegne), de m'avoir soutenue pendant que je pleurais (ou du moins essayer de cacher que je pleurais), de m'avoir suivie dans mes délires (et Dieu sait qu'il y'en a eu) et désolée de vous avoir perverties. A ma Dory préférée merci d'avoir supporté la folle du bus une année entière, seule (t'es prête pour un ultra-trail maintenant). Tu me connais par cœur et tu as su me proposer exactement ce dont j'avais besoin quand j'en avais besoin. Tu as été un réel pilier pendant cette dernière année plus que compliquée, tu mérites cette thèse autant que moi. Love you guys !

A Margot et **Flora**, les meilleures stagiaires ! Merci de m'avoir fait confiance et d'avoir travaillé sur ce projet avec moi. Vous avez rendu l'encadrement si facile grâce à votre détermination, votre investissement et votre esprit critique. Bon courage à vous et bonne continuation dans le monde scientifique.

A tous les collègues du laboratoire NGERE avec qui j'ai passé de très bons moments, merci pour vos conseils et votre écoute ainsi que pour les moments de convivialité.

Je tenais à remercier ma famille, qui me supporte depuis 28 ans maintenant - les hauts les bas, les lubies, les obsessions et les rêves qui changent tous les mois. Le caractère et les humeurs ne sont pas facile à dompter, mais je ne serai rien sans vous, je n'en serai pas là où j'en suis sans vous. Merci d'avoir toujours cru en moi et de me l'avoir rappelé quand j'en avais besoin.
Maman et **Papa** merci d'avoir supporté votre fille au travail, avec tout ce que cela implique. **Maman** merci pour tout ce que tu as fait pendant ces trois ans. Je sais que ce n'était pas simple, mais personne d'autre n'aurait pu le faire, et je n'aurai voulu le faire avec personne d'autre. Ta position n'a pas été facile, et j'ai souvent cru que nous n'allions pas nous en sortir indemne. Mais tu as toujours su être une fondation solide sur laquelle cette famille s'appuie, alors désolée d'avoir douté.
Lucie, Nathan merci de m'avoir aidé à garder les pieds sur terre et de m'avoir rappelé, à votre manière, que quoi qu'il arrive je serai toujours la meilleure pour vous. Continuez à vous arracher dans tous ce que vous faites ! Vous êtes les meilleurs ! On est vraiment trop fière de vous !
Pitch, petite mention spéciale : oui, j'ai écrit ce passage parce que tu me l'as demandé, mais tu as raison, car il est complètement mérité. Merci d'avoir été là, dans les bons comme dans les mauvais moments — et en deux stages d'affilée, on en a traversé. L'un d'eux t'a transformée en infirmière improvisée, un rôle dans lequel tu as excellé, comme toujours. Tu vas réussir ton année haut la main ; la seule qui en doute, c'est toi, et tu enchaîneras sûrement avec une carrière que nous autres mortels n'atteindrons jamais, j'en suis sûre ! Alors ne lâche rien, tout le monde est super fière de toi.
Et enfin merci à **mes amis,** que j'ai l'honneur de considérer comme des parts entières de ma famille et qui m'ont porté jusqu'à la fin.
Ma chère famille, mes amis, je vous aime.

Publications et Communications

Publication

Hyperhomocysteinemia and vitamin B deficiency as aggravating factors in Huntington's disease: A prospective monocentric study

Salomé Puisieux, Elise Pourié, Céline Bonnet, Lucie Hopes, Solène Frismand, Myriam Bronner, Virginie Roth, Marion Wandzel, Natacha Sloboda, Laetitia Lambert, Abderrahim Oussalah, Amélia Julien, Irina Rotaru, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Carine Bossenmeyer-Pourié, Mathilde Renaud. (En soumission)

Communications orales

14th International Conference One-Carbone Metabolism B Vitamins and Homocysteine – Nancy- France. Juin 2025.

Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease

Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

FASEB Science Research Conference : B vitamins and one-carbon metabolism – Niagara Falls-Etats-Unis. Août 2025. **PRIX ETUDIANT**

Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease

Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Colloque annuel de la Société Cerveau et Maladies Cérébrovasculaires (SCMC) – Paris – France. Juin 2024

Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease.

Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Journée scientifique de l'école doctorale BioSE – Nancy – France. Avril 2024

Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease.

Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease.

Journée de rentrée de l'école doctorale BioSE – Nancy – France. Novembre 2023
Présentation Flash Poster – **Prix du meilleur « Flash Poster »**
Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease.
Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Communications affichées (posters)

European Huntington's Disease Network (EHDN) & Enroll-HD – Strasbourg – France. Septembre 2024. **PRIX DU POSTER SCIENTIFIQUE.**
Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease
Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Colloque scientifique sur les maladies rares – Nancy – France. Mars 2024.
Consequences of altered one carbon metabolism in the pathophysiology of Huntington's disease
Elise Pourié, Salomé Puisieux, Céline Bonnet, Myriam Bronner, Jean-Marc Alberto, Rémy Umoret, Amélia Julien,Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean Louis Guéant, Mathilde Renaud.

Table des matières

Liste des figures 5
Liste des tableaux 9
Liste des abréviations 11
Avant-propos 1
Introduction 4
Chapitre 1 : La Maladie de Huntington 5
I- Description clinique de la Maladie de Huntington 5
A- Découverte de la MH et épidémiologie 5
B- Manifestations cliniques : la triade symptomatologique 7
C- Diagnostic et prise en charge thérapeutique 12
D- Aspects sociaux et éthiques 16
II- Physiopathologie et Neurodégénérescence 19
A- Altérations cérébrales structurelles 19
B- Atteintes fonctionnelles de la boucle cortico-striato-thalamique 21
C- La neurodégénérescence 22
D- Apport des biomarqueurs et de la Neuro-imagerie dans la MH 26
III- Bases génétiques et moléculaires de la maladie de Huntington 33
A- Gène HTT 33
B- Gène HTT et expansion somatique 34
C- La protéine HTT 35
IV- Les modèles d'études de la maladie de Huntington 69
A- Les modèles animaux 69
B- Modèles cellulaires 74
V- Pistes thérapeutiques et Essais cliniques 83
A- Les stratégies ciblant les ARN 84
B- Les stratégies ciblant l'ADN 87
C- Autres stratégies 89
Chapitre 2: Le métabolisme des monocarbones 91
I- Description générale du métabolisme des monocarbones 91
II- La vitamine B9 et le cycle des folates 93
A- Synthèse, structure et besoin en folates 93
B- Transport et absorption des folates 94
C- Le cycle des folates 95
D- Altération du cycle des Folates 98
III- La vitamine B12 et le cycle de la méthionine 101
A- La vitamine B12 101

B- Le cycle de la méthionine 104
C- Altération du cycle de la méthionine 106
IV- La vitamine B6 et la voie de la transsulfuration 110
A- La vitamine B6 110
B- La voie de la transsulfuration ou voie cataplérotique 112
C- Perturbation de la voie de la transsullfuration 116
V- Conséquences moléculaires, cellulaires et tissulaires d'une perturbation du métabolisme du MMC 120
A- Modèles d'études du MMC in vivo et in vitro 120
B- Mécanismes physiopathologiques liés à la perturbation du MMC 125
VI- MMC et maladies neurodégénératives 140
A- Hyperhomocystéinémie et vieillissement cérébral 140
B- La maladie d'Alzheimer (MA) 141
C- La maladie de Parkinson 144
D- La maladie de Huntington 147
Objectif de l'étude 151
I- Données antérieures du laboratoire 152
II- Hypothèses et objectifs de la thèse 155
Résultats 158
Objectif 1 : Existe-t-il un dysfonctionnement du MMC dans la maladie de Huntington pouvant participer à sa grande variabilité phénotypique ? 159
I- Évaluation du statut biochimique du MMC et de son association avec le phénotype clinique dans la maladie de Huntington 160
A- Résumé de l'article 160
B- Article complet soumis : Hyperhomocystéinémia and vitamin B deficiency as aggravating factors in Huntington's disease : A prospective monocentric study 165
II- Analyse métabolomique du MMC à partir de fibroblastes de patients 189
A- Résultats 190
B- Discussion 195
III- Impact d'une perturbation du MMC sur la progression de la maladie de Huntington : développement d'un modèle murin *HdhQ111* carencé en vitamine B9 et B12 197
A- Résultats 198
B- Discussion 214
IV- Conclusion générale : Existe-t-il un dysfonctionnement du MMC dans la maladie de Huntington pouvant participer à sa grande variabilité phénotypique ? 218
V- Matériel et Méthode 221
A- Etude princeps 221

B- Cohorte HO-HD 222
C- LCMS-MS 222
D- Modèle murin de la maladie de Huntington : *HdhQ111* 223
E- Analyses statistiques 224
Objectif 2 : Quelles sont les conséquences moléculaires et cellulaires d'une altération du métabolisme des monocarbones dans la maladie de Huntington ? 225
I- Etude de l'agrégation protéique dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD 226
II- Etude de la colocalisation de la HTT et de l'HCY dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD 230
III- Etude de la N-HCY de la HTT dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD 233
IV- Analyse de la régulation de la voie de la transsulfuration dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD 237
A- Etude de l'interaction entre la HTT et les acteurs de la voie de la transsulfuration 237
B- Etude de l'expression génique des acteurs de la voie de la transsulfuration 240
V- Analyse protéomique comparative des fibroblastes HO-HD selon le statut clinique des patients 242
A- Profil protéomique global et analyse différentielle selon le statut clinique 243
B- Analyse d'enrichissement fonctionnel des voies biologiques par fGSEA 246
C- Analyse ciblée du métabolisme des monocarbones au sein du protéome différentiel 250
D- Identification des protéines pivots par analyse de récurrence dans les voies altérées 252
VI- Discussion 255
A- Une altération majeure des fonctions mitochondriales et une stimulation inefficace du métabolisme des monocarbones 255
B- Causes et conséquences fonctionnelles et structurelles de la N-HCY des protéines 262
VII- Matériels et Méthodes 269
A- Protéostat® 269
B- Immunocytochimie 270
C- Duolink® 270
D- Microscopie 271
E- RT-qPCR 271
F- Protéomique 272
G- Analyses Statistiques 272
Objectif 3 : Existe-il un profil spécifique de protéines N-HCY pouvant être utilisé pour le développement de nouveaux biomarqueurs ? 273
I- Analyse du protéome N-homocystéinylé des fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD 274
II- Analyse du protéome N-homocystéinylé des cortex des souris *HdhQ111* 280
III- Discussion 284

Discussion Générale 294
I- Dans la MH les perturbations du MMC peuvent être associées à une exacerbation des dommages à l'ADN 296
II- Dans la MH les anomalies du MMC potentialisent les dysrégulations transcriptionnelles 297
III- Une perturbation du MMC majore le stress oxydant et la perte de l'homéostasie protéique dans la MH 298
IV- Une perturbation du MMC potentialise le dysfonctionnement mitochondrial dans la MH 300
V- Dans la MH une perturbation du MMC majore l'excitotoxicité calcique et la perturbation de la plasticité synaptique 302
Conclusion - Perspectives 305
Annexes 312
I- Données supplémentaires : 313
A- Comportements modèle murin *HdhQ111* 313
B- Répartition des patients de la cohorte HO-HD 315
II- Fiches Méthodes : 316
A- Fiche 1 : Culture cellulaire 316
B- Fiche 2 : Étude protéique (Plateforme ProFi – Strasbourg) 318
C- Fiche 3 : Étude métabolomique 322
D- Fiche 4 : Immunocytochimie 325
E- Fiche 5 : Proximity Ligation Assay (PLA) – Duolink ® 328
F- Fiche 6 : Analyses des agrégats cellulaires – Proteostat ® 332
G- Fiche 7 : RT-qPCR 335
H- Fiche 8 : Protocol Animal de carence adulte – Modèle *HdhQ111* 338
I- Fiche 9 : Etude protéomique dans le cortex *HdhQ111* 345
J- Fiche 10 : Etude métabolomique des plasma *HdhQ111* 349
Bibliographie 352

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du gène HTT. 6
Figure 2 : Evolution clinique de la maladie de Huntington (Ross et al. 2014). 8
Figure 3 : Représentation de la séquence temporelle de la progression des stades dans le système de classification intégrée de la MH (Traduit de Tabrizi et al., 2022). 9
Figure 4 : Impact de divers évènements et de l'évolution de la maladie sur la qualité de vie (G. P. Bates et al. 2015a). 16
Figure 5 : Schéma mettant en évidence le développement de la maladie en parallèle des répercussions dans un foyer (Ross et al. 2014). 17
Figure 6 : Schéma fonctionnel des ganglions de la base (Myers et al. 1991 et Jahanshahi et al., 2015). 19
Figure 7: Représentation topographique de l'atteinte structurale et de la connectivité au sein de l'axe cortico-striatal (Papoutsi et al. 2014). 20
Figure 8 : Schéma présentant les connexions neuronales de l'axe striato-thalamo-cortical (Papoutsi et al. 2014). 21
Figure 9: Microcircuit striatale (Goodchild et al., 2013). 24
Figure 10 : Evolution du volume des différentes structures cérébrales touchées par la MH au cours de l'évolution de la maladie (Ross et al., 2014). 27
Figure 11 : Représentation schématique de la pathogenèse cellulaire dans la maladie de Huntington (Ross et al. 2014). 32
Figure 12 : Les expansions somatiques dans la MH (Handsaker et al., 2025). 35
Figure 13 : Organisation de la séquence protéique de la HTT (Saudou and Humbert, 2016). 36
Figure 14 : Expression de la HTT (Bates et al. 2015). 38
Figure 15 : Modifications post-traductionnelles (PTM) dans la toxicité et la pathogenèse de la huntingtine (Sahah et Godad, 2026). 39
Figure 16 : Clivage protéolytique de la HTT et devenir des différents fragments (Bates et al., 2015). 40
Figure 17 : Rôle de la HTT dans le transport vésiculaire (Saudou et Humbert 2016). 44
Figure 18 : Rôle physiologique de la huntingtine dans l'organisation du métabolisme cellulaire (Adaptée de Kumar et al.,). 46
Figure 19 : Rôle de la HTT dans l'homéostasie mitochondriale (adaptée de Tassone et al., 2023 et Jurcau, 2023). 47
Figure 20 : Résumé des effets de l'activation de l'AMPK sur le métabolisme cellulaire D'après (Hardie et al., 2012). 49
Figure 21 : Rôle de la huntingtine non mutée dans le métabolisme glucidique. 50
Figure 22 : le rôle de la HTT dans la régulation du métabolisme lipidique. 51
Figure 23 : La voie de la transsulfuration (Modifiée d'après Murphy et al., 2019). 53
Figure 24 : Régulation de la voie de la transsulfuration par la HTT (Modifiée d'après Paul et al., 2018). 55
Figure 25 : Rôle de la HTT dans la macroautophagie (Modifiée d'après Krzystek et al., 2025). 56
Figure 26 : Le complexe ubiquitine-protéasome (Hedge et al., 2025). 57
Figure 27 : Principales dérégulations pathogènes dans la MH (Egidio et al., 2023). 60
Figure 28 : Altération de l'homéostasie protéique et de l'autophagie dans la MH (Soarez et al., 2019). 62
Figure 29 : Altérations de la macroautophagie dans la MH (Guedes-Dias et al., 2016). 63
Figure 30 : La mHTT provoque un dysfonctionnement mitochondrial dans la MH par de multiples mécanismes (Johri et al., 2013). 64
Figure 31 : Conséquences de l'inhibition de SIRT 1 par la mHTT (Naia et Rego, 2015). 65
Figure 32 : Altérations de l'expression de GLUT3 et de la glycolyse dans la MH (Peng et al., 2021). 66
Figure 33 : Altération de la voie de la transsulfuration dans la Maladie de Huntington. 68
Figure 34 : Représentation schématique du processus de génération des modèles expérimentaux (Evangelisti et al. 2024). 75
Figure 35 : Représentation schématique du processus de génération des différentes cellules neural à partir de cellules somatiques (Guo et al. 2025). 78
Figure 36 : Schéma mettant en évidence les avantages de la différentiation directe des fibroblastes en neurones (Aversano et al. 2022). 81

Figure 37 : Modélisation in vitro des projections cortico-striées utilisant un assembloïde dérivé de cellules hiPS (Miura et al., 2020). 82
Figure 38 : Les différentes stratégies thérapeutiques visant à diminuer l'expression de la HTT (Tabrizi et al. 2020)..... 84
Figure 39 : Le métabolisme des monocarbones (Werge et al., 2021)..... 92
Figure 40 : Structure chimique de la vitamine B9 et de ses dérivés (Guéant et al., 2013). 93
Figure 41 : Absorption et distribution des folates dans le foie et les tissus périphériques (Guéant et al., 2013). 95
Figure 42 : Produit et compartimentation du métabolisme des folates (Duckerts et Rabinowitz, 2017). 96
Figure 43 : Compartimentalisation nucléaire du cycle des folates (Field et al., 2018). 97
Figure 44 : Structure chimique de la vitamine B12 (McCorvie et al. 2023)..... 101
Figure 45 : Absorption, transport et métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 (Green et Plattel 2024). 103
Figure 46 : La voie de reméthylation associe les cycles des folates et de la méthionine (Lyon et al., 2020).. 104
Figure 47 : Les erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 (Cbl) : CblA-CblG, CblJ et Mut (Gherasim et al., 2013). 108
Figure 48 : Structure chimique de la vitamine B6. D'après (Franken et al. 1996). 110
Figure 49 : Synthèse, Transport et Absorption du PLP (forme active de la vitamine B6) (Wilson et al., 2018) 111
Figure 50 : Produits de la voie de la transsulfuration (Modifié Werge et al., 2021). 113
Figure 51 : Régulation de l'expression et de l'activité de la cystathionine-β-synthase (CBS) et de la cystathionine γ-lyase (CSE) (Modifié Sbodio et al., 2019a). 114
Figure 52 : Symptômes cliniques associés à l'homocystinurie (HCU) (Majtan et al., 2025). 118
Figure 53 : Pathologies qui peuvent être en lien avec une déficience en vitamine B6 (modifié d'après Stach et al., 2021). 119
Figure 54 : Modèle Mtr-cKO (Matmat et al. 2023)..... 120
Figure 55 : le modèle MDD de carence gestationnelle (Kerek et al., 2013 ; Goeffroy et al., 2017 et 2019). . 123
Figure 56 : Le modèle OT-TO de carence intracellulaire en vitamine B12 (Pons et al., 2009). 124
Figure 57 : Effets systémiques d'une carence en vitamine B ou méthionine (Lyon et al., 2020). 125
Figure 58 : Mécanismes pathogéniques des causes nutritionnelles et héréditaires de l'altération de l'activité de la méthionine synthase (MS) (Guéant et al., 2022)..... 126
Figure 59 : Mécanismes de toxicité cellulaire de l'hyperhomocystéinémie (M. Sharma et al. 2015a; Araszkiewicz et al. 2025). 128
Figure 60 : Stress oxydant et systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Halliwell et al. 2015)..... 129
Figure 61 : Résumé des patho-mécanismes moléculaires mis en jeu par la toxicité de l'homocystéine (Araszkiewicz et al., 2025). 132
Figure 62 : Mécanismes de génotoxicité et impact sur le génome découlant d'une perturbation du MMC (Mellor et al. 2025). 133
Figure 63 : MMC et altération de la fonction mitochondriale (Castillo et al., 2025). 134
Figure 64 : L'homocystéinylation des protéines (Perła-Kaján et al. 2007 et Jakubowski 2019). 135
Figure 65 : Formation d'homocystéine thiolactone à partir d'homocystéine (Jakubowski, 2019). 136
Figure 66 : Métabolisme de l'homocystéine humaine (Jakubowski, 2019 ; 2024). 137
Figure 67 : Relation entre vieillissement et augmentation de l'HHCY (Ostrakhovitch et Tabibzadeh 2019).. 140
Figure 68 : Différents facteurs intervenant dans les déficiences cognitives de manière directe ou indirecte (Smith et al., 2018). 143
Figure 69 : la voie de la transsulfuration dans la maladie de Parkinson (Corona-Trejo et al. 2023). 145
Figure 70 : Altération de l'expression de DHFR et GTPCH par mHTTexon1 (Xie et al., 2023). 149
Figure 71 : N-Homocystéinylation de la huntingtine sur la Lysine K2514 chez le rat (Résultats non publiés). 153
Figure 72 : Analyse de la N-HCY de la HTT dans des fibroblastes de patients CblG (Résultats non publiés).. 154

Figure 73 : Implication du métabolisme des monocarbones dans la physiopathologie de la maladie de Huntington et objectifs de l'étude. 157
Figure 74 : Cohorte HO-HD et étude métabolomique sur les fibroblastes de patients. 189
Figure 75 : Altération du cycle des monocarbones dans les fibroblastes des patients. 191
Figure 76 : Profils métaboliques individuels des patients en fonction de leur statut biochimique. 193
Figure 77 : Schématisation de la chronologie du protocole animal de carence vitaminique adulte. 197
Figure 78 : Perturbation globale du MMC par bilan métabolomique sur le plasma des souris *HdhQ111* à 9 mois, 12 mois et 15 mois. 199
Figure 79 : Bilan comportemental des souris *HdhQ111* à 9 mois d'âge. 204
Figure 80 : Bilan comportemental des souris *HdhQ111* à 12 mois d'âge. 208
Figure 81 : Bilan comportemental des souris *HdhQ111* à 15 mois d'âge. 212
Figure 82 : Schéma de synthèse résumant les résultats de l'objectif 1. 220
Figure 83 : Protocole expérimental sur les fibroblastes des patients HO-HD. 226
Figure 84 : Analyse et quantification des agrégats protéiques associés à l'homocystéine. 228
Figure 85 : Analyse par immunofluorescence de la localisation de la HTT et de l'homocystéine dans les fibroblastes de patients. 231
Figure 86 : Homocystéinémie et N-HCY de la HTT au sein de la cohorte HO-HD. 235
Figure 87: Quantification de l'interaction de la HTT avec la CBS, la CSE et SP1. 239
Figure 88 : Expression relative des gènes CBS, CSE et SP1 de la voie de la *transsulfuration*. 241
Figure 89 : Analyse différentielle du protéome des fibroblastes de patients atteints de la MH. 244
Figure 90 : Voies biologiques significativement enrichies dans les fibroblastes de patients présymptomatiques et symptomatiques par rapport aux contrôles (analyse fGSEA – base Reactome). 249
Figure 91 : Analyse du réseau d'interactions protéiques construit à partir des protéines récurrentes chez les patients symptomatiques. 253
Figure 92 : Schéma synthétique des mécanismes proposés reliant la dérégulation du MMC à la progression de la MH. 268
Figure 93 : Analyse différentielle et profils spécifiques de N-homocystéinylation dans les fibroblastes de la cohorte HO-HD selon le statut clinique et biochimique. 277
Figure 94 : Analyse différentielle et profils spécifiques de N-homocystéinylation dans les cortex du modèle murin *HdhQ111* en fonction du génotype et de la carence. 281
Figure 95 : Schéma synthétique illustrant le rôle de la N-HCY des protéines comme mécanisme central amplifiant les altérations cellulaires dans la MH. 293
Figure 96 : Interaction entre la maladie de Huntington et le métabolisme des monocarbones : convergence vers des mécanismes physiopathologiques communs. 304
Figure 97 : Apports translationnels de l'étude du métabolisme des monocarbones dans la maladie de Huntington : de la compréhension physiopathologique aux perspectives diagnostiques et thérapeutiques. 309
Figure 98 : Etude comportementale complète des souris *HdhQ111* à 9 mois. 313
Figure 99 : Etude comportementale complète des souris *HdhQ111* à 12 mois 314
Figure 100 : Etude comportementale complète des souris *HdhQ111* à 15 mois 315
Figure 101 : Représentation de la relation entre les niveaux plasmatiques d'homocystéine (µmol/L) et la N-homocystéinylation de la HTT (Duolink HTT-HCY) chez les patients 315

Liste des tableaux

Tableau I : Mécanismes associés à la dégénérescence striatale dans la maladie de Huntington (Bergonzini et al., 2021) 25
Tableau II : Modèles transgéniques de la maladie de Huntington (Nittari et al. 2023) 72
Tableau III : Modèles Knock-in de la maladie de Huntington (Nittari et al. 2023) 74
Tableau IV : Caractéristiques observées dans différents modèles dérivés d'iPSCs pour la MH 80
Tableau V : Les différentes causes de déficiences en vitamine B12 (Green et al., 2017). 106
Tableau VI : Conséquences et symptômes de la déficience en vitamine B12 (Green et al., 2017) 109
Tableau VII : Modèles génétiques mises en œuvre chez la souris pour modéliser les pathologies humaines liées à la carence en B12 et en folate (Arnold et al., 2016). 121
Tableau VIII : Exemple de protéines N-HCY et conséquences structurelles et fonctionnelles (Jakubowsky 2019). 139
Tableau IX : Méta-analyses menées depuis 2009 sur le lien entre un taux élevé d'homocystéine plasmatique et la démence ou la maladie d'Alzheimer dans le cadre d'études de cohorte prospectives MTHFR (Smith et al., 2018). 142
Tableau X : Modulation des métabolites et enzymes de la voie de la transsulfuration dans la maladie de Parkinson (Corona-Trejo et al., 2023). 146
Tableau XI : Effet des traitements à la N-Acétylcystéine (NAC) dans des modèles in vitro et in vivo de la MH (Chakraborty et al., 2025). 147
Tableau XII : les 15 voies le plus modifiées chez les patients présymptomatiques de la MH (Christodoulou et al., 2020) 148
Tableau XIII : Bilan du profil métabolique et comportemental des souris *HdhQ111*. 213
Tableau XIV : Protéines du MMC modifiées chez les patients présymptomatiques. 251
Tableau XV : Protéines du MMC modifiées chez les patients symptomatiques. 251
Tableau XVI : Synthèse comparative des conséquences moléculaires et cellulaires de la N-homocystéinylation de la huntingtine normale et mutée. 266

Liste des abréviations

5- méthylTHF : 5 méthylTétraHydroFolate

5,10-MTHF : 5,10-Méthylène-TétraHydroFolate

AA : Acides aminés

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AdoCbl : Adénosyle CoBaLamine

AHF : Association Huntington France

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AKAP9 : A-kinase anchoring protein 9

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

ANSES : Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARN : Acide RiboNucléique

ARNi : ARN interférent

ARNm : Acide RiboNucléique Méssager

ASO : Oligonucleotide Anti-Sens

ATAC-seq : Assay for Transposase-Accessible Chromatin sequencing

ATP : Adénosine triphosphate

BDNF : Facteur Neurotrophique Dérivé du cerveau

BHMT : Bétaïne HydroxyMéthylTransférase

BSA : Bovine Sérum Albumine

CAP score : Produit de l'âge et de l'expansion CAG

CBS : Cystathionine β-Synthase

CCMR : Centre de Compétences Maladies Rares

cDNA : ADN complémentaire

-CH3 : Groupement méthyle

ChIP-seq : Chromatin Immunoprecipitation sequencing

CI : Intervalle de confiance

CN : Noyau Caudé

CNCbl : CyanoCoBaLamine

CRE : cAMP Response Element

CREB : cAMP Response Element-Binding Protein

CRISPR : Système d'édition génomique CRISPR-Cas

CRP : Protéine C-réactive

CSE : Cystathionine γ-lyase

CUBAM : Récepteur composé de la CUBuline et l'AMnionless

DEHP : Di(2-éthylhexyl)phtalate

DHF : DiHydroFolate

DHFR : DihHdroFolate Réductase

DMB : 5.6-DiMéthylBenzimidazole

DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium

DNA : Deoxyribonucleic acid

DTI : Imagerie en Tenseur de Diffusion

ECCO : European Crohn's and Colitis Organisation

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

FACS : Tri cellulaire assisté par fluorescence

FBS : Sérum fœtal bovin

FC :Calprotectine fécale

FDR : False Discovery Rate

FI : Facteur Intrinsèque

FR : Folate Récepteur

GABA : Gamma-AminoButyric Acid

GC-MS : Chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse

GMPc : Guanine MonoPhosphate cyclique

GP : Globus Pallidus

GPe : Globus Pallidus externe

GPi : Globus Pallidus interne

GSH : Gluthation

H&E : Hématoxyline-éosine

HC : HaptoCorrine (HC)

HCY : HomoCYstéine

HCYt : HomoCYstéine thiolactone

HD : Maladie de Huntington

HD : Huntington Disease

HDAC : Histone DésACétylase

HEAT : Huntingtine, facteur d'élongation 3, protéine phosphatise 2A et TOR1

HEK293 Cellules humaines embryonnaires de rein 293

H-HCY : N-HomoCYstéynilation

HHCY : HyperHomoCYstéinémie

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

HTT : Huntingtine

IBD : Inflammatory Bowel Disease

IF : Immunofluorescence

IHC : Immunohistochimie

IQR : Intervalle interquartile

IRM : Imagerie par Résonnance Magnétique

IRMf : Imagerie par Résonnance Magnétique fonctionnelle

kDa : kiloDalton

KMO : Kinurénine MOnooxygénase

KO: Knock-out

LC-MS : Chromatographie liquide-spectrométrie de masse

LC-MS/MS Chromatographie liquide-spectrométrie de masse en tandem

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

MAPK : Protéine Kinase Activée par les Mitogènes

MARS : Méthyonyl-ARNt-Synthétase

MeCbl : MethylCoBaLamine

MEHP : Mono(2-éthylhexyl)phtalate

MET : METhionine

MeTHF : Méthyl-TétraHydroFolate

MH : Maladie de Huntington

mHTT : Huntingtine mutée

MMC : Métabolisme des MonoCarbones

MPT : Modifications Post-Traductionnelles

MRI : Magnetic resonance imaging

MRP : Multi-drug Resistance associated Protein

MS : Méthionine Synthase

MS : Spectrométrie de masse

MSN : Neurones Moyens Epineux

MT : MéthylTransférase,

MTHFR : Méthylène-TétraHydroFolate Réductase

MUT : Méthylmalonyl-CoA MUTase

NAFLD : Stéatose Hépatique Non Alcoolique

NF-kB : Nuclear Factor-kappaB

NMR : Résonance magnétique nucléaire

NTD : Anomalie de Fermeture du Tube Neural

OHCbl : Hydroxyle CoBaLamine

OP : gradient de Phosphate Organique transmembranaire

PABA : Acide Para-Amino-Benzoïque

PBS : Phosphate-Buffered Saline

PCFT : Proton-Coupled Folate Transporter

PCR : Polymerase Chain Reaction

PET : Tomographie par Emission de Positions

PGD : Diagnostic Génétique Préimplantatoire

PL : PyridoxaL

PLP : Pyridoxal Phosphorylée

PM : PyridoxaMine

PN : PyridoxiNe

PND : Diagnostic PréNatal

polyQ : expansion polyglutamine

PRD : Domaine Riche en Proline

Pu : Putamen

Q10 : Coenzyme Q10

QOL : Qualité de vie

qPCR : PCR quantitative en temps réel

RE : Réticulum Endoplasmique

RFC : Transporteur de Folate Réduit

RISC : RNA Induced Silencing Complex

RNA : Ribonucleic acid

RNA-seq Séquençage de l'ARN

RNS : Espèces Réactive de l'Azote

ROS : Espèce Réactive de l'Oxygène

RT-qPCR : Reverse Transcription quantitative PCR

SAH : S-AdénosylHomocystéine

SAHH : SAH Hydrolase

SAM : S-AdénosylMéthionine

scRNA-seq : Séquençage d'ARN monocellulaire

SD : Écart-type

SDS-PAGE : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturant

SEM : Erreur standard sur la moyenne

sgRNA : Single guide RNA

-SH : Groupement Sulfhydrile

S-HCY : S-HomoCYstéynilation

SHMT : Sérine HydroxyMéthyl-Transférase

siRNA : Small interfering RNA

siRNA : ARNi court

SN : Substance Noire

SNc : Substance Noire compacte

SNC : Système Nerveux Central

SNr : Substance Noire réticulée

SOD : SuperOxyde-Dismutase

S-S : Ponts disulfures

STN : Noyaux Sous-Thalamiques

TCA : Acide TriCarboxylique

TG : Transgénique

THF : TétraHydroFolate

TrkB : Récepteur à activité kinase B

Ub : Ubiquitine

UHDRS : Unified Huntington's Disease Rating Scale

UHDRS-TMS : Unified Huntington's Disease Total Motor Score

UV : Ultraviolet

WB : Western blot

WGS : Whole-Genome Sequencing

WT : Wild-type (sauvage)

Avant-propos

La Maladie de Huntington (MH) est une pathologie neurodégénérative d'origine génétique caractérisée par une atteinte progressive des fonctions motrices, cognitives et psychiatriques. Si son origine moléculaire est aujourd'hui bien identifiée, la compréhension des mécanismes cellulaires et métaboliques contribuant à sa physiopathologie reste encore incomplète, limitant ainsi le développement de stratégies thérapeutiques ciblées et individualisées.

Le métabolisme des monocarbones (MMC), composé du cycle de la méthionine, du cycle des folates et de la voie de la transsulfuration, occupe une place centrale dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. En effet, il intervient notamment dans les réactions de méthylation, la synthèse des nucléotides et la régulation du stress oxydatif, autant de processus impliqués dans la survie neuronale, ce qui en fait un candidat pertinent dans la compréhension des mécanismes de la MH. Des altérations de ce métabolisme ont d'ailleurs été décrites dans plusieurs pathologies, en particulier neurodégénératives, suggérant un rôle potentiel dans les processus de dégénérescence neuronale.

Longtemps étudiée sous l'angle de ses déterminants génétiques et de ses conséquences neurologiques, la MH révèle aujourd'hui des altérations métaboliques profondes, encore partiellement élucidées. Parmi celles-ci, le MMC apparaît comme un candidat de choix, au-delà de son implication directe dans l'homéostasie cellulaire. En effet, parmi les nombreux partenaires de la huntingtine (HTT) figurent deux enzymes clés de la voie de la transsulfuration, la cystathionine β-synthase (CBS) et la cystathionine γ-lyase (CSE), ainsi que leur facteur de transcription SP1. Or, la HTT mutée (mHTT), reconnue pour altérer les voies métaboliques auxquelles elle participe, pourrait impacter le MMC. Cependant, le dysfonctionnement du MMC n'a, à ce jour, jamais été étudié dans le contexte de la MH. Dans une perspective de recherche translationnelle, Il paraît pertinent de mieux caractériser ces altérations métaboliques afin de faire le lien entre les mécanismes moléculaires et les manifestations cliniques de la maladie. Une telle approche pourrait permettre d'identifier des signatures biologiques spécifiques et de mieux comprendre l'hétérogénéité phénotypique observée chez les patients MH.

Ce travail de thèse s'inscrit à l'interface de la biologie moléculaire, de la physiopathologie des maladies neurodégénératives et de la médecine personnalisée avec pour objectif d'explorer les conséquences d'une altération du MMC et ses liens avec la physiopathologie de la MH.

Plus précisément, les objectifs de ce travail ont été :

(i)de déterminer l'existence d'un dysfonctionnement du MMC chez les patients atteints de MH, et en préciser la localisation au sein des différentes voies métaboliques ;
(ii) de caractériser les conséquences de cette altération aux niveaux moléculaire et cellulaire ;
(iii) d'identifier d'éventuels biomarqueurs associés à ces perturbations en évaluant leur potentiel pour le suivi de la maladie, la stratification des patients et le développement de nouvelles approches thérapeutiques ciblées.

Pour répondre à cette problématique, une cohorte de soixante-dix-sept patients, constituée en collaboration avec le CHRU de Nancy et avec le soutien du Dr Salomé Puisieux, a été étudiée. Cette cohorte permet à la fois un suivi phénotypique longitudinal de la maladie et l'obtention de fibroblastes de patients offrant ainsi un modèle pertinent pour les analyses des mécanismes moléculaires et cellulaires. En complément, un modèle murin de la maladie, le modèle *HdhQ111*, a été utilisé afin de permettre l'étude directe de tissus cérébraux, inaccessibles chez les patients. L'utilisation conjointe de ces deux modèles s'inscrit dans une approche translationnelle visant à faire le lien entre données humaines et modèles expérimentaux. Elle a permis d'analyser les répercussions des altérations du MMC à travers des approches métaboliques et protéiques, ainsi que d'étudier plus finement les interactions moléculaires entre la HTT et différents acteurs du MMC, notamment l'homocystéine, la CBS, la CSE et SP1, ainsi que leur expression relative.

Ainsi, ce travail vise à proposer une nouvelle approche de l'étude de la MH centrée sur le MMC, avec une double ambition : améliorer la compréhension des mécanismes impliqués dans la pathologie et ouvrir la voie à l'identification de nouveaux biomarqueurs de suivi et de cibles thérapeutiques dans une perspective de prise en charge personnalisée des patients.

Introduction

Chapitre 1 : La Maladie de Huntington

I- Description clinique de la Maladie de Huntington

A- Découverte de la MH et épidémiologie

1- Historique de la MH

L'histoire de la maladie de Huntington (MH) a toujours été liée aux chorées. La première description des chorées date du XIVème siècle. En 1374, une épidémie de « manie dansante » ou danse de saint Guy a été décrite. Il faut ensuite attendre plus de 100 ans pour que Paracles suggère que les chorées trouvent leur origine dans le système nerveux central. En 1686, Thomas Sydenham décrira ensuite les chorées post-infectieuses (Walker 2007a). L'intervention de John Elliotson, deux siècles plus tard, apportera l'aspect héréditaire de la maladie de Huntington (Walker 2007a; Elliotson 1831). En 1872, George Huntington caractérisera la maladie avec la présentation orale de son article à l'académie de médecine des comtés de Meigs et Mason (Ohio) puis à l'écrit dans le « Medical and Surgical Reporter of Philadelphia » publié le 13 avril 1872. Les chorées y sont décrites comme symptômes principaux mais il y ajoute trois particularités : l'aspect héréditaire, des symptômes psychiatriques avec une tendance à la folie et au suicide ainsi qu'une composante vieillissement cérébral (Walker 2007a; Hayden 1983; Huntington 2003).

Le gène *HTT* codant pour la protéine Huntingtine, ainsi que la mutation responsable de la maladie, ont été identifiés en 1993 par le « Huntington's Disease Collaborative Research Group » (Marcy E. MacDonald et al. 1993). Le gène *HTT* comporte une répétition instable d'un trinucléotide CAG codant pour une expansion polyglutamine (polyQ) dans le premier exon du gène HTT. D'un point de vue physiologique, la longueur de ce fragment varie entre 11 et 36 triplets CAG. De transmission autosomique dominante la MH est définie par un nombre de répétitions supérieur ou égal à 36. Entre 37 et 39 répétitions, la pénétrance est incomplète. Au-delà de 40 répétitions, la pénétrance est complète (Walker 2007a; R. Reilmann et al. 2001) (**Figure 1**). Cette découverte a permis le développement de tests génétiques confirmant le diagnostic mais également de stimuler la recherche autour des mécanismes moléculaires mis en jeu en utilisant des modèles transgéniques *in vitro* et *in vivo* (Walker 2007a; Cha 2000) ; modèles qui permettront également, dès les années 2000, de commencer le criblage pharmacologique (Walker 2007a).

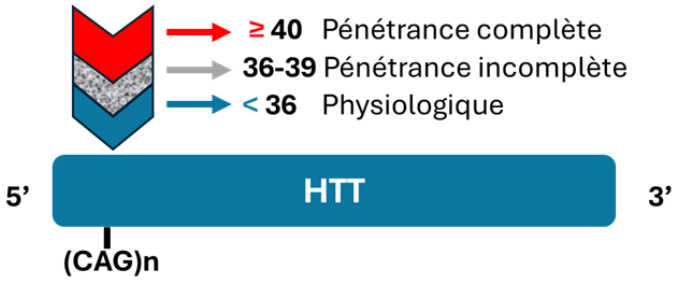


Figure 1 : Représentation schématique du gène HTT. *Description de la pénétrance de la mutation en fonction du nombre de triplet CAG. (Schéma personnel)*

2- Epidémiologie

La MH est la pathologie neurologique monogénique la plus fréquente des pays développés ; et les hommes et femmes sont touchés de la même manière (G. P. Bates et al. 2015a). Depuis 1993, Les méthodes diagnostiques sont passées du diagnostic par historique familial à des analyses moléculaires avec le test génétique. Cette évolution rend complexe les comparaisons entre les différentes études épidémiologiques menées (Fisher et Hayden 2014). Ainsi, les estimations de prévalence varient considérablement mais Fisher *et al*. et Walker s'accordent sur une moyenne de 5.7 personnes sur 100 000 touchées par la MH dans les populations d'ascendance nord-européenne (Walker 2007a; Fisher et Hayden 2014). Une étude prenant en compte la composante génétique ainsi que l'évaluation clinique, montre une prévalence de 10.6 à 13.7 personnes sur 100 000 (G. P. Bates et al. 2015a). Ainsi, en France, elle concernerait 18 000 personnes. Cependant, le vieillissement de la population et l'allongement de la durée de vie des patients ont sûrement un impact sur ces chiffres. Actuellement, on estime de 4.7 à 6.9 nouveaux cas recensés par million de personnes et par an dans les populations occidentales (Medina et al. 2022a).

De plus, les analyses longitudinales montrent une augmentation constante de la prévalence aux cours des deux dernières décennies (Medina et al. 2022a). Ceci s'explique par les progrès de la médecine et une meilleure accessibilité au test génétique, permettant un recensement plus fiable. Avec ces études, on s'aperçoit que l'ethnie est un critère déterminant dans l'évaluation de la prévalence car, même si la MH est présente dans toutes populations, elle est plus présente dans les populations européennes (Medina et al. 2022a). Au Japon seulement 0.5 individus pour 100 000 personnes sont atteints de la MH versus 4.88 pour 100 000 en Europe (Takano et al. 1998; Medina et al. 2022b). Une étude canadienne a également montré que la MH était plus fréquente chez les personnes d'ascendance européenne (17.2/100 000) que dans le reste de la population d'ascendance diverse (2.1/100 000) (Fisher et Hayden 2014).

Plusieurs zones de forte prévalence ont également été documentées, comme la région de Maracaibo au Venezuela, du fait d'un effet fondateur, de même qu'en Tasmanie (« Unified Huntington's Disease Rating Scale » 1996a; Pridmore 1990). Dans les pays en développement, le recensement précis du nombre de cas de la MH est plus compliqué du fait d'un accès restreint à la médecine et aux différentes techniques d'évaluation. A cela s'ajoutent les us et coutumes, les traditions et pratiques religieuses.

Le développement de registres de la MH est apparu comme indispensable pour suivre ses tendances épidémiologiques. Enroll-HD est une grande étude observationnelle mondiale offrant une plateforme pour le recensement de différents paramètres de la MH. Actuellement, plus de 20 000 personnes y participent en Europe, Amérique du Nord, Australie et Amérique Latine (*What is Enroll-HD?*, s. d.). Cette étude est rendue possible via des centres d'études homologués mandatés pour détecter et surveiller l'évolution de la maladie grâce à des tests standardisés. En France, l'Association Huntington France (AHF) accompagne les malades et leurs familles, soutient la recherche et sensibilise les pouvoirs publics. L'AHF rassemble plus de 100 bénévoles et plus de 900 000€ investis pour soutenir la recherche sur les 10 dernières années (*L'Association Huntington France – Huntington*, s. d.). A une échelle locale, le CHRU de Nancy accueille le Centre de Compétence Maladies Rares (CCMR) Huntington offrant une activité de référence régionale de la MH. Le centre a plusieurs buts : faciliter le diagnostic des patients, assurer une prise en charge des patients du stade précoce au stade avancé, faciliter l'accès aux consultations de conseil génétique (diagnostic présymptomatique, prénatal et préimplantatoire) et permettre aux patients de participer à des protocoles de prise en charge et de thérapies innovantes puisque le CCMR est certifié au essais cliniques Huntington (CHRU de Nancy - Maladie de Huntington/ BRAIN-TEAM 2025).

B- Manifestations cliniques : la triade symptomatologique

La MH se caractérise par une triade de symptômes qui regroupe une atteinte motrice, cognitive et psychiatrique (**Figure 2**). L'âge d'apparition de ces derniers ainsi que la rapidité d'évolution de la maladie dépend notamment de la longueur de l'expansion CAG au sein du gène de la *HTT*. L'âge moyen de début de la maladie est de 45 ans (Kwa et al. 2020).

Il est possible que les symptômes apparaissent beaucoup plus tard ou même, de manière beaucoup plus rare, durant l'enfance pour les formes juvéniles (G. Bates et al. 2014). En moyenne les patients survivent 20 ans une fois le diagnostic posé (Folstein 1989).

Pour évaluer et suivre les symptômes de cette triade, les cliniciens utilisent l'échelle UHDRS (Unified Huntington's Disease Rating Scale) (« Unified Huntington's Disease Rating Scale » 1996a).

L'évolution de de la MH se décompose en deux principales périodes : la phase pré-manifeste et la phase manifeste (**Figure 2**). La phase pré-manifeste peut également se subdiviser : phase lors de laquelle les individus ne peuvent pas être différencier cliniquement des individus non touchés, c'est la période présymptomatique et la phase prodromique, caractérisée par des changements moteurs, cognitifs et comportementaux subtils. Le diagnostic intervient à cette phase, le plus souvent en se basant sur les symptômes moteurs. Une fois le diagnostic posé, les patients entrent dans la phase manifeste, elle-même se divisant en période précoce, modérée et avancée (ou selon l'échelle Shoulson-Fahn, les stades 0, 1, 2, 3, 4 et 5). Cette stadification est uniquement descriptive et non basée sur des aspects biologiques (Shoulson 1981; Shoulson et Fahn 1979). Plus simplement, la MH évolue en trois grandes phases (Ross et al. 2014) :

- « précoce » pendant laquelle les patients sont généralement encore actifs et peuvent encore travailler ou conduire (Ross et al. 2014).
- « modéré », caractérisée par une incapacité à effectuer des fonctions complexes, comme aller au travail, conduire ou faire leurs courses seul mais ils gardent cependant un minimum d'autonomie dans la vie quotidienne (Ross et al. 2014).
- « avancé » pendant laquelle les patients sont dépendants et nécessitent de l'aide même pour les tâches les plus simples (Ross et al. 2014).

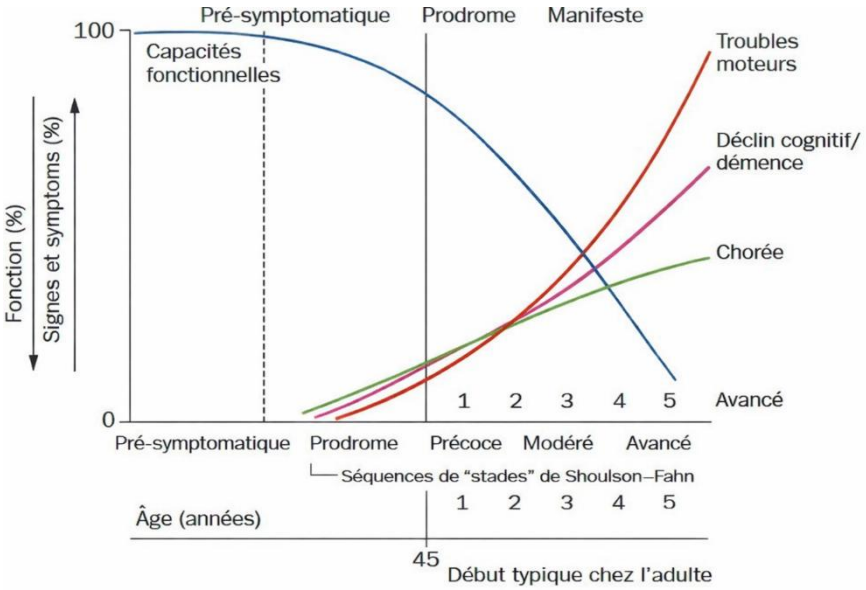


Figure 2 : Evolution clinique de la maladie de Huntington (Ross et al. 2014). *La période avant l'apparition des symptômes est nommée la période pré manifeste. Elle se divise en deux périodes distinctes : la période présymptomatique ou aucun signe n'est présent et la période prodromique où des signes commencent à apparaître. La période manifeste se caractérise par une progression lente des symptômes. Elle se subdivise en 5 stades de 1 à 5 selon l'échelle Shoulson-Fahn mais de manière plus simple, en stade précoce, modéré et avancé.*

Plus récemment il a été adopté une version modifiée de cette classification afin de normaliser la recherche clinique et permettre des études interventionnelles précoces dans la MH. Le système intégré de stadification de la MH (HD-ISS) a été proposé en 2022 et est centré sur des évaluations biologiques, cliniques et fonctionnelles. Selon ce nouveau système, la progression de la MH commence à la naissance chez les individus présentant 40 répétitions CAG ou plus, suivie par des indicateurs de physiopathologie sous-jacente (y compris la neurodégénérescence), puis par un signe ou symptôme clinique détectable, et enfin par un changement fonctionnel détectable (**Figure 3**). Cette séquence temporelle présente 4 stades : Le stade 0 comprend une période avant la dégénérescence neuronale démontrable ou la présentation clinique. Le stade 1 commence lorsque la neurodégénérescence peut être détectée par un changement mesurable par les biomarqueurs. Le stade 2 se caractérise par l'apparition de signes et symptômes cliniques définis, qui peuvent inclure des manifestations cognitives ou motrices de la MH. Le stade 3 débute avec un changement dans la capacité fonctionnelle d'un individu, comme des difficultés à effectuer les activités de la vie quotidienne. Le stade 3 est lui aussi divisé en minime, modéré et sévère (Tabrizi et al. 2022a). Ainsi, L'adoption de cette stadification pourrait faciliter la conception d'essais cliniques ciblant les individus MH avant le diagnostic moteur clinique et permettre la standardisation des données dans les études cliniques.

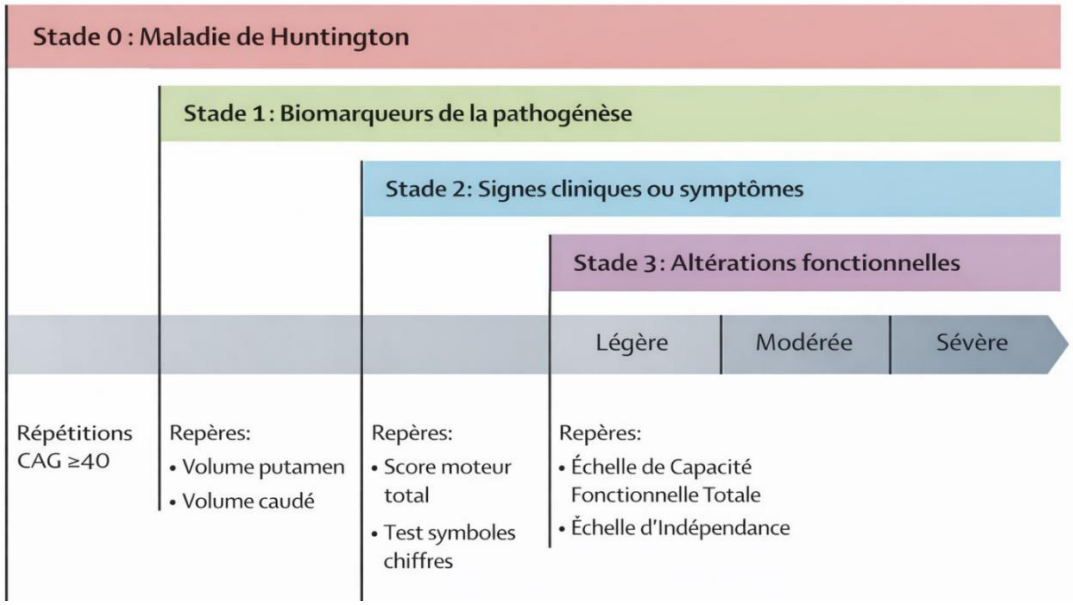


Figure 3 : Représentation de la séquence temporelle de la progression des stades dans le système de classification intégrée de la MH (Traduit de Tabrizi et al., 2022). *Du diagnostic officiel jusqu'à l'aggravation des symptômes.*

1- Troubles moteurs

Parmi les troubles moteurs, la chorée est le signe clinique le plus fréquent. Elle se traduit par la présence de mouvements incontrôlés, non rythmiques et de courte durée. Ce sont des contractions spontanées pouvant toucher le visage, les membres, le tronc. Cela conduit à l'altération de fonctions quotidiennes comme la parole, la déglutition, la marche ou l'équilibre (Jankovic et Roos 2014). La dystonie se manifeste par des contractions musculaires persistantes, provoquant des postures anormales ou des mouvements de torsion (Jankovic 2009). Certains patients présentent également des myoclonies : il s'agit de secousses musculaires soudaines, brèves et involontaires. Ces mouvements moteurs incontrôlés, constituent un handicap majeur dans la vie quotidienne. La bradykinésie se traduit par une lenteur des mouvements et une instabilité posturale. Elle est responsable de nombreuses chutes et blessures (Ghosh et Tabrizi 2018). Au stade terminal, la bradykinésie peut évoluer vers l'akinésie.

La maladie de Huntington se caractérise ~~donc~~ par une grande diversité de troubles moteurs : certains patients peuvent présenter l'ensemble des symptômes, tandis que d'autres n'en développeront qu'une partie.

Les troubles moteurs restent une base sûre de diagnostic. En effet, ils sont le plus souvent remarqués par les patients et/ou leur entourage. Plusieurs études, comme COHORT, PREDICT-HD ou encore REGISTRY, ont mis en évidence que des symptômes non moteurs pouvaient être notés de nombreuses années avant les premiers symptômes moteurs (G. P. Bates et al. 2015a). Les symptômes moteurs sont traditionnellement centraux dans le diagnostic et le suivi car ils peuvent être quantifiés par l'examen neurologique. Cette mesure est assez sensible car pour la plupart des individus, les atteintes motrices évaluées par l'échelle UHDRS sont nulles au départ donnant une bonne référence et permettant de mesurer une déviation, même subtile de cette référence (R. Reilmann et al. 2013).

Pour l'évaluation des symptômes moteurs, l'échelle UHDRS comporte une sous-partie spécifique appelée score moteur total (UHDRS-TMS) (« Unified Huntington's Disease Rating Scale » 1996a). On y retrouve des critères d'évaluation pour les mouvements oculaires, la parole, la chorée, la dystonie, les mouvements alternatifs rapides, la bradykinésie et l'examen de la marche. Le score peut aller de 0 à 124.

D'autres mesures ont été développées, par exemple des mesures simples et facilement quantifiables de la fonction motrice obtenues en tapant sur un clavier d'ordinateur, la vitesse et la régularité donne un moyen simple de quantifier les performances motrices (Paulsen et al. 2008). L'étude TRACK-HD a utilisé une autre méthode en se basant sur des transducteurs de force pour quantifier la réponse motrice de leurs patients lors de la batterie de tests moteurs appelée Q-Motor (R. Reilmann et al. 2013). Il est même possible de mesurer la variabilité de la force de la langue et la variabilité de la force de préhension (Tabrizi et al. 2012; Ralf Reilmann et al. 2014).

2- Troubles cognitifs

Les troubles cognitifs précèdent de plusieurs années les troubles moteurs et évoluent de manière graduelle (Tabrizi et al. 2012; Stout et al. 2012). Les troubles cognitifs comprennent différentes manifestations retrouvées dans d'autres maladies dont la neurodégénérescence qui touche le striatum et la région sous-corticale (Peavy et al. 2010). Il existe une variabilité de présentation des troubles cognitifs (Snowden et al. 2002).

On observe chez les patients MH, un ralentissement cognitif, une diminution de l'attention, une diminution des fonctions exécutives telles que l'adaptabilité, la vérification, l'organisation et de la planification (Folstein 1989). Ces caractéristiques s'aggravent avec le temps, l'élocution se détériorant plus rapidement que la compréhension (Walker 2007a). On note aussi des difficultés dans les fonctions visuospatiales et la reconnaissance des émotions (Stout et al. 2012; Snowden et al. 2002; Stout et al. 2011). D'autres aspects comme la mémoire à court terme ou la richesse du langage peuvent être altérés (Duff et al. 2010). Il faut par ailleurs noter une frontière floue entre cognition et psychiatrie pour certains aspects cognitifs, comme pour les problèmes d'initiation, l'anosognosie ou encore la désinhibition (Duff et al. 2010).

Les troubles cognitifs affectent de nombreuses fonctions essentielles, influençant directement la vie sociale, professionnelle et l'autonomie du patient. Leurs conséquences sont notables avec l'arrêt du travail, l'incapacité de conduire et la dépendance envers l'entourage et les professionnels de santé.

3- Troubles psychiatriques

Les symptômes psychiatriques varient d'un patient à l'autre. Ils peuvent se traduire par de la dépression, de l'anxiété, de l'apathie, de l'irritabilité et des troubles obsessionnels- compulsifs. La moitié des patients présentent des symptômes dépressifs (Thompson et al. 2012). Le taux de suicide est estimé de 5 à 10 fois supérieur à celui de la population générale (Robins Wahlin et al. 2000; Baliko et al. 2004) et une étude a mis en évidence que plus de 25% des patients avouent avoir tenter au moins une fois de se suicider (Farrer 1986). L'irritabilité, même si elle n'est pas caractéristique de la MH, semblerait être un des premiers symptômes ainsi que l'apathie qui touche la plupart des patients (Thompson et al. 2012). Track-HD a montré qu'une augmentation significative de l'apathie peut être détectée même chez les patients dans la période pré-manifeste et prône qu'il s'agit du meilleur indicateur psychiatrique puisqu'il est assez sensible pour montrer une progression longitudinale claire (Tabrizi et al. 2012).

C- Diagnostic et prise en charge thérapeutique

La MH peut aisément être diagnostiquée chez les patients présentant des symptômes typiques et/ou des antécédents familiaux. Toutefois, d'autres maladies familiales sont indiscernables phénotypiquement de la MH (Toyoshima et al. 2004). On peut, par exemple, citer la Huntington's disease like 2, très fréquente dans la population afro-américaine et les Sud-Africains (Margolis et al. 2004). De plus, 8% des patients environ n'ont pas d'antécédents familiaux (Almqvist et al. 2001), donnant ainsi un rôle primordial à la caractérisation phénotypique de la maladie, son diagnostic et la validation de ce dernier par biologie moléculaire.

1- Tests génétiques et diagnostic prénatal

L'analyse moléculaire de la MH en ciblant directement l'expansion CAG dans le gène *HTT* est disponible en pratique clinique depuis que la mutation a été identifiée en 1993 (Craufurd et al. 2015). Ce test génétique peut être utilisé pour confirmer le diagnostic clinique chez les personnes symptomatiques ou pour prédire si une personne à risque développera la maladie ou non. Un résultat positif indique que la personne développera un jour la MH mais ne donne aucune indication de son état clinique au moment du test (Craufurd et al. 2015). Malgré une technique validée, une accessibilité simplifiée (au moins dans les pays développés) et un grand intérêt de la population à risque, montré par les sondages, une étude en Allemagne, Autriche et Suisse a mis en évidence que moins de 5% de la population à risque choisit de se soumettre au dépistage génétique prédictif

(Laccone et al. 1999). Une équipe multidisciplinaire est nécessaire pour la réalisation du test prédictif qui doit être réalisée en plusieurs étapes distinctes comprenant un entretien psychologique. Les individus demandent en général l'analyse pour aider à faire des choix de carrière et/ou de famille, d'autres choisissent de ne pas le faire faute de traitement curatif (Lesca et al. 2002). Le résultat positif d'un test peut avoir de lourdes répercussions, comme un syndrome dépressif ou des pensées suicidaires (Almqvist et al. 2001). Les protocoles actuels excluent le dépistage des enfants ou des individus fragiles psychologiquement et le choix est laissé aux futurs parents de faire un diagnostic pré natal ou un diagnostic pré implantatoire (Tibben et al. 1990). Ils sont cependant beaucoup moins demandés que les tests prédictifs (Moutou et al. 2004). En effet, le diagnostic prénatal (DPN) peut être écarté par les parents car un résultat positif entraîne une réflexion quant à la poursuite de la grossesse ou à sa potentielle interruption. Cependant il est également possible de réaliser un diagnostic génétique préimplantatoire (DPI) où seuls les embryons non à risque sont implantés (Moutou et al. 2004). Ces sujets restent sensibles aussi bien pour les patients que pour les familles.

2- Corrélations entre génétique et phénotype

L'âge d'apparition des symptômes de la MH est très variable, même si la moyenne est de 45 ans, il a été démontré qu'il dépend fortement de la longueur de l'expansion du triplets CAG au sein du gène *HTT* (Langbehn et al. 2010). En effet plus le nombre de répétitions est important plus la MH sera précoce. Il influence également la progression de la maladie même si celle-ci est moins importante (Rosenblatt et al. 2012). Il a été montré que la longueur de la répétition représente environ 56% de la variation observée dans l'âge d'apparition des premiers symptômes moteurs (Gusella et al. 2014).

In fine la longueur de l'expansion CAG explique entre 50 à 70% de la différence observée dans l'apparition des symptômes moteurs et la variance résiduelle a une héritabilité de plus de 0.50 (Gusella et MacDonald 2006). Une formule mathématique a été proposée par Penney et al. en 1997, AGE x (CAG-L), où AGE est l'âge actuel de l'individu, CAG est la longueur de la répétition et L est une constante (Penney et al. 1997). Les auteurs ont montré que c'était un bon prédicteur de la pathologie, notamment au niveau striatal en comparant leur prédiction avec les résultats d'autopsie. On lui attribue souvent la dénomination de CAP score (produit de l'âge CAG), par la suite plusieurs grandes études cliniques ont utilisé ce score notamment TRACK-HD et PREDICT-HD (Y. Zhang et al. 2011).

Il est possible d'ajouter des constantes à partir de cette formule de base, ainsi Ross et al. ont utilisé un CAP score normalisé : CAP = 100 x AGE x ((CAG – L) ÷ S) où **L** et **S** sont des constantes. **S** est une constante de normalisation choisie pour fixer le CAP score à 100 à l'âge prévu de l'apparition de la maladie, selon les estimations de Langbehn *et al.* 2010) et **L** est une constante d'échelle qui fixe la longueur CAG approximativement à l'extrémité inférieure de la distribution pertinente pour la pathologie de la MH. Ce score permet d'avoir un indice de la durée et de la gravité de l'exposition de l'individus aux effets de la mutation du gène *HTT*, cela permet par exemple de fournir des données longitudinales à partir de cohortes de patients présentant une gamme d'âge et de longueur de répétition CAG différentes (Ossato et al. 2010). Par ailleurs, il a été montré que des âges de début plus précoces ou tardifs que prévu se concentraient dans certaines familles, ce qui implique l'existence de facteurs génétiques héréditaires autres que la longueur des répétitions CAG (J.-M. Lee et al. 2015).

Une découverte importante a été l'identification de gènes de réparation de l'ADN comme modificateurs de l'âge d'apparition de la MH dans des études d'association pangénomique (GWAS) : la nucléase *FAN1*, la ligase *LIG1* et les gènes de réparation des mésappariements *MLH1, MSH3, PMS1, PMS2* (Wright et al. 2020). Ainsi des variants du gène *MSH3* ont été associés au taux d'expansion somatique, à l'âge de la phénoconversion et à la progression de la maladie (Flower et al. 2019).

Il existe une interruption normale CAA vers la fin du tractus CAG du gène *HTT*. Le triplet CAA code aussi pour une Glutamine, c'est-à-dire le même acide aminé que le triplet CAG. Or, cette interruption est parfois manquante et ces individus présentent un début de symptômes de la MH plus précoce. En effet, l'absence d'interruption de CAA a accéléré l'apparition de la maladie de 2 ans, tandis que la présence de CAA supplémentaire l'a retardée de six ans. Ainsi l'interruption CAA empêcherait l'allongement du tractus CAG ce qui suggère son rôle dans la stabilité de la séquence dans les lignées somatiques et germinales (J.-M. Lee et al. 2019).

3- Prise en charge thérapeutique

Une fois le diagnostic validé, le traitement symptomatique peut être instauré. Les progrès actuels de la recherche n'ont pas encore permis de trouver un traitement curatif. *Craufurd et al.* ont montré que la survie des patients dans la région du lac Maracaibo au Venezuela, où l'accès aux soins est clairement restreint, est semblable à celles des populations des pays développés (Craufurd D, Snowden, J 2022).

Approches pharmacologiques

Dès l'apparition des chorées, les traitements classiques sont les médicaments anti choréiques comme le tétrabénazine ou les antipsychotiques (Huntington Study Group 2006). La tétrabénazine est un inhibiteur de la VMAT2 (vesicular monoamine transporter type 2), elle bloque la capacité du transporteur à déplacer les monoamines dans les vésicules, perturbant ainsi le processus de stockage, ce qui diminue la libération de dopamine. Malheureusement les effets secondaires de ces médicaments sont la bradykinésie, la rigidité, la dépression ou la sédation. Une alternative à la tétrabénazine est l'olanzapine efficace sur la chorée et les troubles psychiatriques. Les troubles psychiatriques sont également traités avec des antidépresseurs, anxiolytiques ou antipsychotiques. Un traitement individualisé et spécifique aux symptômes sera proposé pour chaque patient (Youssov et al. 2025).

Rééducation et interventions non médicamenteuses

L'ensemble des symptômes liés à la maladie de Huntington nécessite la prise en charge du patient par une équipe multidisciplinaire dans le cadre d'un parcours de soins coordonné. Les troubles psychiatriques sont traités par voie médicamenteuse mais les patients sont également suivis par un psychologue et/ou un psychiatre. Le suivi et le soutien psychologique sont également proposés aux proches du patient directement touchés par la maladie. Des groupes de soutien sont également disponibles pour les patients et leur famille pour aider, informer, mettre en contact avec des professionnels ou même des particuliers se trouvant dans la même situation.

Il est conseillé une prise en charge par un orthophoniste, un kinésithérapeute, un diététicien, un ergothérapeute ou encore un dentiste. Le but de cette prise en charge est d'accompagner le patient dans la progression de ses symptômes, en essayant d'adapter son quotidien pour lui permettre de garder un maximum d'autonomie. Ralentir la progression notamment des troubles moteurs avec de la rééducation, du travail d'équilibre et de marche sont les objectifs du kinésithérapeute tandis que la motricité fine sera évaluée par l'ergothérapeute. Les rendez-vous d'orthophoniste permettent de travailler la diction et de valoriser le langage, alors que le diététicien s'assure de la bonne alimentation du patient. Le groupe européen « Standards of Care » a recensé les bienfaits de l'ajout de ces acteurs dans l'équipe médicale du suivi des patients (Simpson, S. A. & Rae, D. 2012).

D- Aspects sociaux et éthiques

Il paraissait essentiel de réserver une partie de cette introduction aux patients et aux familles car si le dépistage de la MH a de forte répercussion sur l'individu, il en a également sur ses proches et impacte directement la dynamique familiale.

1- Impact de la MH sur les patients et les familles

L'impact de la MH sur la qualité de vie liée à la santé s'étend sur toute la vie d'un patient et commence bien avant le diagnostic (**Figure 4**).

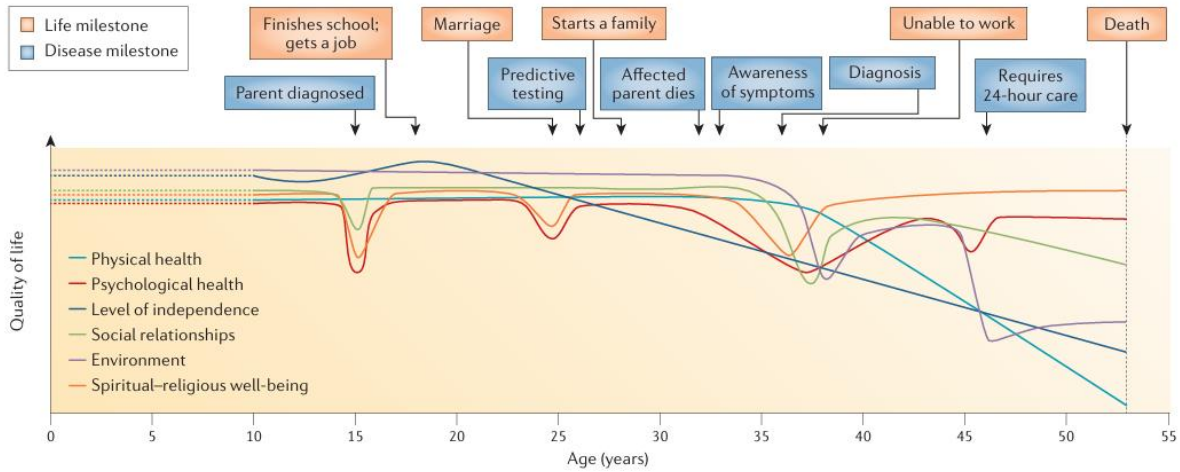


Figure 4 : Impact de divers évènements et de l'évolution de la maladie sur la qualité de vie (G. P. Bates et al. 2015a). *La qualité de vie est évaluée ici via plusieurs critères : la santé mentale et physique, le degré d'indépendance, les activités sociales, l'environnement mais également la foi/espoir. On peut voir selon cette variété de critères que la MH impacte la qualité de vie avant les premiers symptômes chez l'individu concerné puisque le premier grand virage est le diagnostic d'un parent. Survient ensuite la prise de conscience de l'enfant de sa propre condition qui va forcément moduler ses prises de décisions. Le deuxième gros virage est le début d'une vie de famille (mariage/enfants) puisqu'il rime souvent avec tests prédictifs, doutes et prises de décisions cruciales pour le futur de la vie de famille, pouvant amener beaucoup de tensions et des troubles d'ordre psychologiques. Le dernier virage important est la pose du diagnostic de l'individu.*

L'évaluation de la qualité de vie est difficile pour trois raisons : l'influence de la maladie sur la qualité de vie (QOL) tout au long de la vie, la méconnaissance/déni/progression de la démence chez les patients et l'absence jusqu'à récemment d'outils d'évaluation. Cependant, des études ont montré que la MH avait un impact dès l'apparition des premiers symptômes chez un parent, provoquant une prise de conscience progressive de l'enfant de son propre risque. Beaucoup de patients expliquent qu'ils ont subi des événements négatifs lors de leur enfance, particulièrement des conflits avec leurs proches, des difficultés à accomplir les tâches ou encore des tensions financières ou sanitaires en lien avec la MH (van der Meer et al. 2012).

Driessnack *et al.* ont mis au point le HD Teen Inventory, qui évalue qualitativement les questions et les préoccupations communes aux adolescents, notamment les changements dans les relations personnelles et familiales, le risque génétique, l'information sur la maladie et le soutien émotionnel (Driessnack et al. 2012). Au-delà de l'adolescence, les mêmes préoccupations touchent les adultes au niveau des activités sociales, mais également pour toutes les décisions importantes telles que le mariage ou la procréation (**Figure 5**) (Quaid et al. 2008).

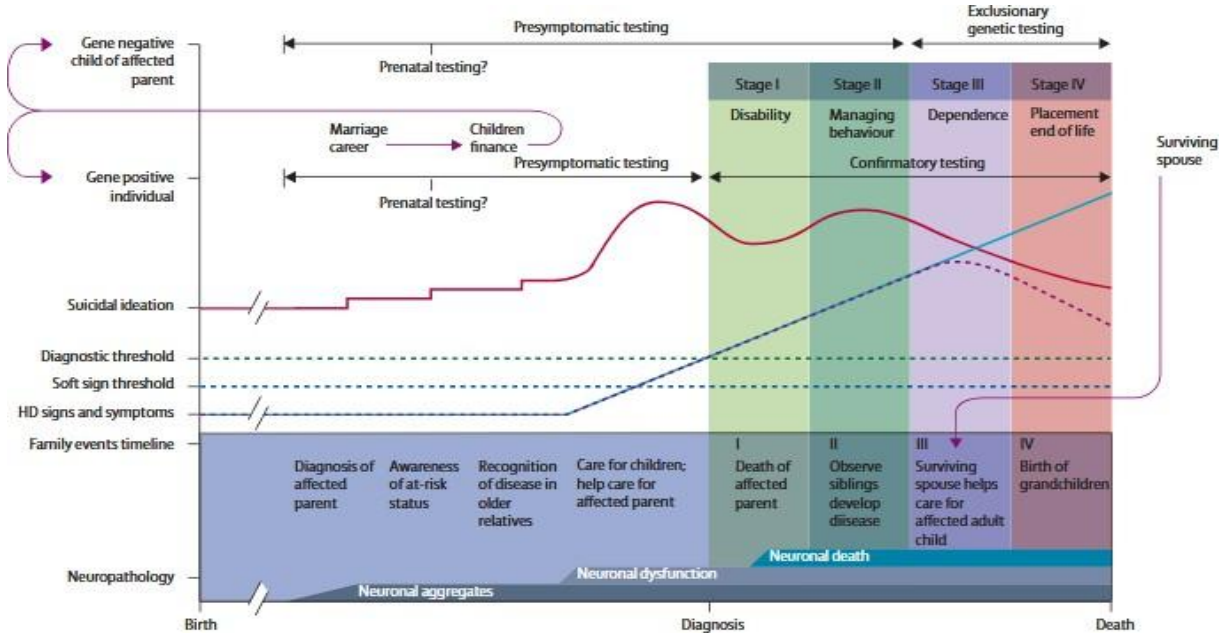


Figure 5 : Schéma mettant en évidence le développement de la maladie en parallèle des répercussions dans un foyer (Ross et al. 2014). *La procréation est un enjeu majeur dans la maladie, car elle implique souvent une prise de décision vis-à-vis d'un possible test prédictif et/ou test prénatal ou bien préimplantatoire. Ces tests peuvent être à l'origine de tensions ou de problèmes psychologiques.*

Il est maintenant établi que des changements dans la cognition et l'humeur des individus porteurs apparaissent des années avant les symptômes moteurs et des outils spécifiques en lien avec ces modifications sont en développement pour évaluer leurs impacts sur la qualité de vie (Hocaoglu et al. 2012).

2- Politique de santé publique et prise en charge

Un suivi social est important dès l'annonce de la maladie pour permettre au niveau de vie des patients d'être le moins impacté possible. En France, tous les malades Huntington peuvent bénéficier d'aides financières selon certaines conditions pour s'assurer un minimum de ressources. En fonction de l'âge et de la situation, les patients peuvent bénéficier de l'allocation adulte handicapée, de la prestation de compensation du handicap, de la pension d'invalidité ou de l'allocation personnalisée d'autonomie. Il existe également des structures d'accueil, comme les maisons d'accueil spécialisées, mais d'autres solutions voient le jour. En effet l'association « Un palier, deux toits » propose un projet pilote d'habitat inclusif partagé pour les jeunes adultes atteints de MH, proposant un cadre de vie ordinaire, une présence permanente d'auxiliaire de vie, favorisant ainsi la sociabilisation et l'autonomie (Cubis et al. 2025). A l'heure actuelle, les patients en fin de vie peuvent bénéficier des soins palliatifs. Au stade avancé, l'autonomie, la dignité et le confort, l'interaction sociale significative/communication, la sécurité mais aussi le bien-être/plaisir/divertissement doivent être préservés (Gardner et Maur 2022). Des chercheurs des Pays-Bas, où le suicide médical est légal, ont souligné l'importance d'une discussion patient/médecin sur le plan de fin de vie et ont mis en avant l'impact positif de l'existence de cette possibilité sur la qualité de vie des patients, notamment au niveau de leur autonomie et de leur bien-être (Booij et al. 2014). Des études complémentaires permettraient possiblement une évolution vers une prise de décision nationale voire internationale à ce niveau. La principale interrogation reste la manière d'évaluer la qualité de vie des patients aux stades terminaux de la maladie.

II- Physiopathologie et Neurodégénérescence

A- Altérations cérébrales structurelles

La MH est une maladie neurodégénérative touchant les ganglions de la base, composés du striatum (noyau caudé et putamen), de la substance noire compacte, la substance noire réticulée, le globus pallidus (externe et interne) et des noyaux sous-thalamiques (**Figure 6**) (Middleton and Strick 2000).

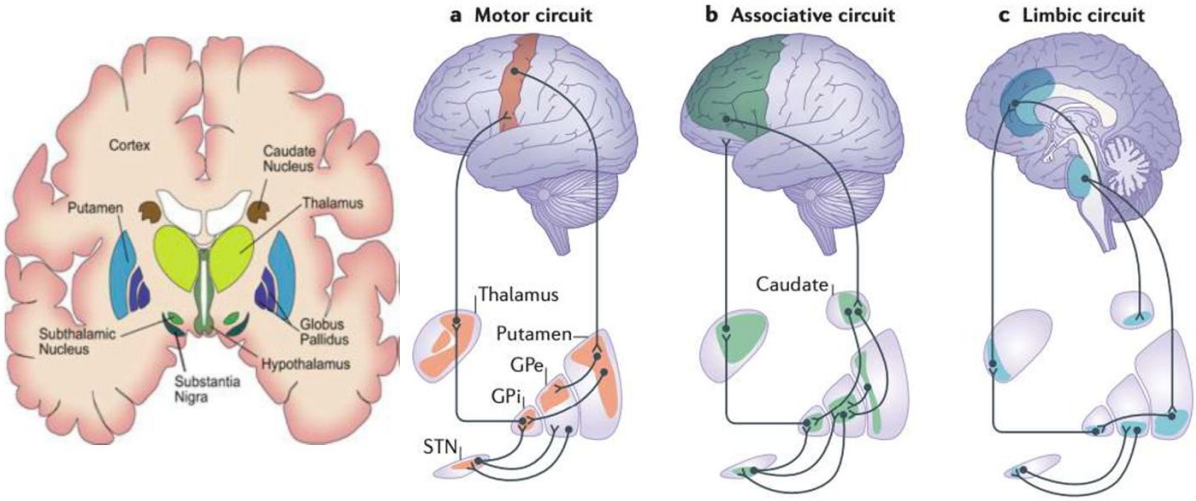


Figure 6 : Schéma fonctionnel des ganglions de la base (Myers et al. 1991 et Jahanshahi et al., 2015)*. Le schéma anatomique permet de localiser chaque composante des ganglions de la base ainsi que leur organisation en circuit moteur (a), associatif (b) et limbique (c). Abréviations STN : noyau sous-thalamique ; GPe globus pallidus externe ; GPi globus pallidus interne.*

Ces structures jouent un rôle clé dans le contrôle moteur, et plus précisément dans la préparation synchronisée des ordres moteurs. Pour ce faire, ils reçoivent des informations du cortex moteur et notamment du cortex moteur primaire. La boucle motrice « striato-thalamo-corticale » est ensuite mise en jeu pour traiter ces informations (Alexander et al. 1986).

Mais, les ganglions de la base participent également à diverses fonctions cognitives et comportementales via les boucles cortico-sous-corticales associative et limbique respectivement (Temel et al. 2005; Jahanshahi et al. 2015). Le circuit associatif est à l'origine des processus cognitifs de sélection de l'action et implique notamment le noyau caudé et le cortex préfrontal dorsolatéral. Le circuit limbique intervient dans les aspects motivationnels du comportement et implique le striatum ventral, le cortex orbitofrontal et le cortex cingulaire antérieur.

Les études d'imagerie, telles que les IRM, montrent que l'atrophie striatale peut être détectée jusqu'à 20 ans avant le diagnostic de la MH et précède significativement la détection des changements cognitifs ou moteurs, qui ont tendance à être identifiés de manière robuste seulement environ 10 ans avant le diagnostic (Papoutsi et al. 2014; Tabrizi et al. 2022a). Cette atrophie du striatum suit un gradient topographique dorsoventral et caudorostral (Vonsattel et al. 1985). En effet, la queue et le corps du noyau caudé sont atteint plus tôt et de manière plus sévère que la tête (**Figure 7A**) (Papoutsi et al. 2014). De même, l'entrée et la sortie de la boucle cortico-striato-thalamique possède également une organisation topographique. Selon leur type, les informations motrices et sensorielles sont projetées vers le striatum dorsal, tandis que les informations associatives et limbiques sont projetées vers le striatum ventral (**Figure 7B**) (Redgrave et al. 2010). Ainsi, le schéma topographique de la dégénérescence striatale dans la MH se reflète dans la chronologie des déclins cognitifs et ou moteurs. D'autres structures cérébrales sont également touchées : les couches corticales 3, 5 et 6, la région CA1 de l'hippocampe (Spargo et al. 1993), le gyrus angulaire du lobe pariétal (Macdonald et al. 1997), les cellules de Purkinje au sein du cervelet (Jeste et al. 1984), des noyaux de l'hypothalamus (H. P. Kremer et al. 1991) et le complexe centromédian-parafasciculaire du thalamus (Heinsen et al. 1999). Ainsi, le dysfonctionnement des ganglions de la base dans la MH associe fréquemment troubles moteurs et cognitivo-comportementaux (Tremblay et al. 2015).

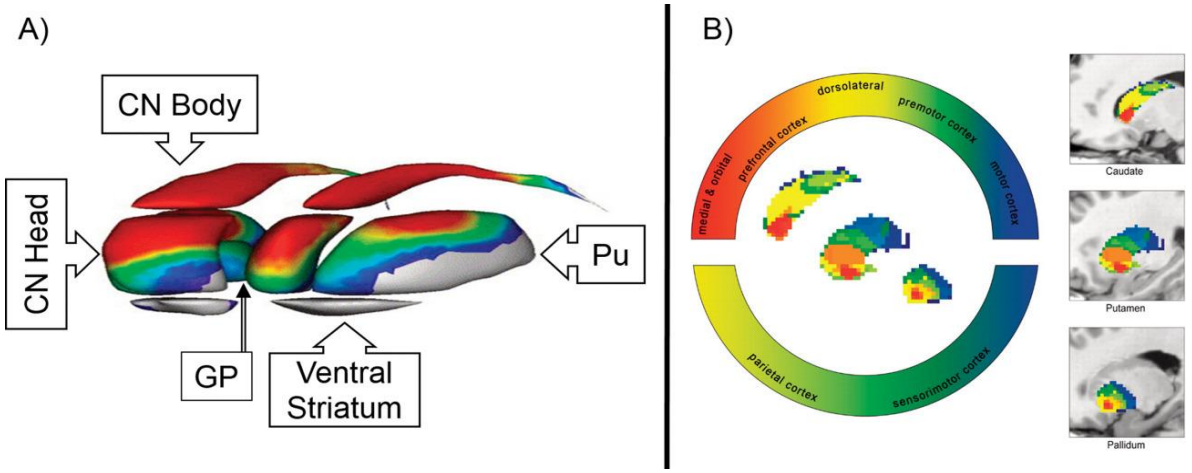


Figure 7: Représentation topographique de l'atteinte structurale et de la connectivité au sein de l'axe cortico-striatal (Papoutsi et al. 2014). *(A) Les patients atteints de la MH présentent une forte atrophie dans le corps du noyau caudé et dans la partie dorsale de la tête du noyau caudé et du putamen, ainsi qu'une atteinte plus légère de la partie ventrale du striatum. L'atrophie striatale se fait selon un axe dorso-ventral, avec une perte de 57% du striatum dorsal (corps du noyau caudé), une perte de 51.5% dans le striatum médian (tête du noyau caudé et putamen) et 38% du striatum ventral chez les patients MH. (B) La connectivité neuronale liant les différentes parties du cortex (médian et cubital, dorsolatéral, moteur, pariétal ou sensorimoteur) aux ganglions de la base, suit un axe rostro-caudale. Abréviations : CN : Noyau Caudé, GP : Globus pallidus et Pu : Putamen.*

B- Atteintes fonctionnelles de la boucle cortico-striato-thalamique

Au-delà des structures touchées, qu'en est-il de l'organisation de leurs projections neuronales ? Le striatum reçoit des informations glutamatergiques excitatrices du thalamus et de la majeure partie du cortex cérébral. Le striatum module ensuite la rétroaction excitatrice thalamique vers le cortex grâce à un réseau complexe de connexions avec d'autres régions des ganglions de la base, notamment la substance noire (SN) et le globus pallidus (GP) (Papoutsi et al. 2014) (**Figure 8**).

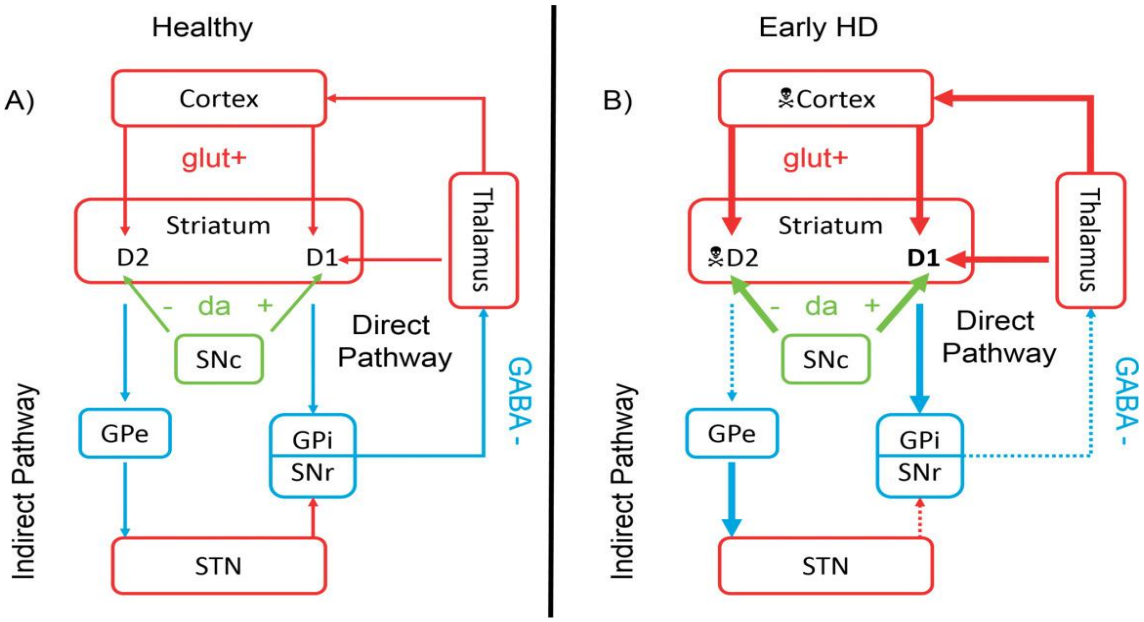


Figure 8 : Schéma présentant les connexions neuronales de l'axe striato-thalamo-cortical (Papoutsi et al. 2014). *Chez des individus sains (A) le thalamus est inhibé par le globus pallidus interne (GPi) et la substance noire réticulée (SNr) via leurs projections GABAergiques. (B) Chez les patients atteints de MH, le dysfonctionnement du cortex implique une libération de glutamate accrue induisant une hausse du taux de dopamine au sein du striatum. Il en résulte une dégénérescence sélective des neurones moyens épineux du striatum (MSN) exprimant les récepteurs D2 soit la voie inhibitrice (voie indirecte) et une suractivation des MSN D1, voie excitatrice (voie directe). Le déséquilibre induit explique les symptômes moteurs observés selon deux hypothèses. Soit la dégénérescence des MSN de la voie indirecte entraîne une diminution de l'inhibition du globus pallidus externe (GPe) entraînant une augmentation de libération de GABA par ce dernier. Ce qui a pour effet d'inhiber les noyaux sous-thalamiques (STN) diminuant la libération de glutamate et entraînant une activité réduite du complexe globus pallidus interne (GPi)-substance noire réticulée (SNr). L'autre hypothèse serait que la suractivation de la voie directe conduit à une augmentation de la libération de GABA par le striatum et donc à: l'inhibition du complexe GPi et SNr. Dans les deux cas, le résultat est une levée de l'inhibition du thalamus qui se trouve suractivé, ce qui augmente sa libération de glutamate. In fine, le cortex est lui aussi à son tour suractivé, expliquant dans un premier temps l'hyperkinésie. Abréviations : SNc : Substance Noire compacte, GPe :Globus Pallidus externe, GPi :Globus Pallidus interne, SNr : Substance Noire réticulée, STN : Noyaux Sous-Thalamiques.*

Cette connectivité cortico-striato-thalamique se décompose en deux voies vers le thalamus, la voie directe passant par le GP interne (GPi) et la SN rostrale et une voie indirecte avec un passage intermédiaire vers le GP externe (GPe) et les noyaux sous-thalamique (STN) (**Figure 8-A**) (Papoutsi et al. 2014). Pour simplifier, la voie directe supprime l'inhibition du thalamus, tandis que la voie indirecte la renforce, ce qui a pour effet de renforcer ou de supprimer l'entrée excitatrice thalamique au cortex, respectivement. L'activation de chaque voie est partiellement modulée par l'apport de dopamine provenant de la partie caudale de la SN. La dopamine excite les MSN via les récepteurs D1 de la voie directe alors qu'elle inhibe les MSN avec les récepteurs D2 de la voie indirecte qui sont plutôt stimulés par l'entrée glutamatergique (Papoutsi et al. 2014). Les études sur modèles animaux ont permis de mettre en évidence que ces voies agissent de manière coordonnée pour activer, exécuter et terminer le mouvement. Elles ont toutefois des rôles fonctionnels propres. Lors de l'initialisation du mouvement, les MSN de la voie directe semblent être impliqués dans la promotion d'un mouvement volontaire, alors que le rôle des MSN de la voie indirecte est d'inhiber les réponses opposées (Cui et al. 2013; X. Jin et al. 2014). Des études post-mortem, ont mis en évidence qu'au début de la maladie, les MSN de la voie indirecte sont particulièrement vulnérables (André et al. 2010). La dégénérescence de ces neurones entraîne la désinhibition du thalamus. Il semblerait qu'au même moment la voie directe soit également suractivée en raison de l'excès de glutamate extracellulaire, conduisant à une désinhibition supplémentaire du thalamus (**Figure 8-B**) (André et al. 2010). Ainsi selon le modèle proposé par *André et al.* les premiers stades de la maladie sont caractérisés par le dysfonctionnement de ces deux voies, aboutissant à un débordement d'activité glutamatergique vers le cortex et expliquant les symptômes moteurs d'hyperkinésie. A des stades plus tardifs, les neurones de la voie directe (exprimant le récepteur D1/excitateur) dégénèrent également ce qui entraîne une sévère dysfonction motrice et l'hypokinésie (Goodchild et al. 2013).

C- La neurodégénérescence

1- Des altérations neurodéveloppementales

Plusieurs hypothèses quant à la chronologie de la MH ont été émises. L'hypothèse la plus classique est celle du « cerveau vieillissant », basée sur la progression avec l'âge des dysfonctionnements et de la neurodégénérescence. En effet, certaines études mettent en évidence que le cerveau pourrait être exempt de neurodégénérescence dans les premiers stades de la maladie (Gómez-Tortosa et al. 2001; Mizuno et al. 2000; R. H. Myers et al. 1991).

Cependant, des travaux plus récents émettent l'hypothèse « neurodéveloppementale ». Cette hypothèse défend la présence de la pathologie dès le développement embryonnaire. Les troubles neurodéveloppementaux seraient compensés par la plasticité cérébrale et la capacité du cerveau à s'adapter. L'apparition progressive des symptômes au cours de la vie, traduirait la perte graduelle de cette plasticité avec le vieillissement cérébral. Cette hypothèse est appuyée par la neuro-imagerie qui montre que les patients asymptomatiques présentent des altérations cérébrales 10 à 20 ans avant l'apparition des symptômes (Elizabeth H. Aylward et al. 2011; Papoutsi et al. 2014). L'étude de la cohorte Kids-HD (enfants à risque pour la MH de 6 à 18 ans mais sans MH juvénile) a montré un développement anormal du striatum sans symptômes moteurs chez ces enfants. Les travaux menés par IRM fonctionnelle proposent l'hypothèse d'une compensation de l'activité striatale par le cervelet (van der Plas 2020; van der Plas et al. 2019). Ce développement anormal du striatum se retrouve également dans les modèles murins de la MH tels que les souris zQ175 (Chuangchuang Zhang et al. 2020) et Q111 (Molero et al 2016) avec une mise en évidence d'une altération de la balance prolifération/différenciation et mort cellulaire des neuroprogéniteurs striataux.

Le striatum ne serait pas la seule région touchée car il a également été montré chez les souris Q111 des anomalies de division des neuroprogéniteurs corticaux, de migration neurale, de maturation dendritique et de croissance axonale, dès le neurodéveloppement (Braz et al. 2022). Ceci s'accompagne d'un défaut d'excitabilité et d'activité synaptique au sein du réseau cortical avec une altération de l'arborisation dendritique dès la première semaine de vie. Ces déficits sont rectifiés de manière physiologique dès la fin de la deuxième semaine de vie. De plus, un traitement à l'ampakine CX516 (modulateur allostérique des récepteurs AMPA) lors de la première semaine de vie a permis de retarder l'apparition des symptômes à l'âge adulte chez ces animaux, renforçant cette hypothèse (Braz et al. 2022, 202).

2- Les neurones moyens épineux du striatum

Si les hypothèses diffèrent, le mécanisme de dégénérescence reste le même. Bien que la HTT soit exprimée de manière ubiquitaire dans l'ensemble du cerveau, des études histologiques ont montré que les neurones épineux moyens du striatum (MSN gabaergiques) étaient plus vulnérables à l'accumulation de la mHTT (**Figure 9**).

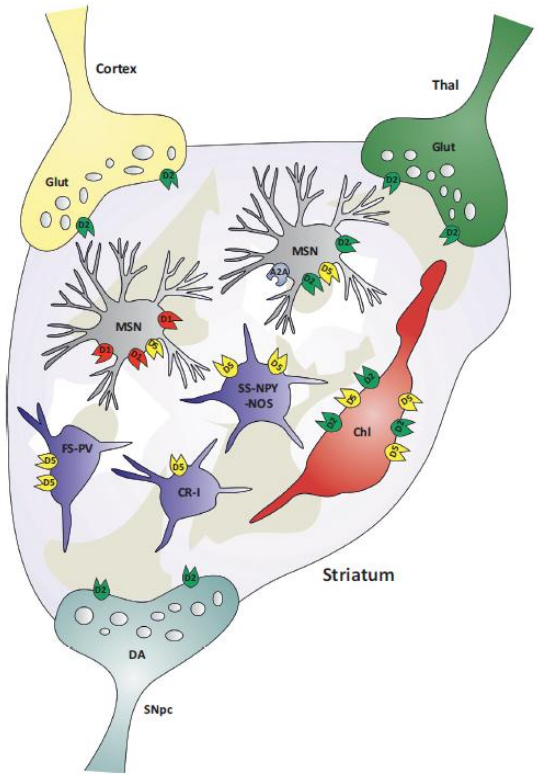


Figure 9: Microcircuit striatale (Goodchild et al., 2013). *Le striatum reçoit des inputs glutamatergiques (Glut) du cortex et du thalamus (Thal) et des inputs dopaminergiques (DA) de la substance noire compacte (SNpc). Le striatum est composé de neurones épineux moyens (MSN) GABAergiques sous-divisés en fonction de leur cible de projection, et des récepteurs à la dopamine qu'ils expriment. Les MSNs de la voie directe expriment le récepteur à la dopamine D1 activateur (en rouge) et les MSNs de la voie indirecte expriment le récepteur à la dopamine D2 inhibiteur (en vert). Le striatum contient également des autres interneurones : les interneurones à décharge rapide (FS) qui expriment la parvalbumine (PV), les interneurones à bas seuil de décharge qui expriment la calrétinine (CR-I) ou qui co-expriment le neuropeptide Y (NPY), la nitric oxide synthase (NOS) et la somatostatine (SS). Il y a également des interneurones qui sécrètent de l'acetylcholine (Chl).*

La dégénérescence des MSN peut être schématisée en deux phases. Initialement, elle affecte les MSN de la voie indirecte, présentant le récepteur D2 à la dopamine et principalement localisée au niveau de la voie indirecte. Ceci provoque un déséquilibre en faveur de la voie directe facilitatrice du mouvement, entraînant le phénotype hyperkinétique. Dans un second temps, ce sont les MSN de la voie directe présentant le récepteur D1 à la dopamine qui sont atteints aboutissant au phénotype hypokinétique. Les hypothèses concernant cette sensibilité préférentielle des MSN sont multiples et sont résumées dans le **Tableau I** (Bergonzoni et al. 2021)**.**

Tableau I : Mécanismes associés à la dégénérescence striatale dans la maladie de Huntington (Bergonzini et al., 2021)

Altered Mechanism*	Cellular and molecular phenotype*	References
BDNF-TrkB[1] signaling[a]	Decreased BDNF synthesis and transport	Zuccato et al., 2003; Gauthier et al., 2004
Glutamate reuptake[b]	Glutamate excitotoxicity: decreased expression of, NMDA, AMPA, kainate, and excitatory amino acid transporter 2	Cha, 2007; Rebec, 2018
ROS[2] production[b]	Increased: reduced expression of dopamine receptor D2R, nitric oxide synthase, and glutamate transporter GLT1	Cha, 2007; Kumar and Ratan, 2016
Mitochondrial functioning	Dysfunction: altered calcium homeostasis[c,d], reduced ATP synthesize[e], impaired mitochondrial trafficking[e], mitochondrial fragmentation, and crestae alterations[d] Dysregulation of electron transport chain genes[b,c] and consequent alteration in OXPHOS[3] complexes[b]	Panov et al., 2002; Seong et al., 2005; Costa et al., 2010; Li et al., 2010; Shirendeb et al., 2011; Liot et al., 2017
Gene expression[a,b,d,e,f]	Downregulated genes: neurotransmitter receptors, neurotransmitters, intracellular signaling molecules, and cytoskeletal/structural proteins Transcriptional changes also observed in glial cells	Luthi-Carter et al., 2000; Hodges et al., 2006; Cha, 2007; Tang et al., 2011; Ament et al., 2017
miRNA[4] biogenesis and expression[d]	miRNA and miRNA biogenesis-related molecules are upregulated at earlier stages and downregulated at later stages of HD	Johnson et al., 2008; Packer et al., 2008; Lee S.T. et al., 2011
Alternative splicing	Aberrant: dysregulated *TRANS*-splicing factors (PTBP1, SRSF6)[b]. Mutant *HTT* mRNA sequesters spliceosome components, dysregulating splicing, and causing toxicity[g]	Sathasivam et al., 2013; Lin et al., 2016; Schilling et al., 2019
Epigenetics	Preferentially closed chromatin state and transcriptional repression: reduced histone acetylation, increased histone methylation[e,f], decreased AcH3 levels, decreased number of genes bound by AcH3[f], increased H3K27me3 and decreased H3K4me3[e]	Ferrante et al., 2003; Stack et al., 2007; Luthi-Carter et al., 2010; Seong et al., 2010; McFarland et al., 2012; Biagioli et al., 2015; Hervás-Corpión, 2018; Pearl et al., 2020
Dopamine signaling[b]	Altered dopamine signaling has been associated with behavioral alterations observed in HD. Dopamine levels are increased at early stage and decreased at later stage	Chen et al., 2013; Koch and Raymond, 2019
Somatic CAG instability[b]	Increased in striatum and cerebral cortex	Telenius et al., 1994; Swami et al., 2009
Electrophysiology[d]	Changes in the balance of excitatory and inhibitory inputs to the direct and indirect pathway MSNs	Galvan et al., 2012

**Abbreviations are indicated with superscript numbers, models used in the studies with superscript letters.*
[1]Brain-derived neurotrophic factor-tropomyosin-related kinase receptor type B.
[2]Reactive oxygen species.
[3]Oxidative phosphorylation.
[4]MicroRNA.
[a]Knock-in mouse cell line (endogenous mouse Htt gene engineered to express a longer polyglutamine tract).
[b]HD patients.
[c]HD patients' lymphoblastoid.
[d]Full-length mouse model (overexpression of full-length mutant huntingtin).
[e]Knock-in mouse model.
[f]R6/2 N-terminal mouse model (overexpression of human mutant HTT exon 1).
[g]Cell-line overexpressing mutant huntingtin.

De nombreux travaux mettent en avant des perturbations du transport axonal et de la transmission synaptique en lien avec la perte de projections cortico-striatales. Les MSN présentent une diminution de la coloration des fibres nerveuses, des neurofilaments, de la tubuline, de MAP2 (Microtubule Associated protein 2) et un défaut de concentration en complexine 2. Or, ces éléments sont associés à la fonction synaptique, à l'intégrité du cytosquelette et au transport axonal, ce qui suggère un rôle important du dysfonctionnement du circuit cortico-striatal dans la pathogenèse de la maladie. Ces mécanismes impliquent une réduction d'apport du facteur de croissance BNDF (Zuccato et Cattaneo 2007; Lenoir et al. 2022), une augmentation du glutamate extracellulaire (André et al. 2010), une diminution de l'expression de gènes liés à l'activité synaptique (Ament et al. 2017), une altération des niveaux de dopamine (Koch et Raymond 2019) et, au niveau électrophysiologique, des changements dans la balance input excitateurs et inhibiteurs dans les MSN striataux (Galvan et al. 2012).

D'autres travaux mettent en jeu un dysfonctionnement multiple de la mitochondrie : altération des crêtes, perturbation de l'homéostasie calcique, diminution de l'expression des gènes impliqués dans la phosphorylation oxydative au niveau de la mitochondrie (Gènes OXPHOS), diminution de la synthèse d'ATP, production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et fragmentation mitochondriale (Liot et al. 2017; Bergonzoni et al. 2021).

Des modifications épigénétiques et génétiques sont également observées de manières spécifiques dans les MSN striataux: perturbation de l'épissage des ARNm, libération de l'ARN mitochondrial, empreinte épigénétique répressive et une instabilité accrue des expansions somatiques en triplets CAG en lien avec une activation des gènes de mésappariement-réparation (MMR) *Msh3* et *Pms1* (H. Lee et al. 2020; Brulé et al. 2025; N. Wang et al. 2025).

D- Apport des biomarqueurs et de la Neuro-imagerie dans la MH

1- L'imagerie cérébrale

Différentes techniques d'imagerie ont été utilisées pour suivre l'évolution de la MH. Les études PREDICT-HD, (800 patients présymptomatiques et 200 individus témoins) et TRACK-HD (120 patients présymptomatiques, 120 patients en stade manifeste précoce et 120 contrôles) ont permis des études longitudinales avec des mesures cliniques, neuropsychologiques et d'imagerie (**Figure 10**) (Tabrizi et al. 2013a; Ross et al. 2014).

L' IRM a permis de mettre en évidence d'important changements transversaux et longitudinaux notamment dans les volumes du striatum en période prémanifeste et manifeste (Sánchez-Castañeda et al. 2013). Le GP, le thalamus ainsi que l'hippocampe montrent également une atrophie progressive mais cette dernière est moins marquée que celle du striatum (Elizabeth H. Aylward et al. 2011). La matière grise et la matière blanche du cortex sont également touchées. L'atrophie de la matière grise est cependant moins marquée et ne permet pas de distinction en période prémanifeste. En revanche, la substance blanche est atteinte avant l'apparition des premiers symptômes moteurs, notamment au niveau du corps calleux (Elizabeth H. Aylward et al. 2011).

L'imagerie en tenseur de diffusion (DTI), une technique d'IRM permettant la cartographie *in vivo* de la microstructure et de l'organisation des tissus, a mis en évidence une anomalie dans l'orientation et l'intégrité des fibres neuronales dans la matière blanche et la matière grise sous-corticale, à la fois pendant la phase prémanifeste et la phase manifeste (Stoffers et al. 2010). Chez les patients présymptomatiques ne présentant aucune preuve de progression par des tests cliniques ou neuropsychiatriques sur une période de 2 ans, la technique DTI met en évidence une perte progressive du volume striatale (Kipps et al. 2005). De plus, des études ont montré une corrélation entre les mesures en DTI de la matière blanche et l'estimation (années) d'apparition de la MH (Stoffers et al. 2010), les mesures cognitives (Rosas et al. 2006), les mesures motrices et l'apathie (Delmaire et al. 2013).

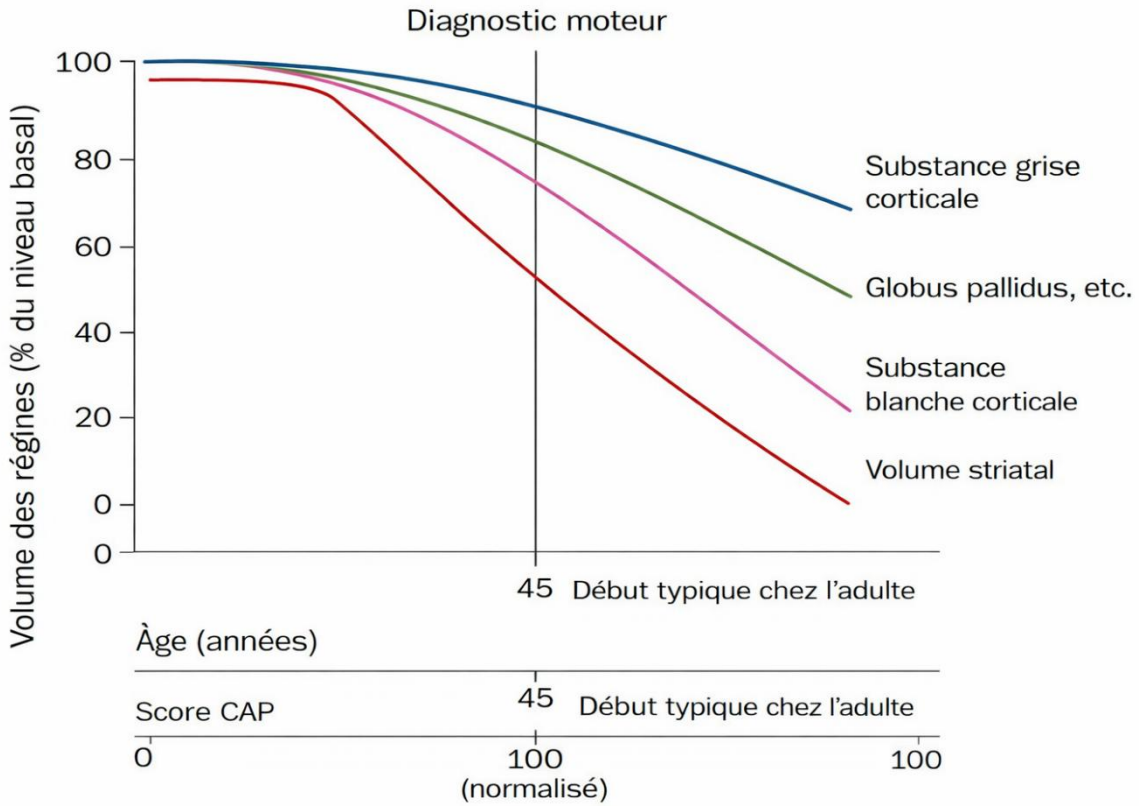


Figure 10 : Evolution du volume des différentes structures cérébrales touchées par la MH au cours de l'évolution de la maladie (Ross et al., 2014). *Bien que la neurodégénérescence touche globalement les ganglions de la base ainsi que le cortex, on peut s'apercevoir que les différentes structures ne sont pas toutes touchées de la même manière. Ainsi, le striatum est particulièrement touché et dégénère rapidement dès le début de la maladie alors que l'atrophie globale de la matière grise se produit à un stade beaucoup plus tardif. Le CAP score normalisé permet de faire apparaître sur un même graphique des patients ne possédant pas le même nombre de répétition CAG. Le début de la maladie est estimé en moyenne pour un CAP score normalisé de 100. D'après Ross et al. 2014. Abréviations : CAP : produit de l'âge et de l'expansion CAG, MH : maladie de Huntington.*

L’évolution de l’imagerie a permis de mettre en place des techniques ciblant les anomalies fonctionnelles, ce qui pourrait être particulièrement utile en période prémanifeste pour détecter des changements, avant même que les premières anomalies structurelles n’apparaissent. L’IRM fonctionnelle (IRMf), basée sur l’effet BOLD (blood oxygen level-dependent), peut fournir un reflet de l’activité neuronale démontrant une suractivation ou une sous-activation régionale de certaines structures. Enfin, la technique de PET-scan (tomographie par émission de positons) utilisant du fluorodeoxyglucose, a montré chez des patients atteints de la MH, un hypométabolisme dans le striatum (Shin et al. 2013). Ces études suggèrent que l’analyse fonctionnelle des réseaux métaboliques pourraient fournir des marqueurs utiles pour les essais cliniques (C. C. Tang et al. 2013). Les données des examens de PET-scan et IRMf ont mis en évidence que les changements fonctionnels se produisent dans le cerveau du patient des années avant l’apparition des symptômes (Paulsen et al. 2004), associés à une atrophie caudale apparente 11 ans avant le début estimé de la maladie et celle touchant le putamen 9 ans avant (E. H. Aylward et al. 2004).

A ce jour, la chronologie de la physiopathologie de la MH reste débattue. Néanmoins, les différentes études convergent vers l’initiation d’une atrophie striatale préalable, suivie d’une atteinte de la substance blanche secondaire aux troubles de la connectivité striatale, puis d’une perte de volume de la substance grise. Aux stades plus avancés, le cortex frontal, temporal, le thalamus et le cervelet sont affectés (Tabrizi et al. 2013a).

Ainsi, l’imagerie cérébrale serait à la fois un outil fiable dans le suivi de la MH mais aussi pour son diagnostic puisque les anomalies structurelles sont visibles avant l’apparition des premiers symptômes. L'adoption de la stadification HD-ISS, proposé par Tabrizi et al. en 2022 pourrait faciliter la conception d'essais cliniques ciblant les individus MH avant le diagnostic moteur clinique et permettre la standardisation des données dans les études cliniques (Tabrizi et al. 2022a).Ainsi, l’imagerie cérébrale serait à la fois un outil fiable dans le suivi de la MH mais aussi pour son diagnostic puisque les anomalies structurelles sont visibles avant l’apparition des premiers symptômes. L'adoption de la stadification HD-ISS, proposé par Tabrizi et al. En 2022 pourrait faciliter la conception d'essais cliniques ciblant les individus MH avant le diagnostic moteur clinique et permettre la standardisation des données dans les études cliniques (Tabrizi et al. 2022a).

2- Les biomarqueurs

Un biomarqueur est défini comme une caractéristique mesurable de manière objective, utilisée pour évaluer un processus biologique normal, un processus pathologique ou une réponse à une intervention thérapeutique. Dans le cadre de la MH, les biomarqueurs pourraient donner des indications importantes sur la présence de la maladie, sa sévérité, sa progression et son suivi thérapeutique. La MH est liée à la mutation d'un seul gène, ce qui fait du test génétique un excellents biomarqueur. Cependant, même la longueur de l'expansion CAG indique en partie la précocité des symptômes, elle ne permet pas de suivre la physiopathologie dans son suivi longitudinal ; c'est pourquoi les biomarqueurs cliniques, cognitifs, de neuroimagerie et biochimiques font actuellement l'objet de nombreuses études.

L'intérêt portait au départ sur le système nerveux central (SNC) mais beaucoup d'études récentes ont mis en évidence l'atteinte de tissus périphériques, pouvant permettre l'élaboration de biomarqueurs périphériques. Ces derniers seraient plus accessibles et donc moins contraignants et invasifs (Ross et al. 2014). Cependant, malgré l'expression ubiquitaire de la mHTT le développement de biomarqueurs périphériques pour la MH s'avère difficile (Weir et al. 2011). Même si les approches fondées sur les analyses « omiques » ont suscité beaucoup d'espoir, aucun candidat n'a été réellement validé. L'exemple le plus marquant est la 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OHdG), un produit du dommage oxydatif de l'ADN. Il était relevé en concentration élevée dans le plasma des patients atteints de la MH mais par la suite invalidé pour le suivi de la pathologie (Biglan et al. 2012).

D'autres travaux se focalisent sur des biomarqueurs potentiellement présents dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) ou le sérum, en ciblant des changements neurobiologiques détectables, comme l'activation immunitaire (Wild et al. 2008), la dérégulation transcriptionnelle (Y. Hu et al. 2011) et l'altération du métabolisme du cholestérol (Kacher et al. 2022). En effet, il est possible de mesurer les HDL, LDL, cholestérol et triglycérides dans le sérum tels que cela a déjà été fait pour des patients atteint de la maladie de Parkison (Bakeberg et al. 2021). Même si à l'heure actuelle ce sont les neurofilaments qui font partis des biomarqueurs les plus utilisés avec la mHTT. Les neurofilaments sont une famille de filaments intermédiaires spécifiques aux neurones qui sont des composants structurels clés du cytosquelette axonal. En cas de lésion axonale ou de neurodégénérescence, les neurofilaments légers (NfL) sont libérés par les neurones dans l'espace extracellulaire où ils sont éliminés dans le liquide cépahlo-rachidien (LCR), puis dans le sang (Petzold 2005; Caron et al. 2024).

Des concentrations élevées de NfL dans les fluides biologiques ont été signalées dans plusieurs troubles neurologiques, notamment la MH (Caron et al. 2022). Les taux de NfL dans les fluides biologiques constituent un biomarqueur pronostique puissant de l'apparition de la maladie, de sa progression clinique et de l'atrophie cérébrale chez les personnes atteintes de MH, ce qui en fait un biomarqueur sensible de progression de la maladie (Filipe B. Rodrigues et al. 2020; Parkin et al. 2024). Les taux élevés de NfL dans le LCR et le plasma sont l'une des premières altérations pathologiques mesurables dans la MH (Byrne et al. 2018; Caron et al. 2024). En effet, des augmentations significatives ont été signalées chez les patients, dès le stade pré-manifeste, environ 24 ans avant le début prévu de la maladie (Scahill et al. 2020). Ces résultats suggèrent que l'augmentation des taux de NfL dans le sang et le LCR reflète des perturbations précoces de la santé neuronale, qui peuvent précéder la neurodégénérescence et la perte cellulaire qui s'ensuit. Ainsi, la NfL s'impose aujourd'hui comme un biomarqueur clé dans les essais cliniques de la maladie de Huntington, à la fois pour le suivi de la progression neurodégénérative et pour l'évaluation de la réponse aux traitements.

Outre les neurofilaments, la protéine Tau a également été proposée comme biomarqueur potentiel dans la maladie de Huntington (Jiakai Yang et al. 2024; Filipe Brogueira Rodrigues et al. 2016; Ruiz-Barrio et al. 2024). La protéine Tau est une protéine associée aux microtubules, principalement exprimée dans les neurones, où elle joue un rôle essentiel dans la stabilisation du cytosquelette axonal et le transport axonal (Jiakai Yang et al. 2024). Bien que Tau soit classiquement associée aux tauopathies, plusieurs travaux suggèrent qu'elle reflète plus largement des processus de neurodégénérescence et de dysfonction neuronale. Des études antérieures ont montré que les concentrations de tau total dans le liquide cérébro-rachidien sont augmentées chez les porteurs de la mutation HTT et corrélées à la sévérité clinique, notamment aux scores moteurs et cognitifs, bien que ces associations soient généralement moins robustes que celles observées pour la NfL (Filipe Brogueira Rodrigues et al. 2016).

Récemment, une approche innovante a été proposée avec la quantification de tau dans des biopsies cutanées chez des patients atteints de Huntington (Ruiz-Barrio et al. 2024). Cette étude a mis en évidence une augmentation significative des niveaux de tau cutané chez les patients manifestes par rapport aux sujets présymptomatiques et aux témoins, avec des corrélations significatives avec la longueur de l'expansion CAG, le score CAP, les scores moteurs et cognitifs, ainsi que des mesures d'atrophie cérébrale.

Ces résultats suggèrent que tau pourrait constituer un biomarqueur complémentaire de la NfL, apportant des informations supplémentaires sur la progression de la maladie, en particulier sur les dimensions cognitives et structurelles, et ouvrent la voie à des stratégies de biomarqueurs périphériques moins invasives dans la maladie de Huntington.

Une autre stratégie serait de cibler directement la quantification de la mHTT, puisque la concentration de mHTT augmente avec la progression de la maladie et est corrélée au CAP score et au taux d'atrophie cérébrale (Weiss et al. 2009). Ainsi la mHTT pourrait être mesurée dans le LCR à la manière des peptides amyloïdes β et des isoformes tau dans la maladie d'Alzheimer. Il serait également intéressant de cibler spécifiquement, via des anticorps, les feuillets β de la mHTT ou encore les différentes formes clivées de la mHTT. Cette dernière affecte le métabolisme cellulaire et notamment entraîne une production anormale de métabolites dont des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui pourraient être quantifiées par cyrtométrie en flux (Ross et al. 2014).

Cette liste d'éventuels biomarqueurs n'est pas exhaustive et Ross et al. ont construit une figure plus complète pour résumer les biomarqueurs éventuels des différents niveaux d'intervention de la mHTT au sein de la cellule (**Figure 11**). Le développement de ces biomarqueurs de la MH pourrait permettre de suivre les stades très précoces de la maladie et d'établir des fenêtres d'intervention thérapeutique adaptées.

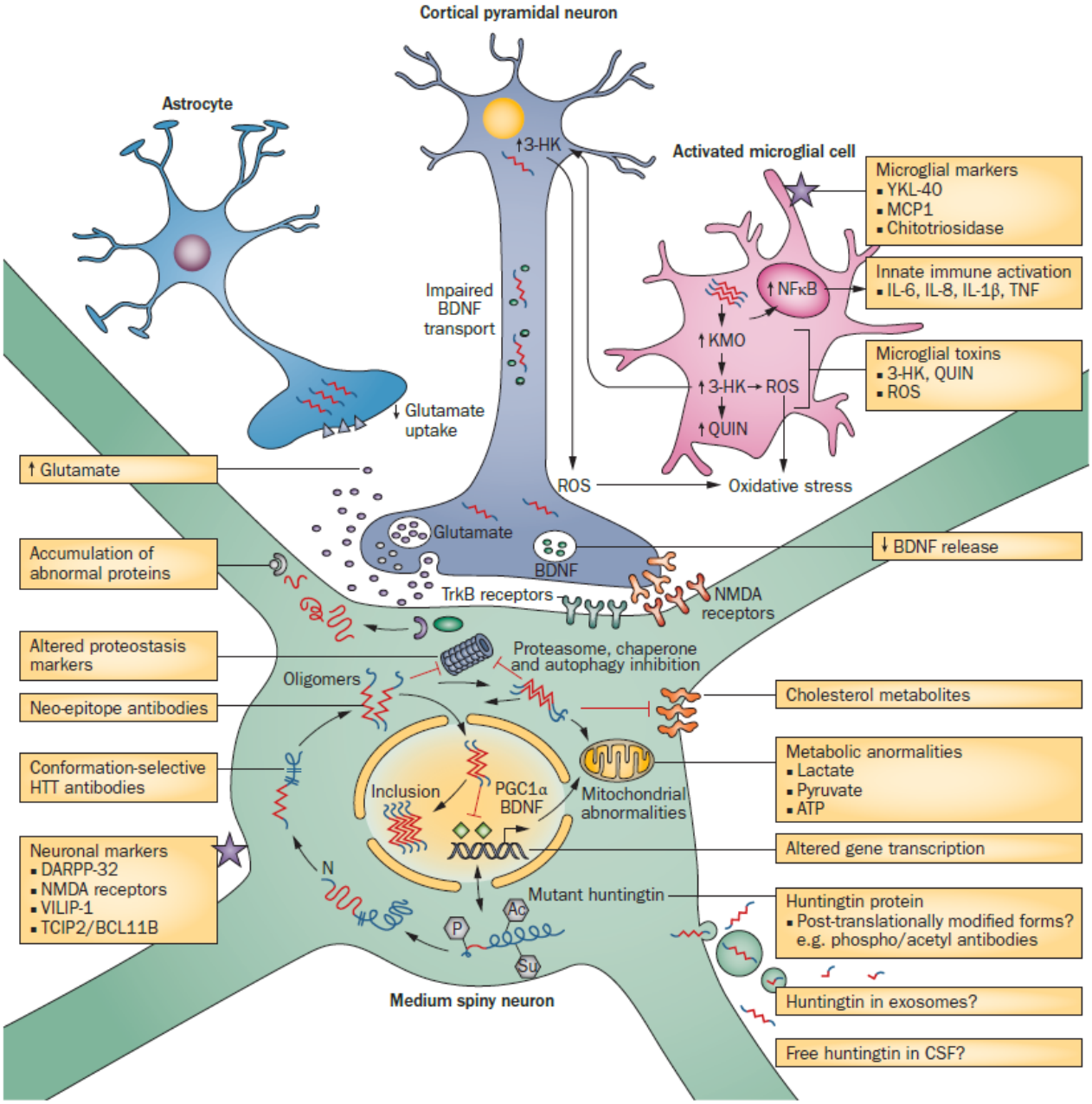


Figure 11 : Représentation schématique de la pathogenèse cellulaire dans la maladie de Huntington (Ross et al. 2014). *Les encadrés jaunes présentent des voies à fort potentiel pour le développement de biomarqueurs. Dans certains cas, la molécule pourrait être directement impliquée dans la pathogenèse, comme avec la huntingtine elle-même, et pourrait donc également être une cible thérapeutique et servir de marqueur pharmacodynamique, ainsi que de marqueur du statut de la maladie. Abréviations : 3-HK : 3-hydroxykynurénine, Ac : groupe acétyle, BDNF : facteur neurotrophique dérivé du cerveau, CSF : liquide céphalorachidien, KMO : kyurénine mono-oxydase, NMDA : N-méthyl-d-aspartate, P : groupe phosphate, QUIN : acide quinolinique, ROS : espèces réactives de l'oxygène, Su : modifications post-traductionnelles SUMO, TNF : facteur de nécrose tumorale.*

III- Bases génétiques et moléculaires de la maladie de Huntington

A- Gène HTT

La maladie de Huntington est due à une expansion de triplets CAG codante pour une expansion polyglutamine (polyQ) dans l'exon 1 du gène *HTT,* localisé sur le bras court du chromosome 4 et codant pour la huntingtine (HTT) (Marcy E. MacDonald et al. 1993). Le test génétique de la MH repose sur l'amplification spécifique du nombre de répétitions du triplet CAG. La longueur des répétitions CAG détermine si l'individu développera la MH. En effet, le nombre de répétitions dans la population non atteinte varie de 6 à 35 répétitions (8-37 résidus glutamines), au-delà de 40 répétitions (42 résidus glutamine) la mutation est hautement pénétrante et entre 36 et 39 répétitions de triplets CAG, correspondant à 38-42 résidus glutamine, la pénétrance est partielle (G. P. Bates et al. 2015a). Lorsque l'expansion CAG dépasse 28 répétitions, elle présente une instabilité accrue lors de la réplication, qui augmente avec la taille de l'expansion. Dans la majorité des cas l'instabilité tend à l'augmentation de l'expansion déjà existante (73%) mais dans des rares cas une contraction peut se produire (23%) (Djoussé et al. 2004; M. E. MacDonald et al. 1999; Chattopadhyay et al. 2005).

L'instabilité est plus forte lors de la spermatogenèse que dans l'ovogenèse. En effet, les expansions additionnelles des répétitions CAG lors de la réplication, se produisent presque exclusivement chez les mâles (B. Kremer et al. 1995). Ces résultats expliquent l'anticipation de l'apparition des premiers symptômes, c'est-à-dire le fait que l'âge d'apparition de la maladie est de plus en plus précoce dans les générations successives, ainsi que la probabilité d'une hérédité paternelle chez les enfants présentant des symptômes d'apparition juvénile. De même, les nouveaux cas de la MH dans une famille sans antécédents familiaux sont généralement dus à l'expansion d'un allèle initial dans la gamme limite ou physiologique (28-35 répétitions CAG) le plus souvent du côté paternel (G. P. Bates et al. 2015a).

B- Gène HTT et expansion somatique

Des études ont également mis en évidence l'existence d'expansions somatiques provenant de l'instabilité de l'expansion CAG. Dans des modèles murins de la MH, les expansions somatiques se produisent dans les neurones post-mitotiques et dépendent d'un système de réparation des mésappariements. Les expansions somatiques sont d'autant plus marquées lorsque l'expansion CAG est importante (Kennedy et al. 2003; Gonitel et al. 2008) et agissent comme un modificateur de la maladie (Kovalenko et al. 2012; Wheeler et al. 2007). Bien que relativement mineur ce phénomène a été observé dans le striatum chez l'homme et dans des modèles murins de la maladie et pourrait contribuer à la grande variabilité phénotypique (Georgiou et al. 1999; Anca et al. 2004; Wexler et al. 2004; Squitieri et al. 2003).

En effet, les jumeaux monozygotes atteints de la MH présentent généralement un âge d'apparition différent de quelques années ainsi que, dans certains cas, un phénotype clinique possiblement différent (Georgiou et al. 1999; Anca et al. 2004). Les rares cas homozygotes de la maladie ne présentent pas de différences substantielles dans l'âge d'apparition (G. Bates et al. 2014) mais la progression de la maladie peut être plus rapide (Squitieri et al. 2003).

L'instabilité de la mutation conduit à une augmentation de la taille de l'expansion dans certains tissus (**Figure 12**). En 2025, Handsacker et al. ont étudié les grandes expansions CAG au niveau de la cellule unique, tout en analysant l'expression de l'ARN. L'analyse d'échantillons striataux issus de 6 cerveaux de patients MH a permis de modéliser la progression de la mort cellulaire au fil du temps : une première phase lente d'expansion des répétitions CAG durant plusieurs décennies, suivie d'une phase rapide d'expansion sur quelques années dès que le seuil de 150 répétitions est atteint dans les neurones. Cette phase déclenche des changements d'expression génique entraînant sénescence et apoptose. Malgré l'expression ubiquitaire de la HTT, seuls les neurones de projection du striatum subissent cette importante expansion (Handsaker et al. 2025a). Ainsi, ralentir l'expansion somatique pourrait être une piste thérapeutique. Il a récemment été montré que de petites molécules ciblant les acides nucléiques qui modulent les mécanismes de réparation de l'ADN pouvaient ramener les expansions répétées à une longueur normale (Nakamori et Mochizuki 2021; N. Wang et al. 2025). L'homologue 3 de MutS (MSH3) apparait ainsi comme une potentielle cible thérapeutique (Bunting et al. 2025).

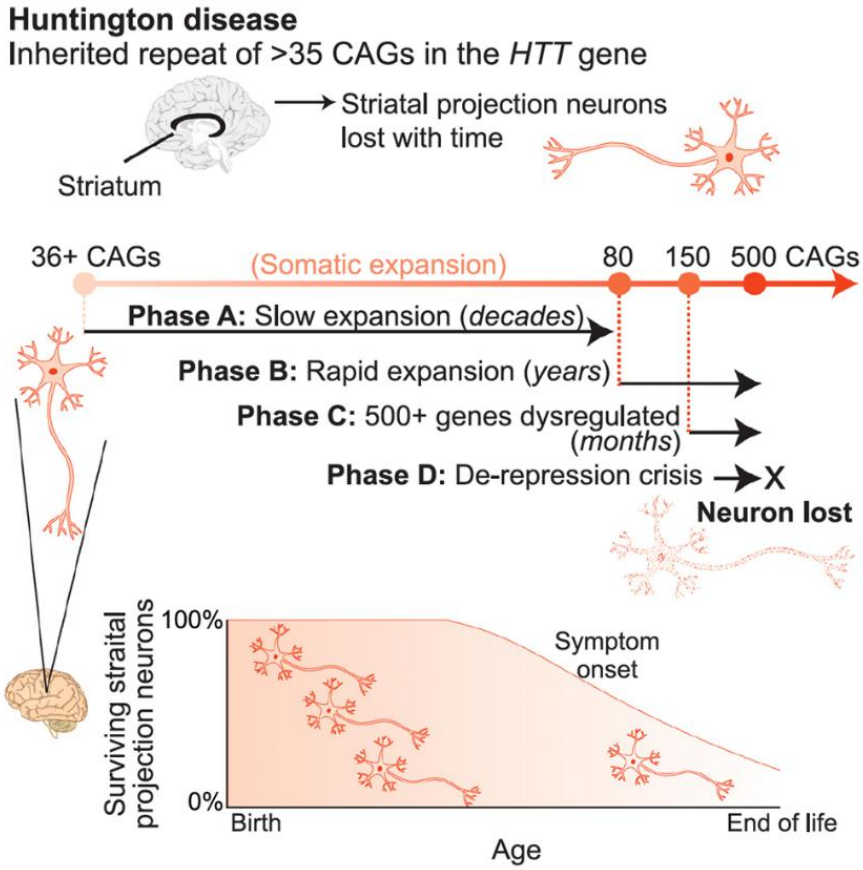


Figure 12 : Les expansions somatiques dans la MH (Handsaker et al., 2025). *La mesure unicellulaire de la répétition CAG responsable de la maladie de Huntington révèle que l'expansion somatique de cette répétition entraîne des changements pathologiques dans les neurones. La répétition CAG responsable de la maladie de Huntington s'étend somatiquement dans les neurones vulnérables de la MH. Au fil des décennies, les allèles instables s'étendent à plus de 10 fois leur longueur initiale. La répétition CAG devient toxique après s'être étendue au-delà de 150 CAG. La pathogenèse de la maladie de Huntington est un processus d'expansion des répétitions d'ADN pendant la quasi-totalité de la vie d'un neurone.*

C- La protéine HTT

1- Structure et localisation

La protéine HTT comprend 3 144 acides aminés dont 23 glutamines pour un poids moléculaire de 348 kDa. D'un point de vue fonctionnel, la HTT est exprimée de manière ubiquitaire dans tout l'organisme, mais surtout dans la peau et le cerveau. Au niveau cellulaire elle présente une localisation cytoplasmique mais également nucléaire en lien avec la présence d'une séquence NES (acides aminés 2397-2406) et elle peut également faire la navette entre ces deux compartiments. De nombreux orthologues de la protéine sont présents chez d'autres espèces comme le zebrafish, la drosophile et même chez certains microorganismes (G. P. Bates et al. 2015a).

La protéine est organisée linéairement avec une série de domaines ordonnés entrecoupés de segments intrinsèquement désordonnés. Les domaines ordonnés sont formés de groupes de répétitions HEAT (Huntingtine, facteur d'élongation 3, protéine phosphatase 2A et TOR1). Il s'agit de structures α-hélicoïdales correspondants à deux hélices alpha reliées par une boucle qui constituent des motifs de liaison à d'autres protéines. Ces domaines de répétition HEAT peuvent ainsi fonctionner comme un échafaudage pour de nombreux complexes protéiques mais ils médient également des interactions intramoléculaires dans la HTT. Entre les domaines HEAT, se trouvent des régions désorganisées qui sont le lieu de modifications post-traductionnelles et les régions PEST (proline (P), glutamate (E) ou aspartate (D), serine (S), et threonine (T)) qui sont des sites de protéolyse (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016; Q. Guo et al. 2018) (**Figure 13**).

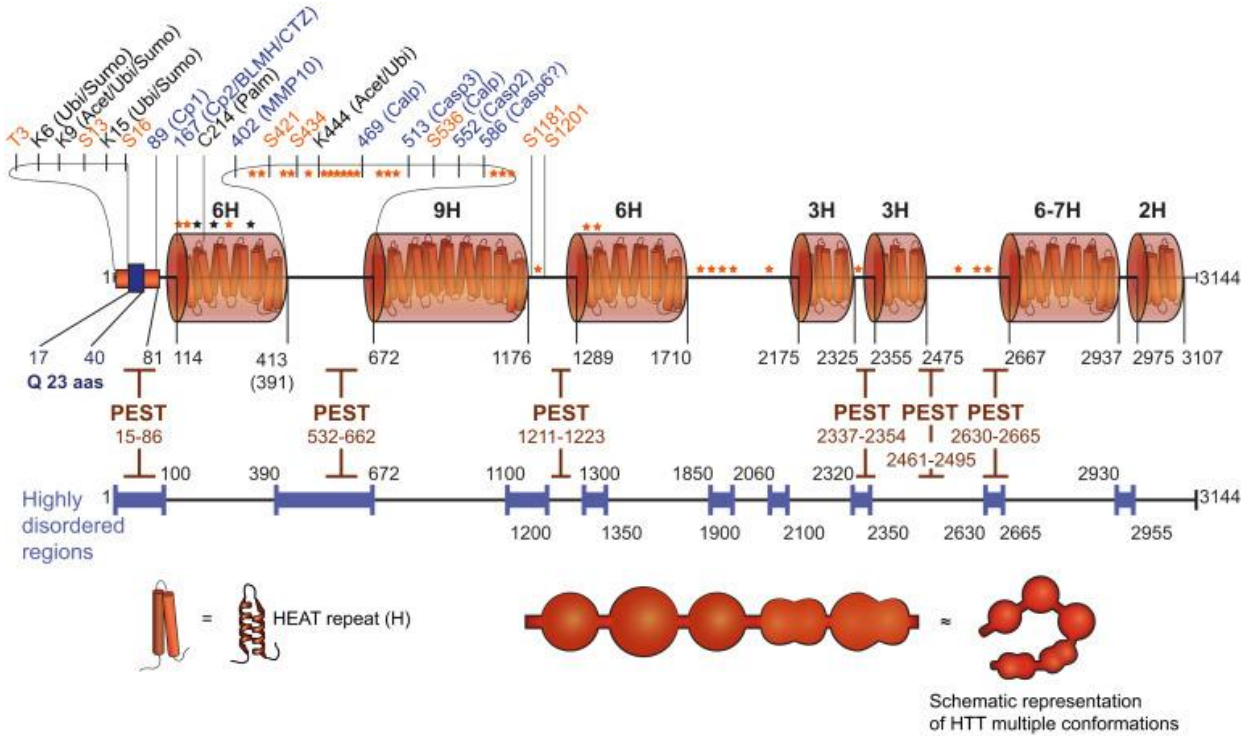


Figure 13 : Organisation de la séquence protéique de la HTT (Saudou and Humbert, 2016). *Les régions PEST sont des domaines sensibles à la protéolyse. Les régions désordonnées sont représentées en bleu (prédictions obtenues par PONDR, DisEMBL, and NORSp). La HTT présente de nombreuses modifications post-traductionnelles. Les acides aminés en orange représentent les sites de phosphorylation identifiés et les acides aminés en noirs présentent divers sites de modifications. Les acides aminés en bleu présentent les sites de clivage de la protéine : Cp1, protéase inconnue ; Cp2/BLMH/CTZ, clivage par Bleomycin hydrolase ou cathepsine Z ; Casp6 ? est un site de clivage prédictif. Les étoiles orange et noire indiquent, respectivement, des sites de phosphorylation et d'acétylation identifiés par spectromètrie de masse. Abbréviations :Ubi ubiquitine; Sumo, SUMOylation; Acet, acétylation; Palm, palmitoylation; MMP10, métalloprotéinase 10; Calp, calpaïne; Casp3/2/6, caspase 3/2/6. Q23 : région poly Q avec 23 glutamines. H indique le nombre de répétitions HEAT organisées en larges domaines*

La HTT présente une structure compactée et partagée en trois domaines principaux : un domaine N-terminal, un domaine central et un domaine C-terminal (Shaha et Godad 2026; Jung et al. 2020). La région N-terminale contient l'expansion polyQ qui est précédée de 17 acides aminés et suivi d'un domaine riche en proline (PRD) (**Figure 13** et **Figure 14**). La région centrale de la HTT (acides aminés 507–1,230) peut se lier aux domaines N-terminal (acides aminés 1–506) et C-terminal (acides aminés 2,721–3,144). La région centrale peut également s'associer pour former des homodimères de HTT. De même, les parties N-terminales de la HTT (1–416 et 1–586) se lient à différentes régions C-terminales de la HTT (1 725–2 800 et 2 416–3 144, respectivement). Ainsi, la HTT peut adopter des conformation 3D très variables en fonction de ses interactions intramoléculaires. La flexibilité de la HTT présente une caractéristique structurelle importante qui peut être critique pour sa fonction, et l'expansion du tractus polyQ à l'extrémité N-terminal affecte la structure globale de la HTT (Jung et al. 2020). La taille de l'expansion CAG influe également sur la transcription du gène *HTT.* En effet, pour un nombre de triplet CAG inférieur à 39, la transcription du gène *HTT,* l'épissage de l'ARNm et la traduction aboutissent à la séquence complète de la HTT. Cependant si l'expansion CAG est plus importante, l'ARNm de la HTT est incomplètement épissé pour générer un transcrit de l'exon 1 uniquement, qui code pour la protéine HTT exon 1 composée de la partie N-Terminale de 17 acides aminés, de la séquence polyQ et du domaine PRD qui intervient dans la liaison avec certaines protéines contenant un domaine WW48 (G. P. Bates et al. 2015a) (**Figure 14**). La protéine HTT exon 1 est hautement sujette à l'agrégation et pathogène. Ce processus se retrouve dans tous les modèles de souris knock-in de la maladie de Huntington et a pu être détecté dans les lignées cellulaires de patients et les cerveaux post-mortem.

Cet épissage incomplet de l'ARNm codant pour la HTT exon 1 est proportionnel à la longueur des répétitions CAG, en ce sens que plus la répétition est longue, plus la HTT exon 1 est générée (Fienko et al. 2022). En outre, le clivage protéolytique post-traductionnel de la séquence complète de la HTT peut également produire des fragments similaires à la HTT exon 1 qui jouent également un rôle important dans la MH (G. P. Bates et al. 2015a; Shaha et Godad 2026).

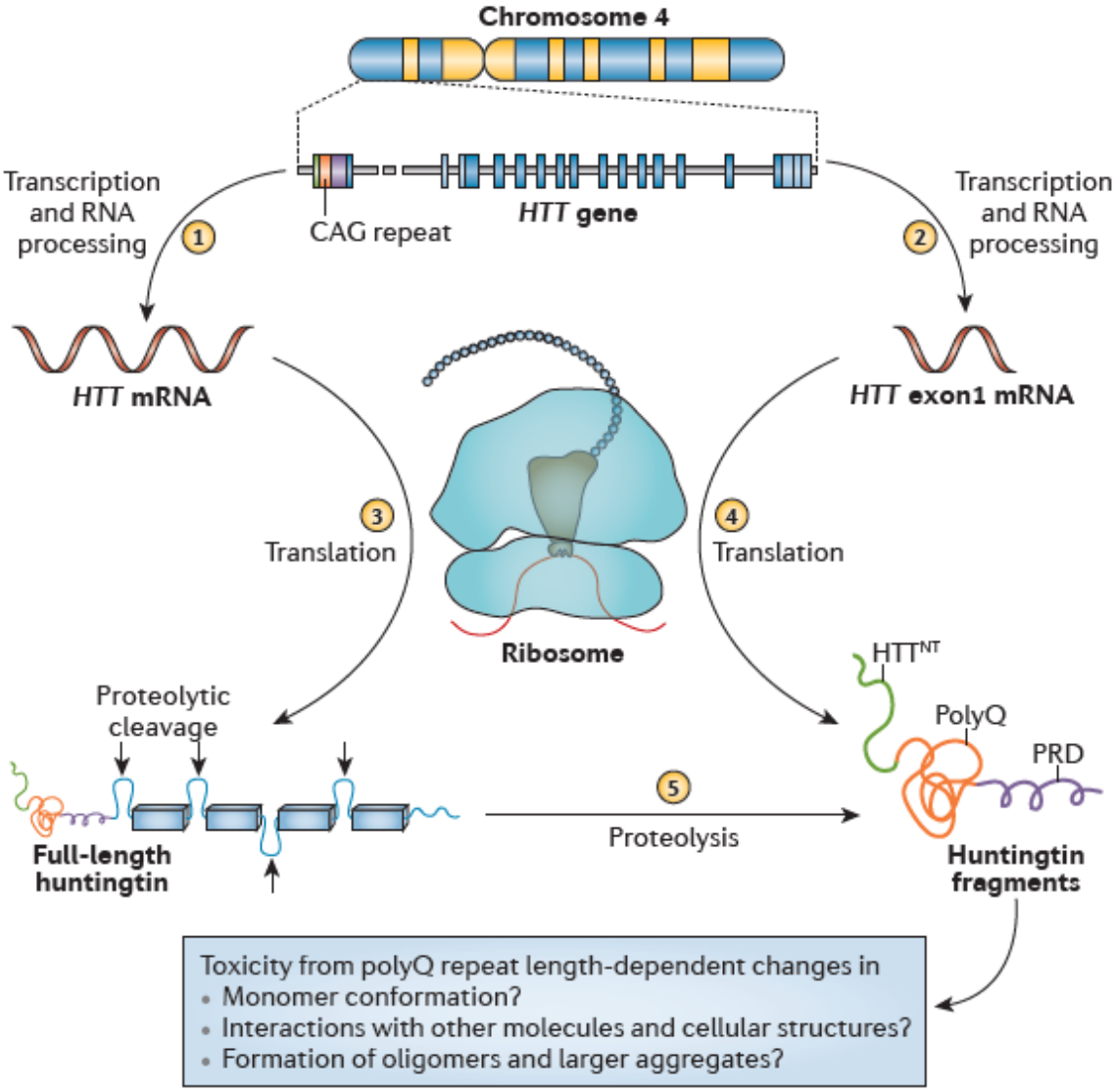
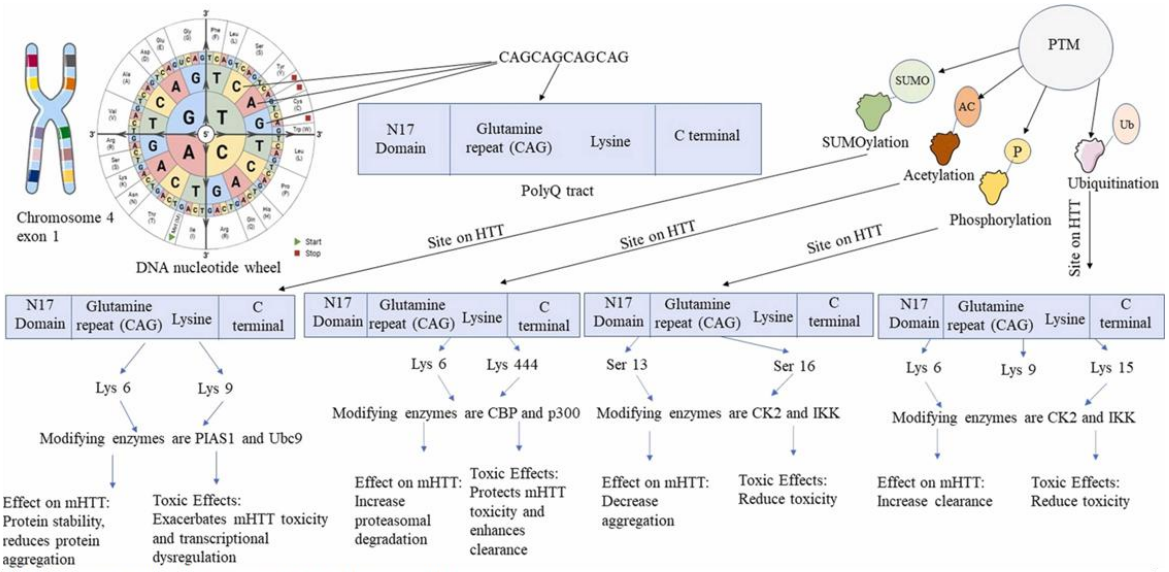


Figure 14 : Expression de la HTT (Bates et al. 2015). *L'expression du gène HTT aboutit à la synthèse d'un ARNm codant pour la HTT de longueur complète (1). Cependant si le gène contient une répétition CAG élargie, son expression peut aboutir à la synthèse d'un ARNm codant uniquement l'exon 1, appelé ARNm HTT exon 1 (2). Dans le premier cas la traduction génère la protéine HTT de taille complète (3), dans le deuxième la protéine HTT exon 1 (4). La protéine HTT ex1 est composée d'une séquence mixte (HTTNT) de 17 acides aminés, de la séquence polyglutamine (polyQ) codée par la répétition CAG et d'un domaine riche en proline (PRD). La HTT complète est composée de la séquence exon 1 suivie d'une série de segments protéiques ordonnés (boites) et désordonnées (boucles). Le clivage protéolytique (5) trouve ses sites de reconnaissance dans les segments désordonnés, génère, entre autres, des fragments similaires à la HTT ex1. Les différents fragments de la HTT jouent un rôle important dans la MH mais les mécanismes moléculaires précis ne sont pas encore totalement connus.*

2- Modifications post-traductionnelles de la HTT

Les segments désordonnés, séparant les domaines HEAT, sont des sites de modifications post-traductionnelles (MPT), telles que l'acétylation, la glycosylation, la SUMOylation (small ubiquitin-like modifier), la palmitoylation, l'ubiquitinylation ou la phosphorylation (Saudou et Humbert, 2016 ; Shaha et Godad, 2026) (**Figure 13** et **Figure 15**).

La **Figure 15** décrit les MPT de la HTT, les enzymes primaires impliquées et l'impact fonctionnel sur la HTT. Les MPT régulent les différentes fonctions de la HTT mais modulent également son intégrité structurelle et jouent un rôle dans son clivage protéolytique influençant ainsi la solubilité, la stabilité et l'agrégation de la HTT (Sahah et Godad, 2026) (**Figure 15**).



PTM: its types, enzymes involved, and functional impact on HTT.

Modification type	Primary enzymes involved	Functional impact on HTT	References
Phosphorylation	IκB kinase (IKK), casein kinase 2(CK2), Nemo-like Kinase (NLK), Protein Kinase B, Serum and Glucocorticoid Regulated Kinase (SGK), Cyclic Dependent Kinase5 (CDK5), Mitogen Activated Protein Kinase1 (MAPK1), CDK5/PP2B, and glycogen synthase Kinase 3 Beta (GSK-3Beta)	Alters HTT solubility and aggregation; influences mitochondrial dynamics, cytoskeletal integrity, and tau toxicity.	(Lontay et al., 2020; Ehrnhoefer et al., 2011; Arbez et al., 2017)
SUMOylation	protein inhibitor of activated STAT1 (PIAS1), SUMO 1/2/3/4, SUMO activating enzymes - SAE1/SAE2, SUMO specific proteases	Alters HTT solubility, nuclear-cytoplasmic transport, transcriptional regulation, and protein stability; contributes to aggregate formation	(Ochaba et al., 2014; Kachemov et al., 2025; Zhao, 2018; Seeler and Dejean, 2003; Geiss-Friedlander and Melchior, 2007; Zafar et al., 2024; Pichler et al., 2017)
O-GlcNAcylation	O-GlcNAc transferase (OGT), O-GlcNAcase (OGA)	Enhances HTT stability and stress resilience; modulates protein-protein interaction and cellular signaling	(Wang et al., 2010; Hart et al., 2011; Bond and Hanover, 2015; Yang and Qian, 2017; Yuzwa and Vocadlo, 2014; Liu et al., 2021)

Figure 15 : Modifications post-traductionnelles (PTM) dans la toxicité et la pathogenèse de la huntingtine (Sahah et Godad, 2026). *La figure illustre la structure de la protéine HTT, qui montre les répétitions CAG mettant en évidence son domaine clé N17, le tractus PolyQ et les régions C-terminales. Elle montre les types de PTM tels que la SUMOylation, la phosphorylation et l'ubiquitination présents sur les sites HTT ainsi que leurs enzymes modificatrices (par exemple, PIAS1, CBP, CK2). La figure montre également comment ces modifications affectent la stabilité, l'agrégation et la clairance de la HTT. Abréviations : CAG : cytosine-adénine-guanine, PIAS1 : inhibiteur protéique de STAT1 activé, Ubc9 : enzyme de conjugaison de l'ubiquitine 9, CBP : protéine de liaison CREB, p300 : protéine p300 associée à E1A, CK2 : caséine kinase 2, IKK : kinase IκB, HDAC1 : histone désacétylase 1, Lys : lysine, Gln : glutamine.*

Les fragments sont générés par l'action de protéases telles que les caspases et les calpaïnes. Les sites protéolytiques (Sites PEST) sont présents à la fois dans la HTT sauvage et mutée (polyQ). Cependant, il a été observé une augmentation spécifique de l'activité de ces protéases dans le cerveau des patients MH qui conduit à la génération et à l'accumulation de petits fragments N-terminaux avec l'expansion polyQ. Ces fragments pénètrent dans le noyau où ils s'auto-associent, s'oligomérisent et s'agrègent (**Figure 16**) (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016).

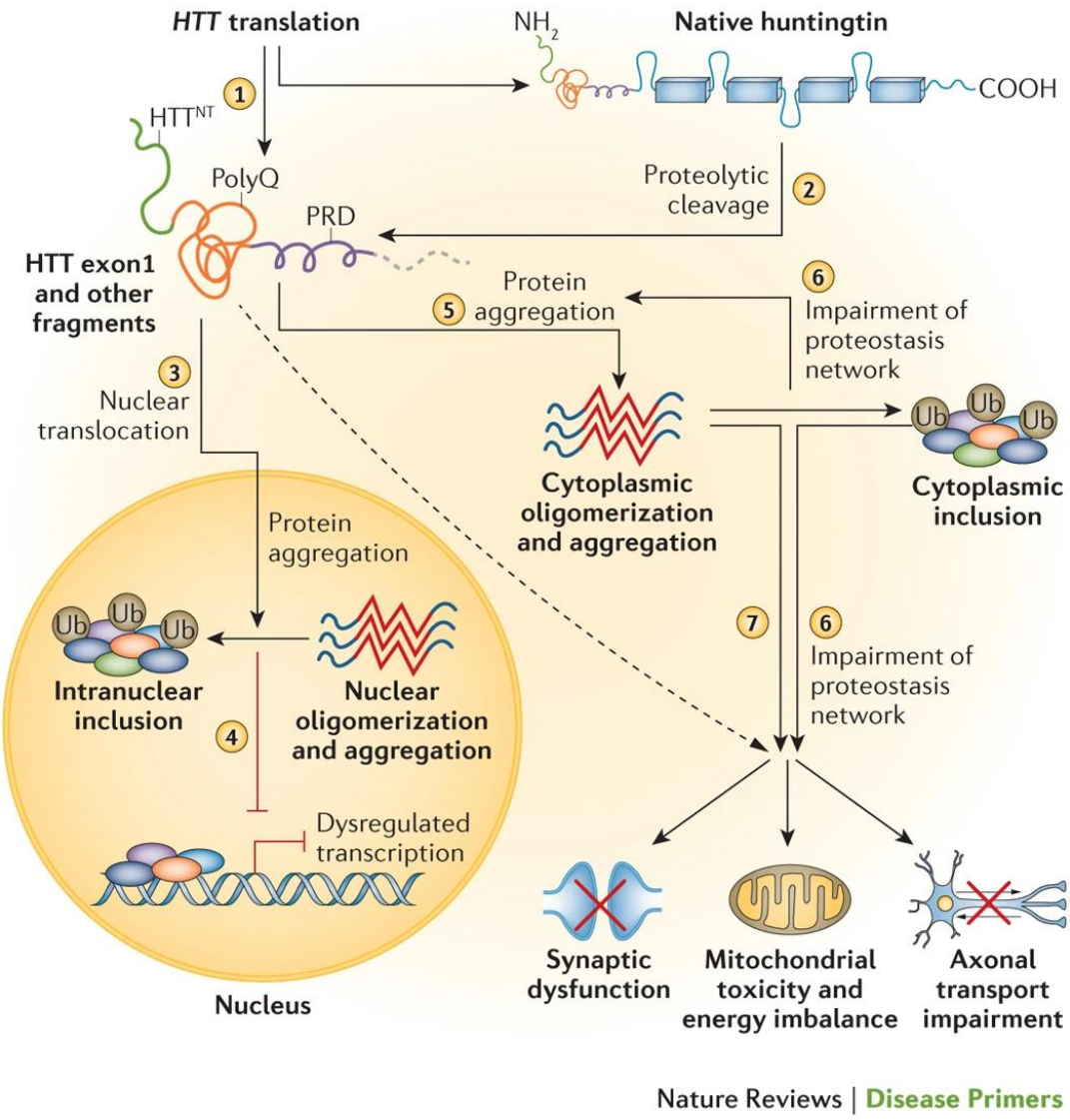


Figure 16 : Clivage protéolytique de la HTT et devenir des différents fragments (Bates et al., 2015). *La traduction de la HTT produit une protéine complète (1) ou tronquée, HTT exon1. La HTT native complète peut être clivée par protéolyse pour générer différents fragments pouvant être semblables à la protéine HTT exon1 (2). Les fragments peuvent pénétrer dans le noyau où ils s'auto-associent, s'oligomérisent et s'agrègent (3). Cela conduit à des inclusions, provoquant une dysrégulation transcriptionnelle (4). Dans le cytoplasme (5), l'agrégation et l'inclusion des fragments de la HTT (5) s'accompagne d'une altération de l'homéostasie protéique (protéostase) (6) et de dysfonctionnement cellulaires (7). Abréviations : PRD : domaine riche en proline, Ub : ubiquitine.*

Différents fragments protéiques ont été décrits ainsi que leurs possibles toxicités, cependant le fragment N-terminal HTT exon 1, semble être le plus important. Les séquences polyQ tendent à favoriser un état condensé et l'HTT exon 1 participe à la formation d'une variété de structures agrégées aboutissant à des inclusions nucléaires et cytoplasmiques responsables d'effets cytotoxiques. Ces effets sont en lien avec les nombreuses fonctions du domaine N-terminal de la HTT, tels que l'adressage membranaire (Atwal et al. 2007), la liaison aux différents partenaires protéiques et aux chaperonnes (Tam et al. 2009), l'exportation nucléaire (Cornett et al. 2005) et la régulation de nombreux « trafics » cellulaires (Rockabrand et al. 2007). Ces mécanismes, que nous détaillerons ultérieurement, seront tous perturbés par la formation des structures agrégées (G. P. Bates et al. 2015a; Fienko et al. 2022) (**Figure 16**).

3- Rôle physiologique de la HTT

Plus de 350 partenaires protéiques de la HTT ont été identifiés (Saudou et Humbert 2016; Schaefer et al. 2012). La liste des partenaires de la HTT soutient l'idée qu'elle est impliquée dans de nombreux processus cellulaires. La plupart des protéines partenaires trouvées de manière constante dans de nombreuses études appartiennent à une des catégories suivantes : dynamique cellulaire (cytosquelette, endocytose, trafic et adhésion), métabolisme, protéine turnover, transduction du signal, mort/survie cellulaire et l'expression des gènes (transcription et traitement de l'ARN) (Jurcau 2022; Shaha et Godad 2026).

Du fait de son important nombre de partenaires, sa taille et sa stabilité, La HTT est considérée comme une protéine d'échafaudage. La HTT fonctionnerait comme un « hub » permettant d'interconnecter plusieurs partenaires dans des complexes moléculaires pour coordonner des processus cellulaires. L'assemblage et le démontage de ces complexes seraient étroitement régulés dans le temps et l'espace par des protéines impliquées dans la signalisation cellulaire et modifiants les MPT de la HTT. Ces modifications post-traductionnelles vont ainsi réguler les principales fonctions de la HTT. Par exemple, la phosphorylation de la serine 421 par la kinase Akt permet à la HTT d'associer la kinésine-1 au complexe dynactine des vésicules et des microtubules pour le transport antérograde le long de l'axone (Prowse et al. 2023; Colin et al. 2008), mais augmente aussi le recrutement de la kinésine et de la dynéine au niveau des endosomes précoces et des lysosomes (Prowse et al. 2023). Nous allons détailler sans en dresser la liste exhaustive les principales fonctions de la HTT.

Rôle de la HTT dans le développement embryonnaire

Dans le développement embryonnaire, la huntingtine coordonne la division cellulaire, présente des activités anti-apoptotiques dans l'ectoderme embryonnaire, et est cruciale pour l'acquisition de la cytoarchitecture neuronale normale (Jurcau 2022). Elle est essentielle à l'orientation du fuseau mitotique, aide à coordonner les cellules en division, et préserve un équilibre entre les cellules progénitrices et les cellules se différenciant prématurément (Wiatr et al. 2018).

Rôle de la HTT dans la mort cellulaire

La HTT peut bloquer l'activation de la caspase-3 et de la caspase-9 ainsi que la formation de l'apoptosome, et inhiber l'activité protéolytique de la caspase-3 en interagissant directement avec elle. De plus, en inhibant la formation du complexe interacteur HIP1–HIP1-protéine, elle empêche l'activation de la caspase-8. La HTT peut également activer des voies de survie cellulaire via la voie phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt (T. Hansen et al. 2019; Jurcau 2022). De plus, la HTT favorise la transcription de facteurs nécessaires à la survie neuronale, tel que le BDNF et intervient également dans son transport axonal à la synapse cortico-striatale (Saudou et Humbert 2016).

Rôle de la HTT dans la régulation transcriptionnelle

La HTT est majoritairement cytoplasmique mais est aussi retrouvée dans le noyau. La région polyQ est un motif commun à des facteurs de transcription et agit comme un domaine de régulation de la transcription en modulant l'interaction entre les facteurs et les régulateurs de la transcription. Ainsi, la HTT se lie à de nombreux facteurs de transcription mais aussi à des activateurs/répresseurs de la transcription tels que le co-répresseur transcriptionnel CtBP (C-terminal binding protein), la protéine p53, NF-kB (nuclear factor-kB), les co-activateurs transcriptionnels CA150 (Gln-Ala repeat transcriptional activator), CREB (cAMP Response Element-Binding Protein) et CBP (CREB- binding protein) (Jurcau 2022).

Le facteur de transcription CREB se lie aux éléments d'ADN qui contiennent une séquence CRE dans leurs promoteurs. La phosphorylation de CREB par la protéine kinase A permet le recrutement ultérieur de la protéine de liaison à CREB (CBP), qui remodèle la chromatine en une architecture ouverte grâce à son activité histone désacétylase intrinsèque. Par la suite, d'autres facteurs de transcription sont recrutés, conduisant à la phosphorylation du domaine carboxy-terminal de l'ARN polymérase II et à l'initiation de la transcription (Shaha et Godad 2026).

La protéine de spécificité 1 (SP1) est un facteur de transcription se liant à l'ADN au niveau d'éléments de réponse spécifique présent dans la région promotrice des gènes. La liaison de la HTT à SP1 renforce son interaction avec TAF II 30 (facteur II 30 associé à la protéine TATA-box) qui agit comme un coactivateur. La surexpression de SP1 est associée à une augmentation de l'expression de La HTT sauvage et à une diminution de la toxicité cellulaire de la mHTT (Xiang et al. 2018).

La HTT régule également l'activité des gènes qui contiennent des séquences NRSEs (neuron-restrictive silencer elements) en modulant le recrutement nucléaire des facteurs de transcription se liant aux NRSE. La HTT interagit avec le REST–NRSF (repressor-element-1 transcription factor–neuron-restrictive silencing factor) dans le cytoplasme, réduisant sa disponibilité pour les sites de liaison nucléaire des NRSE, favorisant ainsi la transcription des gènes neuronaux contenant des NRS, tels que le gène BDNF (Shaha et Godad 2026).

De plus, la HTT peut également se lier à récepteurs nucléaires tel que LXRa, PPARg (peroxisome proliferator-activated receptor-g), VDR (vitamin D receptor) et TRa1 (thyroid hormone receptor-a1) (Saudou et Humbert 2016).

Grâce à ces interactions, la HTT peut potentialiser l'action des facteurs de transcription et inhiber les répresseurs (et vice versa) et ainsi promouvoir et réprimer la transcription des gènes avec un large éventail de résultats cellulaires.

Rôle de la HTT dans le transport vésiculaire et l'activité synaptique

Des études de fractionnement subcellulaire ont montré que la HTT est enrichie à la fois dans les fractions pré-synaptiques, associées aux vésicules synaptiques, et post-synaptiques, notamment dans la région PSD (Post-synaptic density) (Barron et al. 2021). Cette localisation stratégique permet à la HTT de coordonner des complexes multiprotéiques impliqués dans le trafic intracellulaire, l'organisation du cytosquelette et la signalisation synaptique. La HTT interagit directement avec les protéines motrices telles que la dyneine ou indirectement via HAP1 (Huntingtin associated protein 1) avec la sous unité p150(de la dynactin et KIF5C (Kinesine family motor protein 5) un membre de la famille des Kinesine-1 (L. Liu et al. 2023). Ce complexe assure le transport antérograde et rétrograde des vésicules synaptiques, des mitochondries, des autophagosomes, des lysosomes et des endosomes précoces vers les terminaisons synaptiques (Caviston et Holzbaur 2009; Saudou et Humbert 2016) (**Figure 17**).

Des études de fractionnement subcellulaire ont montré que la HTT est enrichie à la fois dans les fractions pré-synaptiques, associées aux vésicules synaptiques, et post-synaptiques, notamment dans la région PSD (Post-synaptic density) (Barron et al. 2021). Cette localisation stratégique permet à la HTT de coordonner des complexes multiprotéiques impliqués dans le trafic intracellulaire, l'organisation du cytosquelette et la signalisation synaptique. La HTT interagit directement avec les protéines motrices telles que la dyneine ou indirectement via HAP1 (Huntingtin associated protein 1) avec la sous unité $p150^{Glued}$ de la dynactin et KIF5C (Kinesine family motor protein 5) un membre de la famille des Kinesine-1 (L. Liu et al. 2023). Ce complexe assure le transport antérograde et rétrograde des vésicules synaptiques, des mitochondries, des autophagosomes, des lysosomes et des endosomes précoces vers les terminaisons synaptiques (Caviston et Holzbaur 2009; Saudou et Humbert 2016) (**Figure 17**).

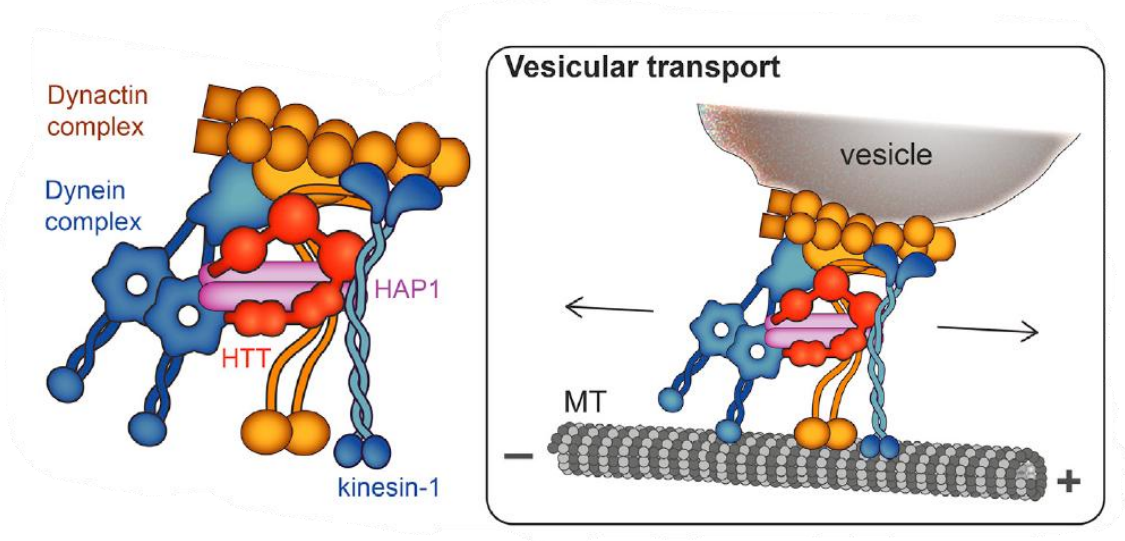


Figure 17 : Rôle de la HTT dans le transport vésiculaire (Saudou et Humbert 2016). *La HTT contrôle le transport vésiculaire le long des microtubules dans le sens antérograde et rétrograde au niveau des axones et des dendrites. MT : microtubule, HAP : protéine associée à la HTT, HTT : huntingtine.*

Au niveau pré-synaptique, la HTT module l'efficacité de l'exocytose dépendante du calcium en régulant l'organisation de l'actine corticale et la mobilité des vésicules synaptiques. De plus, elle interagit avec des HIP1 (Huntingtin interacting protein 1) impliquées dans le trafic intracellulaire de protéines et dans l'endocytose clathrine-dépendante, contribuant au recyclage rapide des vésicules après libération du neurotransmetteur (Saudou et Humbert 2016). L'état de phosphorylation de la HTT au niveau de la sérine 421 par la kinase Akt sert de commutateur moléculaire, ainsi l'état phosphorylé améliore le transport antérograde et la libération du contenu vésiculaire au niveau présynaptique (Saudou et Humbert 2016; Jurcau 2022; Prowse et al. 2023).

Au niveau post-synaptique le complexe HTT-HAP1-KIF5 est associée à la région de densité post-synaptique (PSD) des récepteurs des synapses excitatrice glutamatergiques (AMPA et NMDA) et inhibitrices (GABA). La HTT interagit également avec le récepteur au BDNF, TrkB, et plusieurs protéines clés de la région PSD, notamment PSD-95 et HIP14 (Huntingtin-interacting protein 14), suggérant un rôle dans la stabilisation des récepteurs à la membrane post-synaptique (Barron et al. 2021).La HTT est ainsi impliquée dans la plasticité synaptique en particulier la LTP (potentialisation à long terme). En facilitant l'acheminement du BDNF vers les terminaisons synaptiques et son exocytose activité-dépendante, la HTT favorise l'activation des récepteurs TrkB et les cascades de signalisation associées (PI3K-Akt, MAPK/ERK), indispensables à la consolidation synaptique. De plus, des travaux récents ont montré qu'une diminution de l'expression de la HTT non mutée entraînait une diminution de la LTP hippocampique et cortico-striée, indépendamment de toute toxicité liée à la forme mutée (X. Yang et al. 2024; Jurcau 2022).

Rôle de la HTT dans le métabolisme cellulaire

En conditions physiologiques, la HTT occupe une position centrale dans l'organisation métabolique, indispensable au fonctionnement normal du cerveau (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016). Elle assure la cohérence entre production énergétique, transport intracellulaire, régulation transcriptionnelle et activité fonctionnelle (**Figure 18** : Rôle physiologique de la huntingtine dans l'organisation du métabolisme cellulaire (Adaptée de Kumar et al.,)).En conditions physiologiques, la huntingtine occupe une position centrale dans l'organisation métabolique cellulaire et neuronale et peut être conceptualisée comme un « hub » métabolique indispensable au fonctionnement normal du cerveau (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016). Elle assure la cohérence entre production énergétique, transport intracellulaire, régulation transcriptionnelle et activité fonctionnelle (**Figure 18** : Rôle physiologique de la huntingtine dans l'organisation du métabolisme cellulaire (Adaptée de Kumar et al.,)).

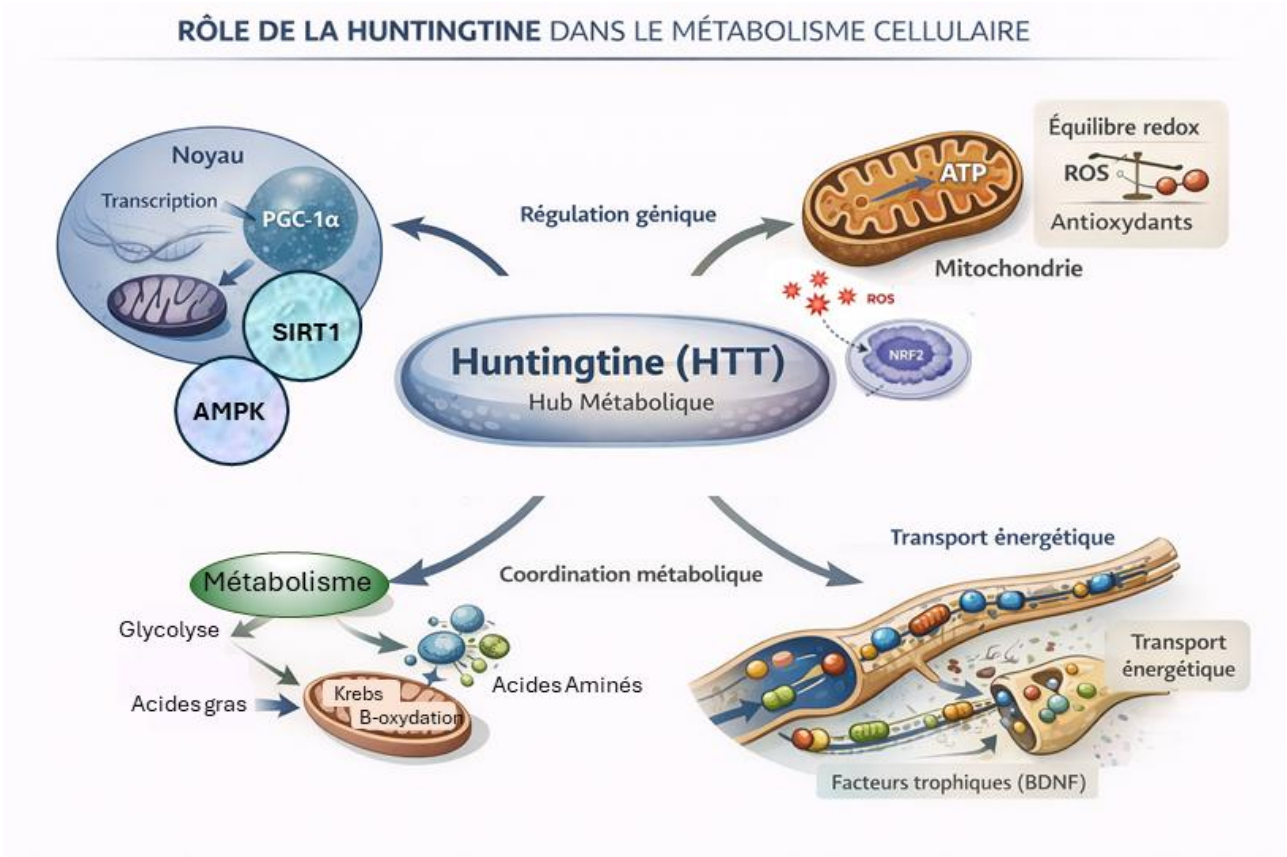


Figure 18 : Rôle physiologique de la huntingtine dans l'organisation du métabolisme cellulaire (Adaptée de Kumar et al.,). *Schéma conceptuel illustrant la HTT comme un hub métabolique central en conditions physiologiques. La HTT coordonne la régulation transcriptionnelle du métabolisme énergétique, l'homéostasie mitochondriale, le transport intracellulaire des mitochondries et la distribution de l'énergie et de facteurs trophiques vers les synapses. Par l'intégration de ces processus, la huntingtine assure la cohérence entre activité cellulaire, production énergétique et maintien de l'homéostasie métabolique neuronale.*

Homéostasie mitochondriale et métabolisme redox

Les neurones, du fait de leurs besoins énergétiques élevés et de leur architecture polarisée, sont particulièrement sensibles à toute altération de la dynamique mitochondriale. Dans ce contexte, la huntingtine apparaît comme un régulateur clé de l'homéostasie mitochondriale, intervenant à plusieurs niveaux : biogenèse, transport intracellulaire, dynamique fission/fusion, bioénergétique, contrôle redox et mitophagie (**Figure 19**). La huntingtine interagit avec plusieurs partenaires clés de la fonction mitochondriale, notamment : des protéines adaptatrices du transport axonal des mitochondries (HAP1, kinesines, dyneines), des régulateurs de la dynamique mitochondriale (DRP1, MFN1/2), des composants de la chaîne respiratoire (de manière indirecte), des protéines impliquées dans la mitophagie (PINK1, Parkin) (U. P. Shirendeb et al. 2012; G. P. Bates et al. 2015a; Guedes-Dias et al. 2016; Jurcau 2022).

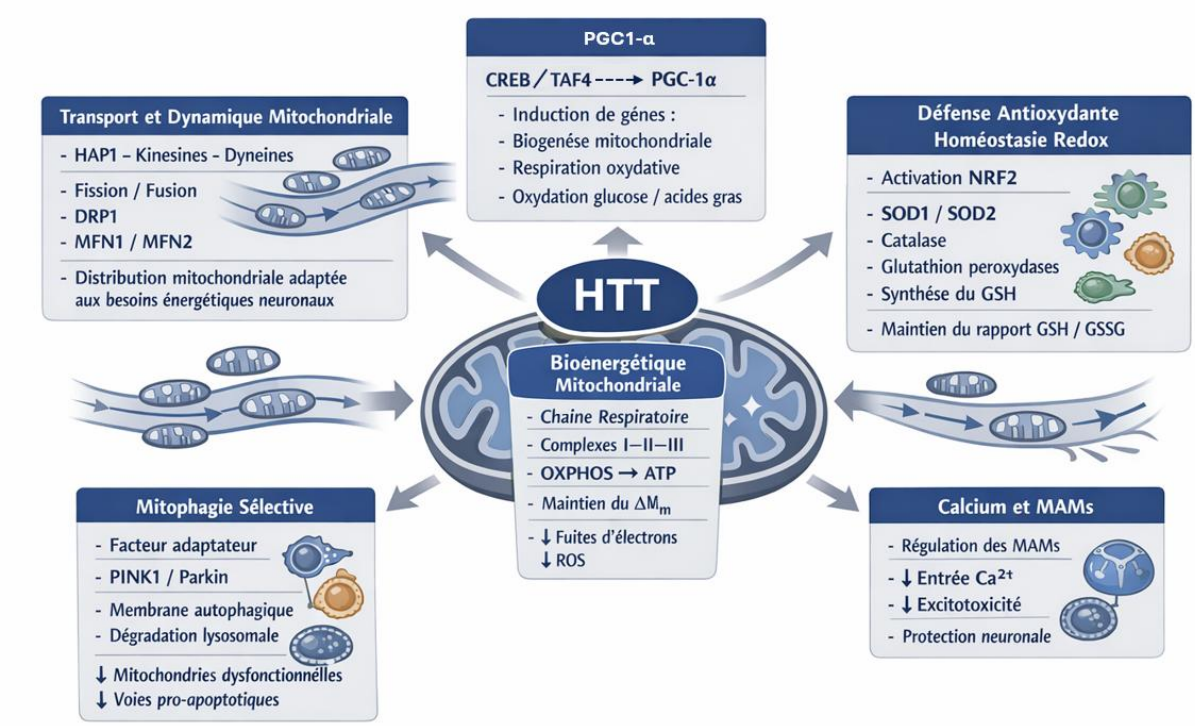


Figure 19 : Rôle de la HTT dans l'homéostasie mitochondriale (adaptée de Tassone et al., 2023 et Jurcau, 2023). *La HTT agit comme un régulateur central de la fonction mitochondriale dans les neurones en coordonnant la biogenèse, la dynamique, le transport intracellulaire, la bioénergétique, la défense antioxydante et la mitophagie. Via l'activation de l'axe CREB–TAF4–PGC-1α, la HTT favorise l'expression de gènes impliqués dans la biogenèse mitochondriale, la respiration oxydative et le métabolisme énergétique. Elle stabilise également la réponse antioxydante dépendante de NRF2, contribuant au maintien de l'homéostasie redox neuronale. Par son rôle dans la mitophagie dépendante de PINK1/Parkin et la régulation des contacts mitochondrie–réticulum endoplasmique (MAMs), la HTT limite l'accumulation de mitochondries dysfonctionnelles, la production excessive de ROS, la dérégulation calcique et l'activation de voies pro-apoptotiques.*

Au niveau bioénergétique mitochondriale la HTT intervient sur l'efficacité de la phosphorylation oxydative (OXPHOS) au niveau des complexes I, II et III de la chaine respiratoire et la production d'ATP adaptée aux besoins neuronaux. Elle participe également au maintien du potentiel de membrane mitochondrial (Jurcau et Jurcau 2022; G. P. Bates et al. 2015a; Guedes-Dias et al. 2016).

La HTT via l'activation du facteur de transcription CREB (voie **CREB–TAF4–PGC-1α)** régule l'expression d'acteurs métaboliques majeurs tels que PGC-1α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha), un coactivateur transcriptionnel clé impliqué dans la biogenèse mitochondriale, la respiration oxydative, la défense antioxydante et le métabolisme des acides gras et du glucose(Cantó et Auwerx 2009; G. P. Bates et al. 2015a; A. P. Kumar et Puthussery 2025).

PGC-1α est fortement exprimé dans les neurones du striatum, région particulièrement vulnérable dans la maladie de Huntington (G. P. Bates et al. 2015a). La HTT favorise ainsi l'expression de gènes impliqués non seulement dans la biogenèse mitochondriale mais également dans l'oxydation des substrats énergétiques et la défense antioxydante (SOD1/2, glutathion peroxydases, catalase) limitant la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Shaha et Godad 2026). La HTT active également des facteurs de transcription sensibles au stress oxydant, notamment NRF2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2) (D'Egidio et al. 2025). La stabilisation de l'activité du facteur de transcription NRF2 par la HTT contribue à l'induction de gènes impliqués dans la synthèse du glutathion (GSH) et au maintien du rapport GSH/GSSG, paramètre critique de l'homéostasie redox neuronale (Tassone et al. 2023).

De plus, La HTT via son rôle dans la mitophagie permet l'élimination sélective des mitochondries dysfonctionnelles limitant ainsi l'accumulation de mitochondries productrices de ROS et l'activation de voies pro-apoptotiques (Guedes-Dias et al. 2016; Tassone et al. 2023). La HTT non mutée facilite l'assemblage des complexes PINK1/Parkin et l'ancrage des mitochondries endommagées aux membranes autophagiques. Elle agit comme un facteur adaptateur, favorisant, la reconnaissance des mitochondries dysfonctionnelles, leur isolation, et leur dégradation lysosomale (Tassone et al. 2023). Enfin, le rôle de la HTT sur la fonction mitochondriale permet également une régulation du calcium intracellulaire et de l'excitotoxicité en limitant l'entrée excessive de Ca^{2+} dans la mitochondrie et en modulant les interactions entre le réticulum endoplasmique et la mitochondrie (MAMs) (Tassone et al. 2023; Jurcau et Jurcau 2022).

Le métabolisme des glucides

Des études dans des modèles *in-vivo* et *in-vitro* de la MH montrent que la HTT intervient dans la signalisation insulinique, la captation du glucose et la glycolyse (Ribeiro et al. 2014; Saudou et Humbert 2016; Jurcau 2022).

La HTT interagit fonctionnellement avec des senseurs énergétiques tels que l'AMPK (AMP-activated protein kinase) et SIRT1 (sirtuin1), et des régulateurs métaboliques comme PGC1α permettant d'ajuster le métabolisme glucidique et lipidiques aux besoins énergétiques cellulaires (**Figure 20**) (Hardie et al. 2012). L'AMPK est une sérine/thréonine kinase activée en réponse à une augmentation du ratio AMP/ATP qui induit une reprogrammation métabolique globale favorisant les voies cataboliques productrices d'ATP et inhibant les processus anaboliques (**Figure 20**).

SIRT1 (Sirtuin-1) est une désacétylase jouant un rôle clé dans l'homéostasie neuronale, elle agit comme capteur métabolique sensible à une augmentation du ratio NAD+/NADH reliant l'état énergétique cellulaire à la régulation transcriptionnelle. L'AMPK et SIRT1, tout comme la HTT (via l'activation de CREB) modulent l'expression et l'activité de PGC1α (A. P. Kumar et Puthussery 2025). L'interaction fonctionnelle de la HTT avec ces adaptateurs métaboliques positionne la HTT comme un régulateur intégratif du métabolisme énergétique, au carrefour entre signalisation, transport du glucose et production d'énergie(Naia et Rego 2015; Ju et al. 2012).

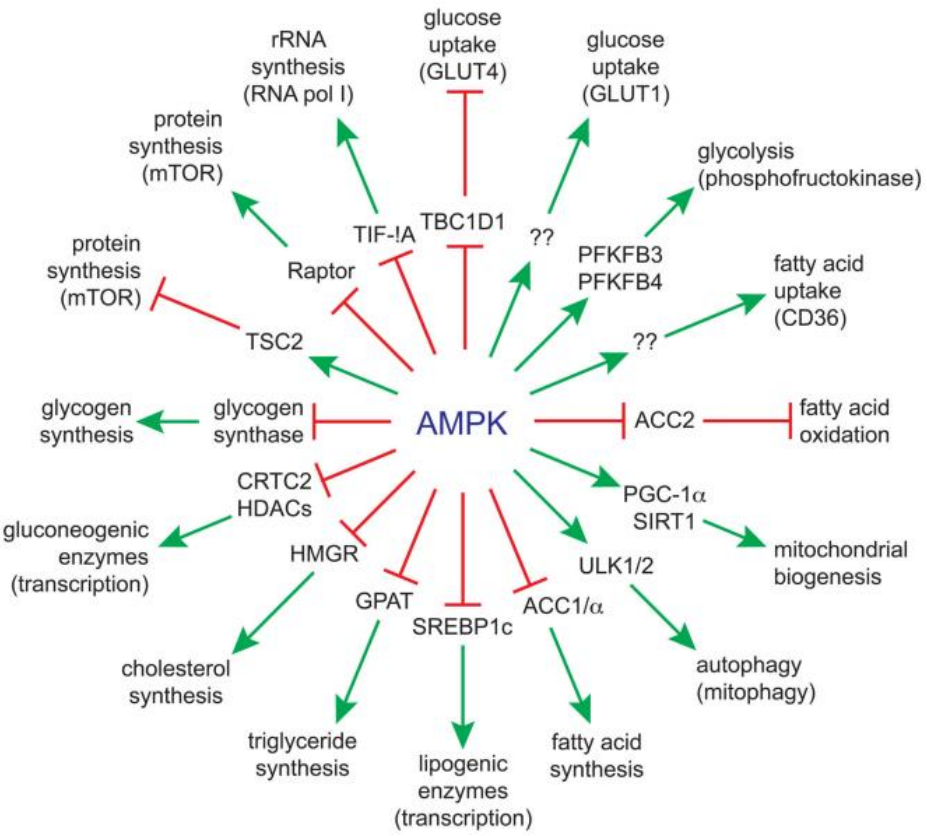


Figure 20 : Résumé des effets de l'activation de l'AMPK sur le métabolisme cellulaire D'après (Hardie et al., 2012). *Voies cataboliques activées par l'AMPK, comme l'absorption du glucose par GLUT4 et GLUT1, la glycolyse, l'absorption des acides gras et leur oxydation mitochondriale, mais aussi la biogenèse mitochondriale, la mitophagie et l'autophagie. A l'opposé l'AMPK inhibe les voies anaboliques de synthèse des protéines, des glucides et des lipides.*

La signalisation insulinique repose principalement sur l'activation de la voie PI3K–AKT, essentielle à la captation du glucose et à la régulation de la glycémie (**Figure 21**). Dans les cellules neuronales la HTT interagit indirectement avec des composants de la voie insulinique, favorisant la phosphorylation d'AKT et la transmission du signal métabolique en aval modulant ainsi l'utilisation du glucose neuronal et la plasticité synaptique (Bryan et Bowman 2017).

Parce qu'ils sont incapables de synthétiser ou de stocker le glucose, les neurones dépendent de son importation. Dans le cerveau des mammifères, GluT1 et GluT3 sont les principaux transporteurs responsables du transport du glucose. GluT1 est détecté dans les cellules gliales telles que les astrocytes et permet le stockage du glucose dans les astrocytes par synthèse du glycogène tandis que GluT3 est le principal transporteur neuronal (Besson et al. 2015). La HTT via l'activation du facteur de transcription CREB stimule la synthèse de GLUT3 et via les complexes moteurs (dynéine/kinésine) intervient dans le recrutement des transporteurs GLUT3 vers la membrane plasmique contribuant ainsi à l'adaptation métabolique locale en fonction de l'activité synaptique (Szablewski 2025; Peng et al. 2021). La HTT participe également à l'organisation spatiale des mitochondries et à leur transport vers les zones de forte demande énergétique ce qui favorise le couplage entre la glycolyse cytosolique et l'oxydation mitochondriale du glucose (U. Shirendeb et al. 2011). Ainsi, La HTT non mutée joue un rôle organisateur dans la production efficace d'ATP à partir du glucose, en assurant une communication optimale entre glycolyse, cycle de Krebs et phosphorylation oxydative.

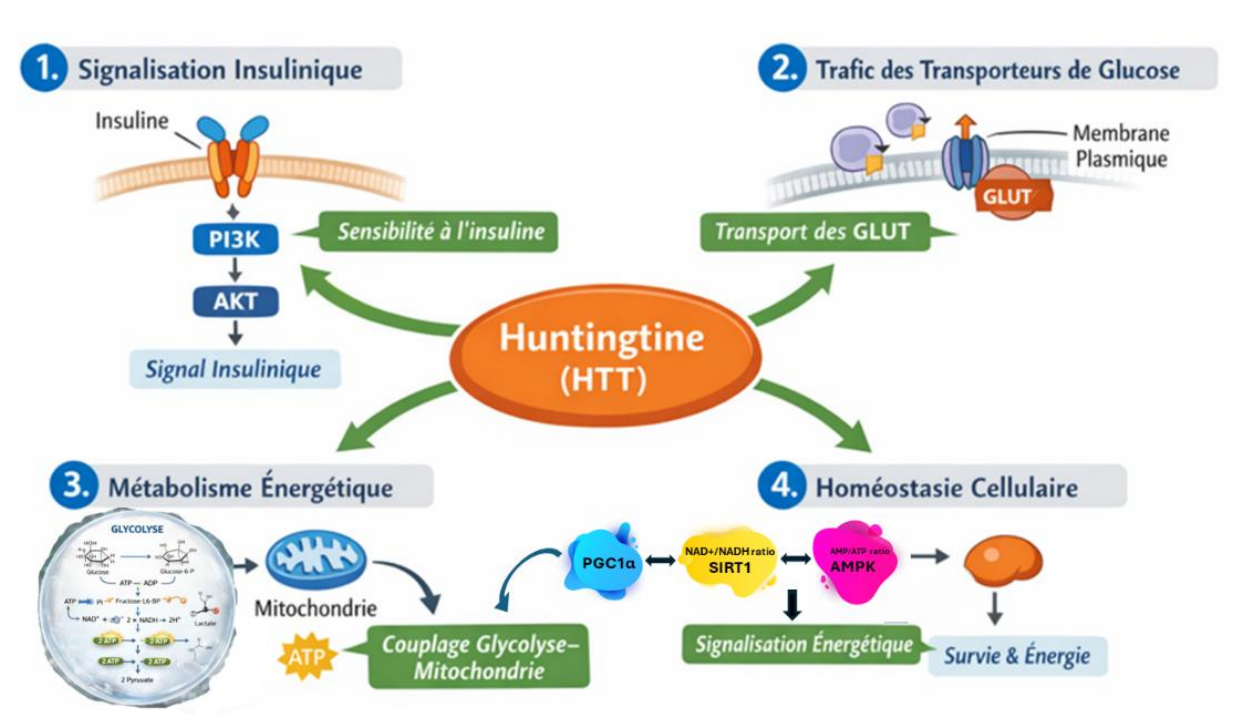


Figure 21 : Rôle de la huntingtine non mutée dans le métabolisme glucidique (Schéma personnel). *La HTT intervient (1) dans la signalisation insulinique via la voie PI3K–AKT, (2) dans le trafic vésiculaire et l'adressage membranaire des transporteurs du glucose (GLUT), (3) dans l'organisation et le transport mitochondrial, favorisant le couplage entre glycolyse et phosphorylation oxydative, et (4) dans l'intégration des signaux énergétiques cellulaires via des senseurs métaboliques. L'ensemble de ces fonctions contribue au maintien de l'homéostasie énergétique et de la survie cellulaire.*

Le métabolisme des lipides

Des données issues de modèles cellulaires et animaux indiquent que la HTT intervient à plusieurs niveaux du métabolisme lipidique : synthèse lipidique, transport intracellulaire, stockage, oxydation mitochondriale et myélinisation (**Figure 22**). Les lipides sont particulièrement essentiels au fonctionnement du système nerveux central, où ils participent à la myélinisation, à la plasticité synaptique et à la survie neuronale (Saudou et Humbert 2016; Jurcau 2022). La HTT intervient indirectement dans la régulation de l'expression d'enzymes impliquées dans la synthèse des acides gras et dans la β-oxydation, notamment via des interactions fonctionnelles avec les adaptateurs métaboliques SIRT1, AMPK et PGC1α. Elle joue également un rôle via la phosphorylation de PGC1α dans l'augmentation de l'expression et de l'activité de l'acylcarnitine transférase 1 (CPT1) sur le transport mitochondrial des acides gras sous leur forme acyl-coA (Jurcau et Jurcau 2022; A. P. Kumar et Puthussery 2025; Cui et al. 2013). La HTT intervient dans le trafic vésiculaire des lipides et des organites impliqués dans leur métabolisme, tels que les gouttelettes lipidiques et les mitochondries au sein desquelles elle contribue à la β-oxydation des acides gras en maintenant une organisation mitochondriale fonctionnelle et une expression adéquate des enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique (Tshilenge et al. 2023).

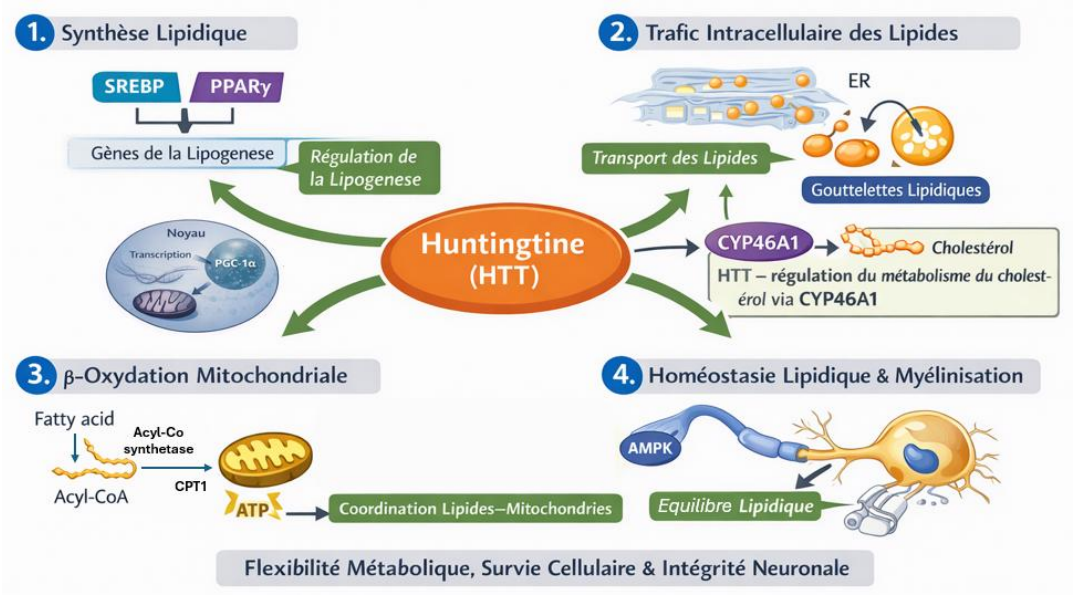


Figure 22 : Le rôle de la HTT dans la régulation du métabolisme lipidique (Schéma personnel). *La HTT intervient dans (1) la régulation de la synthèse lipidique, (2) le trafic intracellulaire des lipides et des gouttelettes lipidiques, (3) la coordination entre lipides et mitochondries favorisant la β-oxydation, et (4) le maintien de l'homéostasie lipidique et de la myélinisation. Ces fonctions contribuent à la flexibilité métabolique, à la survie cellulaire et à l'intégrité neuronale. SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Proteins), PPARγ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma), CPT1 (Carnitine Palmitoyltransferase 1), CYP46A1 (cholestérol-24-hydroxylase).*

La synthèse de novo des lipides repose sur des réseaux transcriptionnels contrôlés notamment par les facteurs SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Proteins) et PPARγ (Kacher et al. 2022; Valenza et al. 2023). La HTT est impliquée dans le métabolisme lipidique des oligodendrocytes, contribuant indirectement à la production et à la maintenance de la gaine de myéline via l'activité de PGC1α sur le métabolisme du cholestérol et l'expression des MBP (Valenza et al. 2023).

Le cholestérol cérébral représente un compartiment métabolique distinct, largement indépendant du cholestérol périphérique en raison de la barrière hémato-encéphalique. Il est majoritairement synthétisé *in situ* par les astrocytes et redistribué aux neurones, où il joue un rôle essentiel dans la formation des membranes, la synaptogenèse, la plasticité synaptique et la myélinisation. L'homéostasie du cholestérol neuronal repose sur un équilibre fin entre synthèse, redistribution et élimination. Cette dernière est assurée notamment par l'enzyme CYP46A1, qui convertit le cholestérol en 24S-hydroxycholestérol, une forme capable de traverser la barrière hémato-encéphalique (Kacher et al. 2022; Valenza et al. 2023). Une diminution de la fonction de la HTT s'accompagne d'une réduction significative de l'expression et de l'activité de CYP46A1 avec une altération du métabolisme du cholestérol neuronal se traduisant par un défaut d'élimination et de renouvellement du cholestérol aboutissant à une rigidification membranaire, une altération du transport des métabolites et une diminution de l'efficacité de la phosphorylation oxydative. Il a été montré qu'une restauration de l'activité de CYP46A1 permettait d'améliorer la fonction mitochondriale, la production d'ATP, la plasticité synaptique et les performances cognitives dans des modèles expérimentaux de la MH, en lien avec une normalisation du métabolisme énergétique (Kacher et al. 2022; Valenza et al. 2023; Parsai et al. 2025).

Le Métabolismes des acides aminés

Le métabolisme des acides aminés soufrés constitue un déterminant majeur de l'homéostasie redox neuronale en assurant l'interface fonctionnelle entre le métabolisme des monocarbones (voir chapitre 2), la défense antioxydante et la fonction mitochondriale (B. Murphy et al. 2019). Dans les neurones, caractérisés par une forte demande énergétique et une capacité antioxydante limitée, la disponibilité en cystéine apparaît comme un facteur clé conditionnant la synthèse du glutathion (GSH) et la production de sulfure d'hydrogène (H_2S), deux systèmes redox étroitement interconnectés.

La voie de transsulfuration permet la conversion irréversible de l'homocystéine en cystéine via deux réactions enzymatiques successives catalysées par la cystathionine β-synthase (CBS) et la cystathionine γ-lyase (CSE) en présence de vitamine B6. Cette voie constitue la seule voie de synthèse endogène de la cystéine chez les mammifères et joue un rôle fondamental dans le système nerveux central, où l'absorption extracellulaire de cystéine est limitée et où les besoins en antioxydants sont élevés en raison de l'intense activité mitochondriale (B. Murphy et al. 2019; Paul et al. 2018) (**Figure 23**).

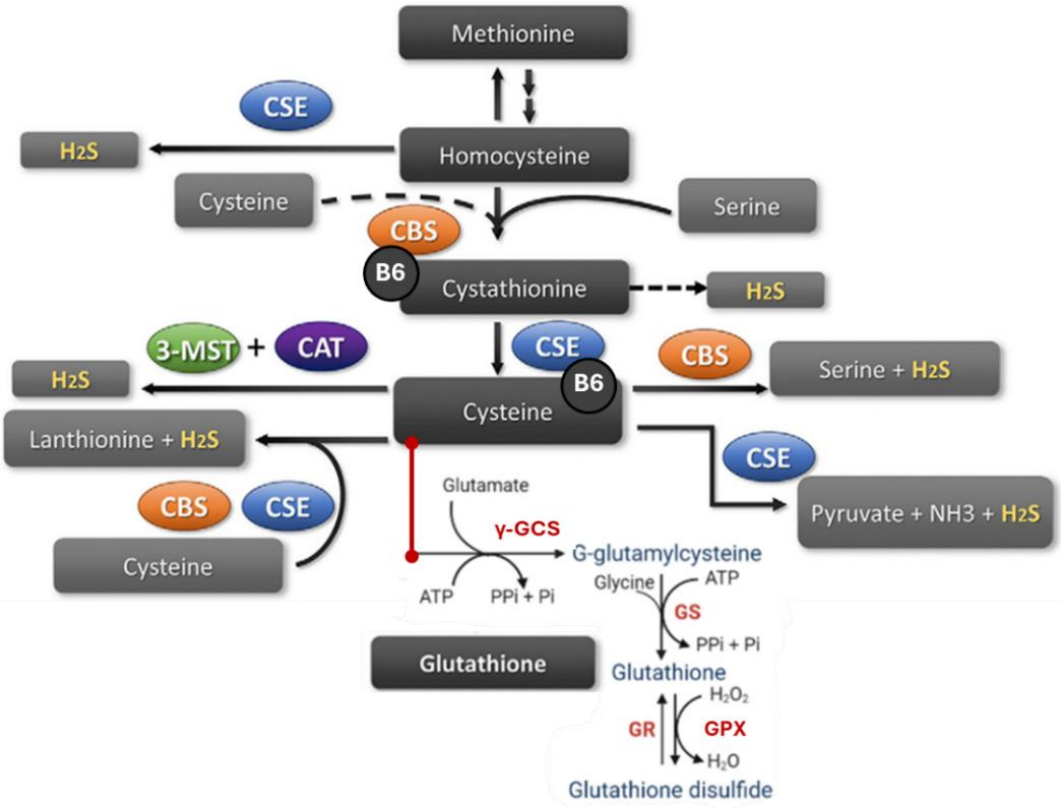


Figure 23 : La voie de la transsulfuration (Modifiée d'après Murphy et al., 2019). *La voie de la transsulfuration joue un rôle central dans le métabolisme soufré et la régulation redox des neurones. Ce métabolisme convertit l'homocystéine en cystéine permettant la synthèse de glutathion et de sulfure d'hydrogène (H2S). Cette voie est la seule voie de synthèse endogène de cystéine chez les mammifères. Cystathionine β-synthase (CBS), cystathionine γ-lyase (CSE), glutamate-cystéine ligase (γ-GCS), glutathion synthase (GS), glutathiones peroxydases (GPx), glutathione reductase (GR), 3-mercaptopyruvate sulfurtransférase (3-MST), cysteine aminotransferase (CAT).*

Le glutathion est un tripeptide composé de glutamate, de cystéine et de glycine, il est synthétisé dans le cytosol en deux étapes ATP-dépendantes, la première catalysée par la glutamate-cystéine ligase (γ-GCS) constituant l'étape limitante et la deuxième par la glutathione synthase (GS). Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle central dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène via les glutathiones peroxydases (GPX), la détoxification des xénobiotiques par les glutathiones S-transférases et le maintien de l'état redox des protéines.

Une fraction essentielle du glutathion cytosolique est importée dans la mitochondrie afin de constituer le pool de glutathion mitochondrial indispensable à la détoxification du peroxyde d'hydrogène généré par la chaîne respiratoire, au contrôle de l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale et à la régulation de la mort cellulaire. Le maintien du glutathion sous sa forme réduite dépend de la disponibilité en NADPH mitochondrial (Sbodio et al. 2019a; Paul et al. 2018).

La cystéine est également métabolisée en H_2S par la CBS, la CSE et la 3-mercaptopyruvate sulfurtransférase (3-MST). Le H_2S est un gazotransmetteur endogène exerçant des effets pléiotropes sur la fonction mitochondriale. À des concentrations physiologiques, il stimule la respiration mitochondriale (complexe II et IV), module l'activité de certains complexes de la chaîne respiratoire et favorise la persulfidation de résidus cystéine sur des protéines mitochondriales, un mécanisme post-traductionnel protecteur contre l'oxydation (B. Murphy et al. 2019). À l'inverse, une production excessive de H_2S peut inhiber le complexe IV de la chaine respiratoire et compromettre la respiration mitochondriale, soulignant la nécessité d'un contrôle fin de cette voie.

Le glutathion et le H_2S ne constituent pas des systèmes indépendants mais forment un réseau redox intégré. Le glutathion participe au métabolisme et à la neutralisation du H_2S, tandis que le H_2S peut stimuler la synthèse ou la régénération du glutathion. Cette interconnexion permet de stabiliser l'environnement redox mitochondrial et de préserver la fonction bioénergétique dans des cellules à forte demande énergétique, telles que les neurones (B. Murphy et al. 2019).

Toute altération de la transsulfuration ou de la disponibilité en cystéine entraîne une diminution conjointe des niveaux de glutathion et de H_2S, conduisant à une fragilisation du système antioxydant mitochondrial. Cette situation favorise l'accumulation de dommages oxydatifs, la dysfonction de la chaîne respiratoire et une vulnérabilité accrue des neurones, phénomène observé dans plusieurs pathologies neurodégénératives dont la MH (Paul et al. 2022b; Sbodio et al. 2019c). La HTT participe directement à la régulation de la voie de la transsulfuration à plusieurs niveaux. En effet, la HTT est une protéine chaperonne pour les 2 enzymes de cette voie : la CBS (Brune et al. 2004a) et la CSE (Sbodio et al. 2019c; Paul et al. 2022b). La liaison de la HTT à la CSE augmenterait son activité enzymatique (Paul et al. 2022b).

LaHTT intervient également dans la régulation transcriptionnelle de l'expression de la CSE via l'activation de l'expression du facteur de transcription SP1 en condition basale ou par le facteur de transcription ATF4 en réponse à une diminution de la cystéine (Sbodio et al. 2016) (**Figure 24**). Au-delà de son rôle biosynthétique, la voie de la transsulfuration contribue à la prévention de l'accumulation toxique de l'homocystéine, dont l'élévation est associée à un stress oxydant, à des altérations mitochondriales et à une neurotoxicité accrue, nous détaillerons cette partie dans le chapitre sur le métabolisme des monocarbones.

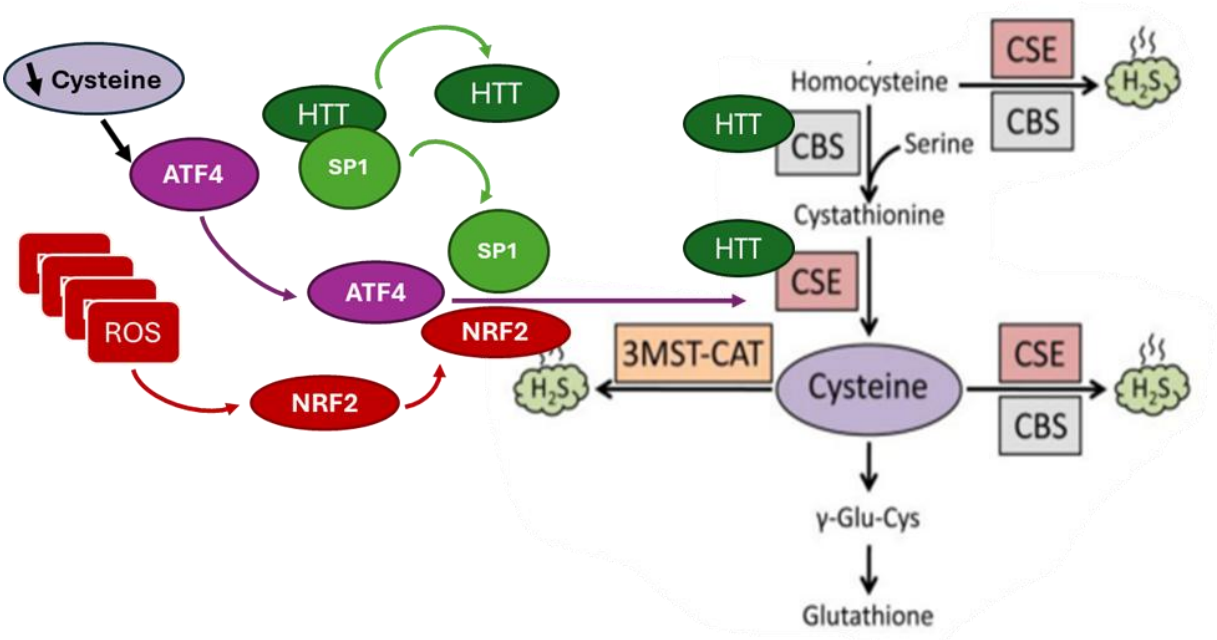


Figure 24 : Régulation de la voie de la transsulfuration par la HTT (Modifiée d'après Paul et al., 2018). *La HTT chaperonne directement la CBS et la CSE. D'autre part, elle interagit avec le facteur de transcription SP1 qui régule l'expression de la CSE. Deux autres facteurs interviennent dans l'expression de la CSE, ATF4 qui est activé en cas de déficit en cystéine et NRF2 qui est activé en cas de stress oxydant. Cystathionine β-synthase (CBS), cystathionine γ-lyase (CSE), glutamate-cystéine ligase (γ-GCS), 3-mercaptopyruvate sulfurtransférase (3-MST), cysteine aminotransferase (CAT), Sulfure d'hydrogène (H2S), ROS (reactive oxygen species), SP1 (protéine de spécificité 1), NRF2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2), ATF4 (Activating transcription factor 4).*

Rôle de la HTT dans l'homéostasie protéique

La HTT est une molécule d'échafaudage dans la macroautophagie sélective (Rui et al. 2015) (**Figure 25**). Elle coordonne les étapes d'initiation de l'autophagie et de reconnaissance du cargo en rapprochant des protéines clés (p62, ULK1, LC3) pour assurer une autophagie sélective efficace des protéines agrégées ou des organites endommagés. Ainsi, la HTT se lie à ULK1, une kinase initiatrice de l'autophagie, ce qui libère ULK1 de l'inhibition par mTOR et active l'autophagie, elle interagit également avec le récepteur d'autophagie p62/SQSTM1, facilitant la reconnaissance et l'incorporation de cargos ubiquitinés dans les autophagosomes via LC3 et la liaison au lysosome (Krzystek et Gunawardena 2025).

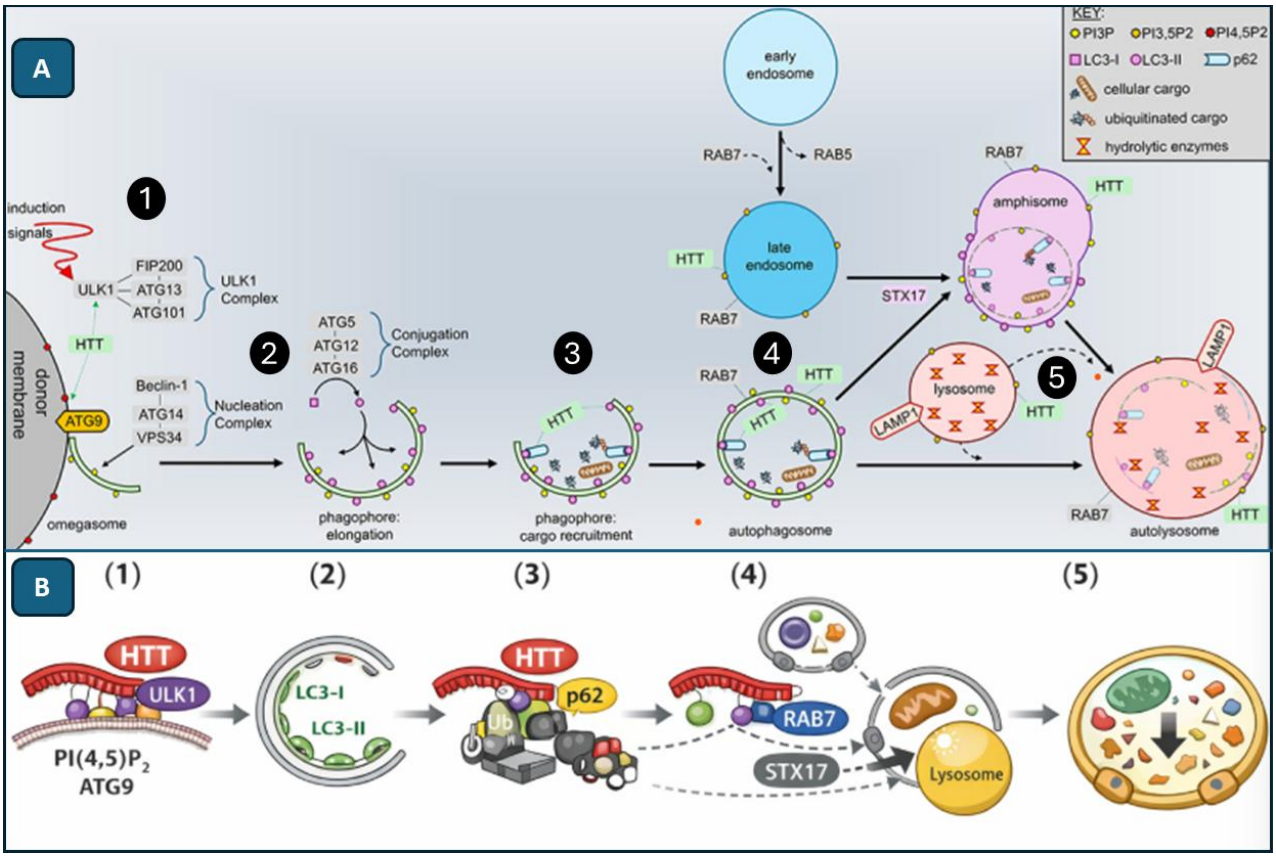


Figure 25 : Rôle de la HTT dans la macroautophagie (Modifiée d'après Krzystek et al., 2025). *(A) Rôle de la HTT dans la voie autophagie–lysosome. (1) HTT interagit avec ULK1, facilitant son recrutement sur les membranes contenant PI4,5P2 et ATG9, (2) entraînant la nucléation des phagophores et la conjugaison de LC3–I à LC3–II. (3) HTT peut interagir avec p62 pour le recrutement des cargos de débris cellulaires, d'organites endommagés et de protéines ubiquitinées. (4) HTT s'associe aux autophagosomes et aux endosomes tardifs, agissant de concert avec RAB7 pour le transport microtubules dépendant vers les lysosomes après une fusion médiée par STX17. Enfin (5), HTT est impliqué dans la fusion des lysosomes avec à la fois des autophagosomes et des amphisomes pour la dégradation de la cargaison cellulaire. (B) Représentation schématique simplifié du rôle de la HTT dans la macroautophagie.*

La HTT possède un domaine de liaison à l'ubiquitine, elle participe au maintien de l'homéostasie protéique via la régulation lysosomale des protéines ubiquitinylées et régule ainsi le ciblage des protéines mitochondriales, des protéines de liaison à l'ARN (RBPs), des protéines des granules de stress, du protéome nucléaire et du protéome des produits ribosomiques défectueux (DRiPs). De plus, la HTT contribue à la mitophagie basale jouant ainsi un rôle protecteur essentiel dans la clairance cellulaire(Fote et al. 2024; Jurcau 2022).

Le protéasome quant à lui permet un équilibre entre expression, conformation et localisation correcte des protéines (**Figure 26**). Le repliement des protéines dans leur conformation correcte est médié par des molécules chaperonnes (environ 90 chaperons décrits) et des co-chaperonnes (environ 250 identifiées). Si le repliement des protéines est infructueux, la protéine doit être repliée dans sa structure correcte, ou elle sera ubiquitylée et ciblée pour dégradation via le système d'ubiquitine–protéasome (UPS), qui agit à la fois dans le cytoplasme et le noyau ou par la voie lysosome/autophagie, qui fonctionne principalement dans le cytoplasme.

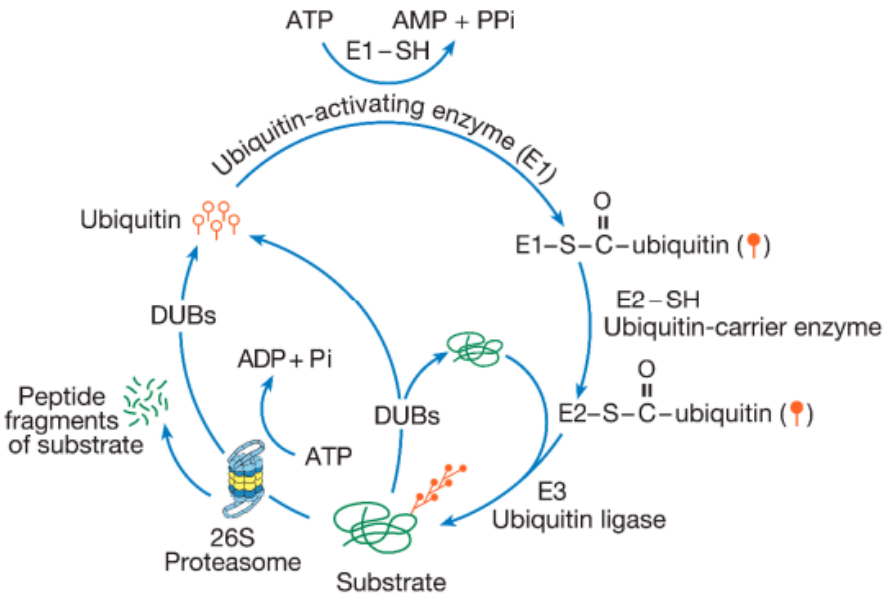


Figure 26 : Le complexe ubiquitine-protéasome (Hedge et al., 2025). *L'ubiquitine (en orange, cercle ouvert) est activée par l'enzyme E1 pour former un intermédiaire avec l'AMP (orange cercle fermé). Cette ubiquitine activée sera transférée à E2 qui est une enzyme de conjugaison permettant le transfert à la 3ème enzyme de la voie qui est la ligase E3. E3 catalyse la liaison de l'ubiquitine activée sur le substrat cible. Ensuite de nouvelles molécules d'ubiquitine seront rajoutées sur la première aboutissant à la poly-ubiquitinylation de la cible. Les substrat poly-ubiquitinylés seront dégradés par le protéasome 26S et la chaine de poly-ubiquitine sera recyclée par des enzymes de dé-ubiquitinylation (DUB). Le processus de dé-ubiquitinylation est réversible avant la dégradation par le protéasome.*

Pour la dégradation médiée par UPS, les substrats protéiques sont étiquetés par poly-ubiquitinylation, un processus catalysé par un complexe à trois enzymes : une enzyme activant l'ubiquitine (E1), une enzyme de conjugaison (E2), et une ligase (E3). Les protéines poly-ubiquitinylées sont ensuite reconnues par le protéasome 26S.

Au sein du système UPS la HTT interagit avec plusieurs chaperonnes et/ou co-chaperonnes notamment de la famille des Heat Shock Protein (HSP). Elle est également ubiquitinylée par plusieurs E3 ligases, telles que CHIP (terminaison carboxyle de la protéine interagissant avec Hsc70), Parkin, WWP1 (WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1), ou HACE1 (HECT domain and répétitions ankyrines contenant la protéine ligase 1 de l'ubiquitine E3)(Hui Yang et al. 2007; Hegde et al. 2025; Jurcau 2022).

4- Conséquences cellulaires et moléculaires de la mutation de la HTT

Le mécanisme de cytotoxicité de la mHTT dépend du niveau d'expression, du taux d'épissage aberrant, de l'activité des différentes protéases mises en jeu ainsi que de la disponibilité des sites de MPT (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016). Les oligomères de la partie N-terminale de la mHTT forment des fibrilles puis des inclusions plus larges dans le cytoplasme et le noyau. Il a été montré que le seuil de concentration requis pour l'auto-agrégation des molécules de mHTT diminue avec l'augmentation de la longueur de l'expansion polyQ. Ces agrégats ne sont pas uniquement composés de molécules de mHTT mais aussi de ses différents partenaires comme l'ubiquitine, des facteurs de transcriptions et même de la HTT non mutée. Si les symptômes de la maladie suggèrent une atteinte majeure du système nerveux central, et en particulier des MSN du striatum (**Tableau I**) (Bergonzoni et al. 2021),des inclusions se forment également dans de nombreux types cellulaires périphériques (Moffitt et al. 2009). Cependant, ces inclusions se produisent majoritairement dans des cellules post-mitotiques suggérant un effet protecteur de la division cellulaire dans la cytotoxicité (G. P. Bates et al. 2015a).

La pathogénie de la MH repose sur un double déséquilibre : un gain de fonction toxique de la HTT mutée (mHTT) et une diminution fonctionnelle des rôles physiologiques de la HTT sauvage résultant de l'expression de l'allèle non muté (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016). Les principales dérégulations se manifestent par des :

- Dysfonctionnements transcriptionnels et de la signalisation intracellulaire (Naia et Rego 2015; Shaha et Godad 2026; Jurcau 2022; A. P. Kumar et Puthussery 2025)
- Perturbations du transport vésiculaire (Reddy et Shirendeb 2012; Jurcau 2022), du recyclage endocytaire et de la fonction synaptique (Nithianantharajah et Hannan 2013; Saudou et Humbert 2016)
- Altérations du métabolisme cellulaire (Johri et al. 2013; Leoni et Caccia 2014; Kacher et al. 2022; Jurcau 2022; Valenza et al. 2023; Tshilenge et al. 2023): mitochondrial, glucidique, lipidique et la production de stress oxydant.
- Excitotoxicité liée au calcium (Shaha et Godad 2026)
- Altérations de l'homéostasie protéique : stress du réticulum endoplasmique, perturbation du système ubiquitine-protéasome ainsi que de l'autophagie (Labbadia et Morimoto 2013; Vidal et al. 2011; Ortega et Lucas 2014; Martin et al. 2015)
- Troubles de la réaction immunitaire et neuroinflammation (Ellrichmann et al. 2013; Jurcau 2022).

5- Perturbation du transport vésiculaire et de la fonction synaptique.

La HTT normale régule le transport bidirectionnel des organelles et des vésicules synaptiques via ses interactions avec HIP1, HAP1 et les moteurs moléculaires (Saudou et Humbert 2016; Jurcau 2022; Prowse et al. 2023). La HAP1 se lie préférentiellement à la mHTT réduisant ainsi l'interaction avec le complexe dynactin/p150^{glued} et la liaison aux microtubules avec pour conséquence une altération du transport du BDNF, des vésicules synaptiques et des mitochondries vers l'éléments présynaptique(Jurcau 2022; L. Liu et al. 2023). Il a également été montré que l'affinité de liaison entre HIP1 et la mHTT diminue proportionnellement au nombre de résidus CAG entrainant des anomalies du cytosquelette (Saudou et Humbert 2016; Jurcau 2022). La mHTT séquestre également la GAPDH vésiculaire dans les agrégats avec pour conséquence une altération de la production en ATP nécessaire au transport.

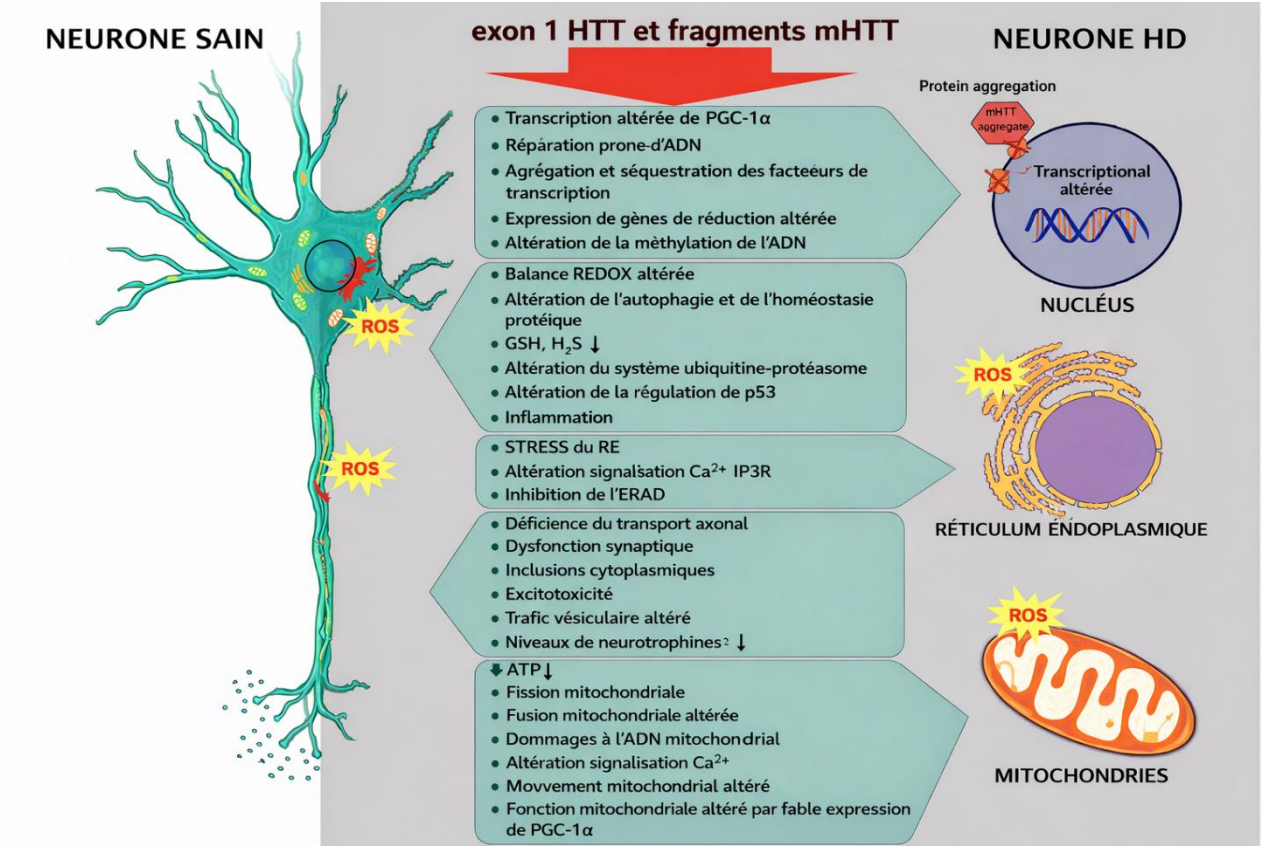


Figure 27 : Principales dérégulations pathogènes dans la MH (Egidio et al., 2023). *Schéma illustrant les principales altérations cellulaires associées à la MH. L'accumulation de mHTT forme des agrégats toxiques perturbant la transcription génique, le transport nucléocytoplasmique et l'homéostasie protéique. Elle altère aussi la fonction mitochondriale, augmente les ROS et perturbe plusieurs voies cellulaires (autophagie, système ubiquitine-protéasome, cytosquelette), contribuant à la neurodégénérescence progressive.*

L'altération du trafic mitochondrial entraîne une accumulation de mitochondries fragmentées dans les corps cellulaires, du stress oxydant et des perturbations énergétiques à la synapse. Au niveau post-synaptique l'altération par la mHTT du transport rétrograde des endosomes entraine une perturbation du trafic intracellulaire des récepteurs membranaires post-synaptique avec des anomalies de localisation du récepteur au BDNF et une relocalisation extra-synaptique des récepteurs AMPA et NMDA contribuant à l'excitotoxicité glutamatergique et amplifiant les signaux pro-apoptotiques dépendants de la dérégulation du calcium intracellulaire provenant de l'altération des mitochondries et du réticulum endoplasmique (D'Egidio et al. 2023; Guedes-Dias et al. 2016; L. Liu et al. 2023) (**Figure 27**) .

6- Altération de l'homéostasie protéique dans la MH

Au niveau du réticulum endoplasmique les oligomères de mHTT interfèrent avec les composants du système ERAD (ER-associated degradation) principal mécanisme de contrôle qualité responsable du ciblage des protéines mal repliées (réponse UPR : unfolded protein response) pour la dégradation cytosolique via le système UPS ou l'autophagie. Si l'homéostasie protéique ne peut être restaurée l'activation chronique de la réponse UPR entraine la mort cellulaire. Dans la MH, l'inhibition du système ERAD et l'altération de l'UPR ont été observées dans plusieurs modèles in vitro et in vivo (D'Egidio et al. 2023).

Le facteur de choc thermique 1 (HSF1) est un facteur de transcription agissant comme régulateur clé des protéines de choc thermique (HSP). En réponse aux conditions de stress protéotoxique, HSF1 est soumis à un cycle d'activation et d'atténuation en plusieurs étapes. Le monomère HSF1 inactif est conservé dans le cytoplasme dans un complexe avec de protéines chaperonnes telles que Hsp 40, 70 et 90, ainsi que TRiC (cytosolic chaperonin TCP1 ring complex). Lors de la détection du stress, HSF1 est modifié par plusieurs modifications post-traductionnelles activatrices qui favorisent sa translocation nucléaire, sa liaison à l'ADN et l'activation transcriptionnelle des gènes cibles de concert avec le recrutement de cofacteurs (Kim et Gomez-Pastor 2023). Dans le modèle mutin R6/2 de la MH, la transcription de plus d'un tiers des gènes cibles de HSF1 est altérée, interférant significativement avec la protéostasie (Neueder et al. 2017; Jurcau 2022). De plus, l'expression de la protéine HSF1 est fortement diminuée dans les modèles *in vitro* et *in vivo* de la MH, dans les cellules souches pluripotentes humaines inductibles différenciées et chez les patients atteints de HD, avec un défaut concomitant dans l'expression du gène cible HSF1 (Gomez-Pastor et al. 2017).

La production chronique de mHTT mal repliées séquestre les molécules chaperonnes, en parallèle, le vieillissement s'accompagne d'une diminution de la disponibilité des molécules chaperonnes. Ces deux mécanismes entraînent un défaut chronique de disponibilité des molécules chaperonnes et l'accumulation d'autres protéines mal repliées qui sont détournées vers le protéasome dépassant sa capacité de clairance et créant ainsi une altération du système UPS. Les voies de clairance énergie-dépendantes sont également altérées par le dysfonctionnement mitochondrial. L'effondrement de la protéostasie augmente les niveaux de mHTT, ce qui peut déclencher l'apoptose ou favoriser l'agrégation et la formation des corps d'inclusions.

En séquestrant la mHTT, les inclusions peuvent prolonger la survie cellulaire, mais ils recrutent également des composants de la protéostasie, dans un cercle vicieux qui perturbe progressivement l'homéostasie cellulaire pour finir par culminer en nécrose (**Figure 28**) (Ramdzan et al. 2017; Jurcau 2022).

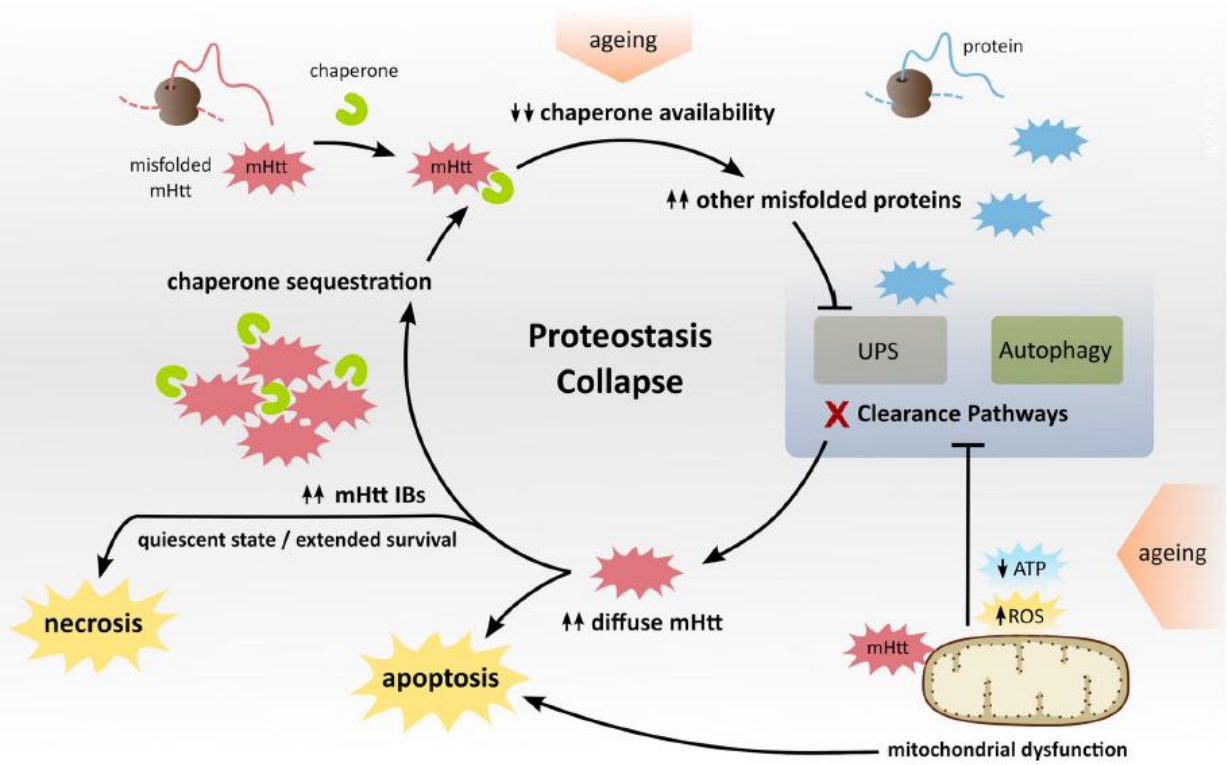


Figure 28 : Altération de l'homéostasie protéique et de l'autophagie dans la MH (Soares et al. 2019). *La forme mal repliée de la mHTT séquestre les molécules chaperonnes et le vieillissement cérébral s'accompagne d'un déficit en molécules chaperonne. La synergie des deux mécanismes, associé au dysfonctionnement mitochondrial, aboutit à la saturation des capacités de clairance cellulaire et à la mort cellulaire soit par apoptose, soit par nécrose en lien avec l'accumulation des agrégats et des corps d'inclusions (Ibs).*

L'autophagie est également perturbée dans la MH, la mHTT perturbe les interactions entre la région C-terminal de la HTT et les récepteurs autophagiques p62 ce qui compromet la reconnaissance et le recrutement de débris cellulaires, d'organites endommagés et de protéines ubiquitinées. De plus, la mHTT perturbe le transport axonal des autophagosomes, via sa liaison à HAP1, impactant la fusion autophagosome-lysosome et la dégradation des cargos (Guedes-Dias et al. 2016; Jurcau 2022). Dans le cerveau des patients MH il a été retrouvés de nombreux autophagosomes vides, sans chargements. De plus, si la fusion autophagosome-lysosome est dysfonctionnelle, les autophagosomes non fusionnés s'accumuleront et seront toxiques pour la cellule (Valionyte et al. 2020) (**Figure 28** ,**Figure 29**).

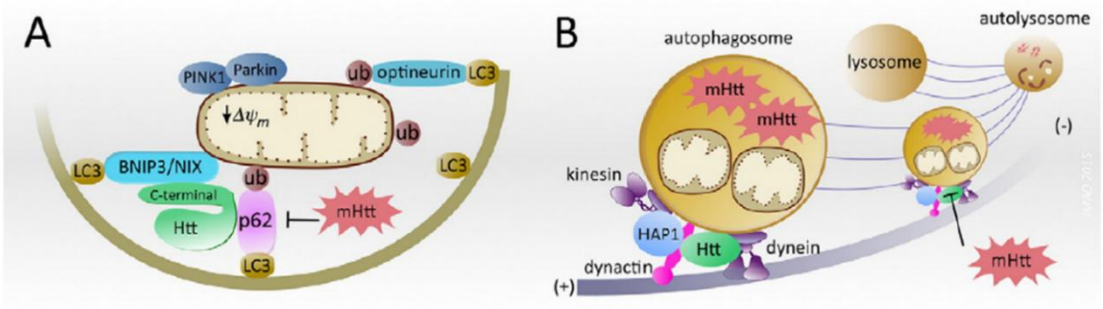


Figure 29 : Altérations de la macroautophagie dans la MH (Guedes-Dias et al., 2016). *La mHTT interagit avec p62 limitant la reconnaissance des éléments ubiquitinylés par LC3 et leur incorporation dans les cargos. (B) La liaison de la HTT de type sauvage à HAP1 limite l'action de la kinésine et favorise le transport rétrograde médié par le complexe dynéine-dynactine et la fusion des autophagosomes avec les lysosomes. La mHTT perturbe la liaison HTT-HAP1, le transport rétrograde et limite la clairance des cargos.*

7- Dysfonctionnements transcriptionnels et altérations de la signalisation

La mHTT peut interférer directement avec des facteurs de transcription ou coactivateurs tels que la protéine de liaison à l'élément de réponse cAMP (CREB), la protéine de liaison à CREB (CBP), le suppresseur de tumeur p53, HSF1, SP1, NF-κB ou la protéine de liaison TATA (TBP), ainsi que de nombreux autres facteurs. La transcription est également altérée par la perte d'interaction normale de la HTT avec des systèmes transcriptionnels tels que le complexe REST/NRSF (facteur de transcription RE1-silencing/neuron restrictive silencer factor), physiologiquement retenu par la HTT de type sauvage dans le cytoplasme et qui, en cas de perte d'un seul allèle, est transloqué dans le noyau modifiant l'expression de gènes neuronaux comme le BDNF (G.-L. Chen et al. 2017; Jurcau 2022). La mHTT inhibe la phosphorylation de CREB et l'activité acétyltransférase de CBP en la séquestrant dans les agrégats nucléaires, ce qui empêche sa translocation nucléaire. En outre, l'expression de TORCs (transducers of regulated CREB activity) est diminuée dans le striatum des souris transgénique R6/1, et dans le striatum des patients MH (Moily et al. 2017). Ce défaut de signalisation de la voie CREB entraine des altérations de la survie cellulaire et de la plasticité synaptique en lien avec la diminution du BDNF et des perturbations de la dynamique des récepteurs AMPA/NMDA (LPT), mais également du métabolisme énergétique et le stress oxydant via la répression de l'expression de PGC1α, du Cytochrome c et d'ATF4 (Vercauteren et al. 2006; Delgado et Owens 2012; Jurcau 2022). Il a également été montré chez les patients atteints de la MH à un stade précoce, que les niveaux d'ARNm de PGC-1α étaient diminués dans le striatum (noyau caudé), mais pas encore dans l'hippocampe ou le cervelet, signe d'une atteinte plus précoce de ces voies dans le striatum (D'Egidio et al. 2025; Guedes-Dias et al. 2016).

8- Altérations du métabolisme cellulaire

En plus de réprimer l'expression de PGC1α, la mHTT peut aussi interagir directement avec PGC1α et inhiber son activité impactant l'homéostasie mitochondriale et le métabolisme énergétique (Tassone et al. 2023; A. P. Kumar et Puthussery 2025; Johri et al. 2013). Les altérations de l'expression et de l'activité de PGC-1α par la mHTT affectent la fonction mitochondriale en perturbant : la biogenèse mitochondriale, la chaîne respiratoire (OXPHO), la production d'ATP, l'homéostasie calcique, et la mitophagie. Le dysfonctionnement mitochondrial et le défaut d'activation de NRF2 génère respectivement une accumulation de ROS, une inefficacité de la défense antioxydante, une perte du potentiel membranaire mitochondriale et la libération de signaux pro-apoptotiques. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) générés oxydent les protéines, les lipides membranaires, ainsi que nucléaires et l'ADN mitochondrial, jouant un rôle crucial dans la pathogenèse de la MH (Guedes-Dias et al. 2016; Jurcau 2021). De plus, la mHTT se lie à DRP1 avec plus d'affinité que la protéine de type sauvage, provoquant un déséquilibre des processus de fission-fusion mitochondriaux en faveur de la fission (**Figure 30)** (Johri et al. 2013; Guedes-Dias et al. 2016; D'Egidio et al. 2025).

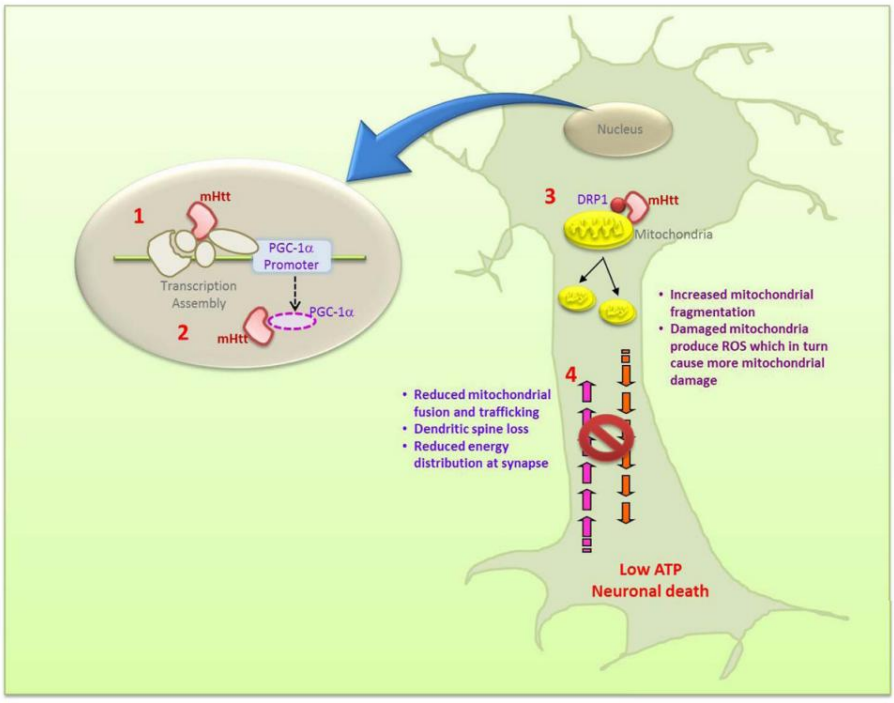


Figure 30 : La mHTT provoque un dysfonctionnement mitochondrial dans la MH par de multiples mécanismes (Johri et al., 2013). *La huntingtine mutée : (1) elle se lie à CREB/ATF4 au niveau du promoteur PGC-1α en réduisant son expression ; (2) elle se lie à PGC-1α en réduisant directement son activité, ce qui entraîne une expression réduite des gènes cibles de PGC-1α tels que ceux impliqués dans la biogenèse mitochondriale, la défense antioxydante et la synthèse du BDNF ; (3) elle se lie à DRP1 avec plus d'affinité que la protéine de type sauvage, provoquant un déséquilibre des processus de fission-fusion mitochondriaux en faveur de la fission ; et (4) elle interfère avec le transport vésiculaire des mitochondries.*

En plus de ses effets directs sur l'expression et l'activité de PGC-1α, la mHTT s'agrège dans le noyau et interagit directement avec l'activité de SIRT1, affectant plusieurs cibles en aval telles que PGC-1α, FOXO3a et le complexe TORC-CREB, impactant encore plus la transcription des gènes qui modulent la biogenèse mitochondriale (NRF2 et TFAM), la défense antioxydante et le soutien neurotrophique (BDNF). L'inhibition de SIRT1 par la mHTT bloque également les voies de signalisations de l'AMPK affectant ainsi l'ensemble du métabolisme énergétique (**Figure 19** et **Figure 31**) (Naia et Rego 2015).

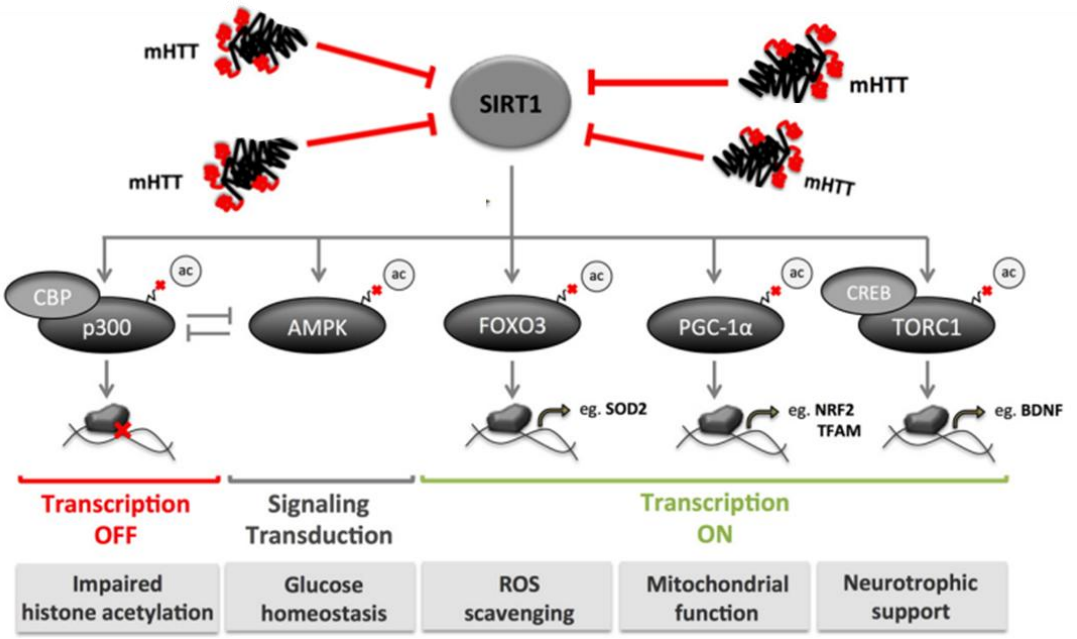


Figure 31 : Conséquences de l'inhibition de SIRT 1 par la mHTT (Naia et Rego, 2015). *La mHTT se lie directement là SIRT1 réprime son activité et la séquestre dans les agrégats nucléaires renforçant ainsi les effets métaboliques en lien avec les dysrégulations transcriptionnelle et fonctionnelles de la voie CREB, PGC-1α.*

Ainsi, il a été montré chez le patient MH et dans des modèles murins de la MH (R6/2 et Q111) une diminution de l'expression du gène de l'insuline, de certaines enzymes de la glycolyse (Phosphofructokinase1 (PFK1), Pyruvate kinase (PK)), des transporteurs GLUT1 et GLUT3 et de certaines enzymes du cycle de Krebs (Pyruvate deshydrogénase (PDH) et oxyglutarate dehydrogenase (OGDH). De plus, la mHTT modulerait également l'activité de la PFK1 et de la GAPDH (Szablewski 2025). La diminution de l'expression de GLUT3 dans les neurones a été reliée à l'inhibition par la mHTT de la voie CREB et PGC-1α (**Figure 32**) (Peng et al. 2021).

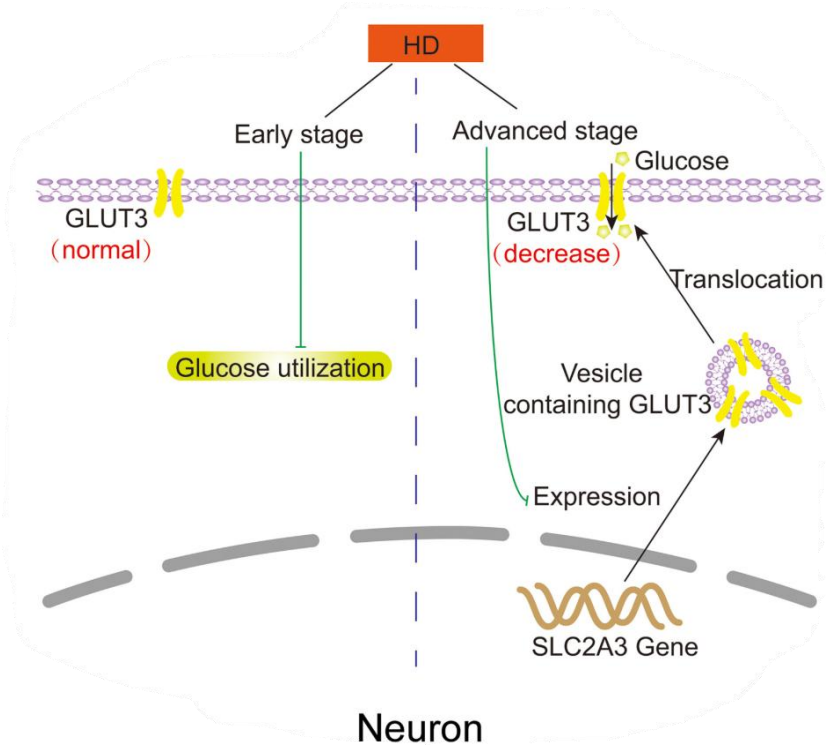


Figure 32 : Altérations de l'expression de GLUT3 et de la glycolyse dans la MH (Peng et al., 2021). *Au stade précoce de la MH l'expression de la protéine neuronale GLUT3 est normale mais l'utilisation neuronale du glucose dans la glycolyse est déjà réduite, tandis qu'au stade plus avancé de la MH l'expression de GLUT3 et la glycolyse sont altérées. Les flèches vertes indiquent des effets inhibiteurs et les flèches noires indiquent un état ou un processus physiologique.*

Ce qui se traduit chez le patient symptomatique par une altération de la voie de signalisation insulinémique et une réduction de la captation du glucose dans le striatum (noyau caudé et putamen), dans la région thalamique et dans le cortex frontal pour s'étendre progressivement à l'ensemble des région cérébrales avec l'avancée de la maladie. Chez les patients symptomatiques la diminution de la captation du glucose dans le noyau caudé et le putamen a été corrélée avec le nombre de triplet CAG et avec la sévérité de la maladie. D'un autre côté, il a été observé une augmentation de la captation du lactate et de l'activité de la Lactate déshydrogénase (LDH) pour compenser même en aérobie les altérations du métabolisme énergétique mitochondrial (McDonald et al. 2023; Peng et al. 2021; Szablewski 2025).

Le métabolisme des lipides est également altéré dans la MH. Le dysfonctionnement des voies SIRT/AMPK/ PGC-1α/CREB précédemment décrit impacte l'expression des enzymes de la synthèse des lipides et de la β-oxydation mitochondriale (Long et al. 2026).

L'expression des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse du cholestérol, tels que l'HMG-CoA réductase est réduite tandis que les taux de cholestérol, de lanostérol, de lathostérol et de 24S-hydroxycholestérol sont également perturbés dans le striatum et le cortex de plusieurs modèles murins de la maladie de Huntington (Q111, Q140, R6/2), ainsi que dans les biopsies corticales post-mortem des patients MH (Leoni et Caccia 2014; Valenza et al. 2023). Cependant l'analyse du niveau de cholestérol a montré des résultats conflictuels, certaines études ont observé une diminution du cholestérol en particulier dans le striatum des patients MH et d'autres ont montré une accumulation dans les neurones MH *in vitro* et *in vivo* (Kacher et al. 2022; Long et al. 2026; Parsai et al. 2025).

La mHTT affecte la maturation et la translocation nucléaire de SREBP2 (sterol regulatory element-binding protein 2) et la liaison à l'ADN du récepteur nucléaire de LXR (liver X receptors) ce qui inhibe l'expression des gènes ciblés par LXR (SREBP, ABCG1 et ABCG4, HMGCoA réductase, ApoE) entraînant une diminution de la synthèse et du transport du cholestérol des astrocytes vers les neurones via ApoE (Kacher et al. 2022; Valenza et al. 2023). Cependant, dans les neurones MH, l'expression et l'activité de CYP46A1 qui métabolise le cholestérol en 24-OHC, un oxystérol spécifique du cerveau essentiel à l'efflux de cholestérol sont diminuées (Kacher et al. 2022; Long et al. 2026; Valenza et al. 2023). Le catabolisme altéré du 24-OHC participe à la pathogénèse de la MH en entraînant un dépôt intracellulaire de cholestérol, ce qui exacerbe la neurotoxicité, la neuroinflammation et la neurodégénérescence (Long et al. 2026; Kacher et al. 2022; Valenza et al. 2023). Une accumulation de gouttelettes lipidiques a ainsi été observée dans les MSN du striatum *in vitro* et *in vivo* (souris R6/2) (Tshilenge et al. 2023; Parsai et al. 2025). Chez l'homme, la diminution du 24S-hydroxycholestérol plasmatique suit la progression de la maladie proportionnellement aux dysfonctionnements moteurs et neuropsychiatriques et à l'atrophie cérébrale visible à l'IRM (Leoni et Caccia 2014; Valenza et al. 2023).

Dans les oligodendrocytes, lamHTT inhibe l'effet régulateur de PGC1α sur le métabolisme du cholestérol et l'expression des MBPs (basic myelin protein) perturbant le processus de myélinisation (Kacher et al. 2022; Long et al. 2026; Parsai et al. 2025).

La pathogenèse de la MH s'accompagne également d'une perturbation du métabolisme des acides aminés en particulier au niveau de la voie de la transsulfuration permettant la conversion de l'homocystéine en méthionine et le maintien du statut redox de la cellule par la production de glutathion et de H2S (Paul et al. 2022b) (**Figure 33**).

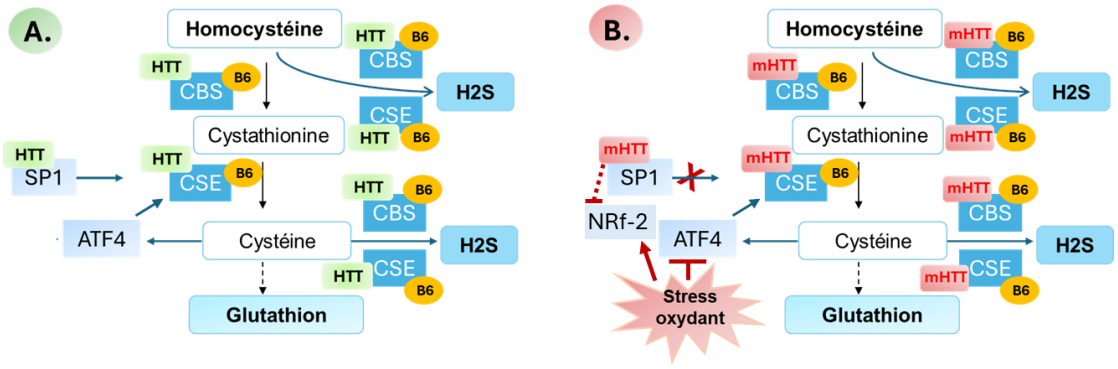


Figure 33 : Altération de la voie de la transsulfuration dans la Maladie de Huntington (schéma parsonnel). *(A) Voie de la transsulfuration chez les patients non MH. (B) Altération de la voie de la transsulfuration chez les patients MH). Abréviations : mHTT : HTT mutée ; CBS : cystathionine β-synthase ; CSE : cystathionine gamma-lyase ; H2S : sulfure d'hydrogène.*

Lorsque la huntingtine est mutée elle séquestre la CBS ce qui provoque une accumulation de l'homocystéine dont le rôle pro-oxydant est connu notamment via la peroxydation des lipides, la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la formation d'homocystamides (Boutell et al. 1998; Joanna Perła-Kaján et Jakubowski 2019). La mHTT séquestre également directement la CSE et le facteur SP1 responsable de l'expression inductible de la CSE. L'ensemble de ces mécanismes génèrent une diminution de la synthèse de cystéine et de glutathion accentuant l'accumulation des ROS. Le facteur ATF4 est responsable de l'expression inductible de la CSE en réponse à une diminution en cystéine cependant il est inhibé par le stress oxydant. Le facteur de transcription NRF2 est activé en réponse au stress oxydant et peut se fixer sur le promoteur de la CSE et induire son expression, cependant il est inhibé par la mHTT à la fois directement et indirectement via la répression de la voie transcriptionnelle PGC1α (Sbodio et al. 2016, 2019c; Paul et al. 2022b, 2018).

Il a été montré dans un modèle cellulaire de la MH (Q111) ainsi que dans le striatum de patients une réduction de 90% du niveau transcriptionnel de la CSE, les autres régions cérébrales étant moins impactées et/ou moins vulnérables au stress oxydant (Paul et al. 2014b).

Cette altération de la voie de la transsullfuration participerait au stress oxydant rencontré dans la physiopathologie de la maladie de Huntington et pose la question du métabolisme du rôle du métabolisme des monocarbones dans la pathogenèse de la MH (Sbodio et al. 2019c).

IV- Les modèles d'études de la maladie de Huntington

A- Les modèles animaux

Le développement de modèles *in-vivo* pour étudier la MH a permis de grandes avancées dans la compréhension de la pathogenèse de la maladie. Il existe une grande variété de modèles *in vivo* de la MH allant de la drosophile (Subhan et Siddique 2021) au modèle chez les primates non humains (Aron Badin 2018). Nous ne détaillerons ci-après que les modèles murins les plus communément utilisés.

1- Les modèles transgéniques

Il existe deux types de modèles murins transgéniques (**Tableau II**):

- Les modèles transgéniques tronqués exprimant le premier exon de la protéine mHTT humaine (correspondant à la partie N-terminal de la protéine)
- Les modèles transgéniques complets exprimant la protéine mHTT humaine dans son intégralité

Les modèles transgéniques tronqués

Les modèles transgéniques tronqués ont été conçus en premier chronologiquement, le plus connu et utilisé étant la lignée R6. Ce modèle porte une copie tronquée d'un segment génomique humain, contenant les séquences promotrices de la *HTT*, l'exon 1 et environ 200pb de l'intron 1 (Mangiarini et al. 1996). A partir de ce modèle, deux lignées ont été développées, la lignée R6/1 et R6/2, dont la seule différence est le nombre de répétitions CAG, 115 et 150, respectivement.

La lignées R6/2 est une des lignées les plus utilisées. Elle présente un phénotype précoce, avec des troubles comportementaux et moteurs dès 5 à 6 semaines d'âge (L. B. Menalled et Chesselet 2002). Les déficits progressent rapidement avec une espérance de vie de 14 semaines maximum pour ces animaux. Ils présentent notamment, des troubles moteurs dont un déficit de force de préhension ainsi qu'une dystonie (contraction musculaire involontaire) (Stack et al. 2005), mais également des crises épileptiques et un déficit d'apprentissage (Mangiarini et al. 1996; K. P. Murphy et al. 2000). Ces troubles comportementaux sont associés à des déficits synaptiques au sein de l'hippocampe, une neurodégénérescence striatale, des changements électrophysiologiques dans le circuit cortico-striatal, ainsi que des agrégats intracellulaire et intranucléaire de mHTT (Davies et al. 1997; Mangiarini et al. 1996; Cepeda et al. 2003).

La lignée R6/1 présente le même phénotype mais de manière atténuée avec une apparition des premiers symptômes dès 4 mois environ, l'apparition des symptômes moteurs à 6 mois et une espérance de vie de 14 mois maximum (Mangiarini et al. 1996). Ce modèle présente aussi, une perte de volume striatal, un dysfonctionnement neuronal et des agrégats de mHTT (Mangiarini et al. 1996).

La limite majeure de ce modèle transgénique est qu'il repose sur une surexpression très importante de la mHTT. Il ne reproduit pas l'environnement génétique de la pathologie humaine puisqu'il n'exprime que 2 à 3 % de la séquence codante de la HTT correspondant toutefois à une traduction bien supérieure à la traduction endogène (<100X à la protéine endogène) (Mangiarini et al. 1996).

Les modèles transgéniques complets

Des modèles exprimant la protéine dans son intégralité ont ensuite été conçus en utilisant des chromosomes artificiels de levure (YAC) ou de bactérie (BAC). Ces modèles, par rapport au R6, sont moins agressifs, ils permettent la mise en place progressive de la maladie avec une espérance de vie rallongée.

Concernant les modèles YAC, plusieurs lignées ont été conçues en fonction de la longueur souhaitée de l'expansion. Les souris YAC46 ou encore YAC72, exprimant respectivement 46 et 72 répétitions CAG au sein du gène *HTT*. Il existe également les YAC128, où le gène *HTT* humain est dupliqué 4 fois avec 125 répétitions CAG interrompues par des séquences CAA. Ce modèle a été développé pour améliorer l'expression du phénotype, avec une apparition et un développement des symptômes plus proche de la MH que les premiers modèles.

Il existe peu de modèles BAC, la lignée BACHD est la plus connue. Ce modèle présente 97 répétitions CAA-CAG. Cependant Shenoy et al., ont généré un nouveau modèle, le BAC226Q. Ce modèle exprime la HTT humaine avec environ 226 répétitions CAG-CAA, le gène étant sous le contrôle du promoteur humain. Les souris BAC226Q présentent progressivement un phénotype psychiatrique et cognitif à partir de 2 mois, suivi de déficit moteur entre 3 et 4 mois. Enfin, à 11 mois, ces souris présentent une atrophie cérébrale, en particulier au niveau du cortex et du striatum, des inclusions étendues de la mHTT ainsi qu'une diminution de l'espérance de vie (Shenoy et al. 2022).

Les modèles YAC et BAC sont intéressants car ils présentent des troubles moteurs prononcés associés à une atrophie cérébrale ainsi qu'une dysfonction striatale (Nittari et al. 2023). De plus, la lignée YAC128, présente une particularité, puisqu'à 3 mois d'âge, les animaux présentent une hyperactivité suivie ensuite par une hypoactivité à 12 mois qui correspond à la chronologie d'apparition des troubles moteurs retrouvée en clinique humaine (Slow et al. 2003).

Les modèles transgéniques murins reposent majoritairement sur la surexpression de la mHTT et certain, comme le modèle R6, sur une surexpression d'une mHTT tronquée. Les souris transgéniques expriment toujours leurs deux allèles Htt murins normaux, le phénotype observé résulte donc principalement d'un gain de fonction toxique du fragment humain muté et non d'une perte de fonction de la HTT murine. Ces modèles sont intéressants car ils présentent de forts phénotypes comportementaux moteurs mais ils restent limités pour comprendre la pathogenèse complète de la MH.

Tableau II : Modèles transgéniques de la maladie de Huntington (Nittari et al. 2023)

	Animal Model	Strain	CAG Repeat Length	Life Span	Behavioral and Neuronal Alterations
N-terminal fragment length mouse model	R6/2	C57BL/6J	116	Reduced life span (10–13 weeks)	Progressive decline from 5 weeks rotarod (5–6 weeks). In the open field, anxiety-like behavior (8 weeks). Learning and memory deficits worsen over time. Sleep disturbances (9 weeks). Significant reduction in neurons and neuronal atrophy in the striatum within 3 months. At 4 weeks, neurons had intranuclear inclusions in the cortex. Reduced brain volume.
		DBA/2J	116		
		B6CBA/Ca Mixed	128		
		B6CBA/Ca Mixed	160		
		C57BL/6J	168		
		DBA/2J	168		
		C57BL/6J	251		
		DBA/2J	251		
		C57BL/6J	293		
		DBA/2J	293		
	R6/1	C57BL/6J, BALB/cByJ, B6CBA/Ca mixed	116	Reduced life span (32–40 weeks)	Progressive decline rotarod (8 weeks). Reduced activity open field (23 weeks) Anxiety-like behavior open field. Spatial learning deficits in Morris water maze. Sleep disturbance. Decrease in striatal volume. Presence of cellular inclusions at 5 months of age. Neuronal intranuclear inclusions. Neurotransmitter receptor level changes.
	N171-82Q	C57BL/6× B6C3H/He J mixed	82	Reduced life span (Line77—2.5 months, lines 81 and 100—5–6 months, Line 6—8–11 months)	Progressive decline, gait abnormalities, hypoactivity, depressive-like behavior, and working and reference memory deficits at 14 weeks of age. Shrinkage and neuronal loss in the striatum, hippocampus, and frontal cortex at 4 months of age. Neuronal intranuclear inclusions. Reduced brain volume. Dopamine and serotonin levels remain unchanged.
	Animal Model	**Strain**	**CAG Repeat Length**	**Life Span**	**Behavioral and Neuronal Alterations**
Full length mouse model	YAC128	C57BL/6 FVB/N	128	Reduced life expectancy in male	Deficits on T-maze. At 3 months of age on an open-field test, they display hyperkinesia, a 50% reduction in body weight when compared to wild-type littermates. Circling behavior, gait problems, ataxia, and hindlimb clasping are all common symptoms. The rotarod test shows a steady deterioration.
	BAC97 YAC18 (Hu97/18)	FVB/N	18, 97		
	YAC128, BAC21 (Hu128/21)	FVB/N	125		Hyperactivity (3 months) followed by hypoactivity (12 months). Depressive-like phenotype (3 months) and sucrose consumption. Cell loss ranges from 18% to 40% primarily in the lateral striatum. Increased HTT staining in the nucleus. The striatum, nucleus accumbens, cortex, and cerebellum neurons show intranuclear inclusions (15 months).
	BACHD	FVB/NJ	97	Normal life span	Decreased motor learning over time, the rotarod (2 months): progressive deterioration Catwalk examination of gait impairments (9–10 months). Object recognition memory impaired (6 months). Deficits in reversal learning and strategy shift water (9–10 months) T maze and cross maze. Startle response is disrupted by sensorimotor gating abnormalities (9 months), inhibition of the prepulse (7 months). Decrease in activity in the open field (from 6 months). Inclusions of mHtt in the brain and striatum (12 months) There is no neuronal loss. A reduction in cortical and striatal volume (12 months).

2- Les modèles Knock-in (KI)

Les modèle KI de la MH sont plus précis d'un point de vue génétique (**Tableau III**) car ils sont basés sur le remplacement de l'exon 1 murin de la *Htt* par l'exon 1 humain et non sur la surexpression. On parle ainsi de modèle HDH pour « Huntington's disease gene homolog ». Wheeler et al., en 1999, ont conçu les premières lignées, dont la plus utilisée est la lignée *HdhQ111*. Cette lignée exprime l'exon 1 humain de la HTT avec 111 répétitions de triplets CAG et 268 pb de l'intron 1 humain sous contrôle du promoteur murin (L. Menalled et al. 2009). Entre 9 et 12 mois, apparaissent des déficits moteurs légers ainsi que des troubles comportementaux subtils, le phénotype moteur est un plus marqué au-delà de 12 mois et il n'y a pas d'altération de la durée de vie. Ce modèle est génétiquement proche de la pathologie humaine, c'est un modèle présymptomatique long caractérisé par une progression lente de la maladie ce qui le rend intéressant pour étudier les mécanismes précoces de la pathogenèse (Nittari et al. 2023).

Un autre modèle est basé sur l'expression de l'exon 1 humain muté avec 10 pb de l'intron 1. La plus étudiée est la lignée CAG140 (Levine et al. 1999). Ce modèle présente une hyperactivité à 1 mois d'âge suivi d'une phase hypoactive à 4 mois. Les anomalies structurelles apparaissent à 4 mois d'âge, avec la présence d'agrégats nucléaire au sein du striatum et du cortex (L. B. Menalled et al. 2003). La lignée zQ175, a été établie suite à une expansion germinale spontanée du nombre de triplet CAG de la lignée CAG140. Le but était de développer un modèle plus précoce et sévère de la maladie. Ainsi les souris homozygotes, ont montré des déficits moteurs et de la force de préhension à 8 et 4 semaines respectivement, ainsi que des déficits cognitifs à 1 an. De plus, chez les hétérozygotes, des déficits moteurs apparaissent progressivement à partir de 4 mois (L. B. Menalled et al. 2012). Dans cette dynamique, d'autres modèles plus sévères, ont été étudiés. La lignée, Q175F, a été conçu en croisant la lignée zQ175 avec des souris FVB/N (très sensible à la neurodégénérescence). Ces souris présentent des symptômes plus précoces et plus sévères (Southwell et al. 2016).

Tableau III** : Modèles Knock-in de la maladie de Huntington **(Nittari et al. 2023)

Animal Model	Strain	CAG Repeat Length	Life Span	Behavioral and Neuronal Alterations
CAG 140	C57BL/6J	140	Normal life span	Hyperactivity in 1st month and hypoactivity at 4 months. Vertical pole, non-accelerating rotarod, running wheels—sensorimotor performance deficit (4 months), irregularities in gait (12 months). Anxiety-like phenotype, no depressive behavior, long-term memory recognition impairment. Nuclear and neuropil inclusions in the striatum, cortex, hippocampus, and cerebellum at the age of 2 months. Loss of neurons (23 months). At 20–26 months, the corpus callosum volume is reduced.
ZQ 175	C57BL/6J	198	Reduced life Expectancy in (19 months)	Progressive reduction in open field (2 months), grip strength (1 month homozygous), phenotype (4 months homozygous), climbing activity (8 months homozygous), cylinder test (1 month heterozygous), nesting (heterozygous, 16 months). Two options for procedural learning loss Test swimming ability (homozygous, 10 months). Impairment of executive function test (7 months). Two-choice visual discrimination test for cognitive flexibility (7 months). Nuclear inclusions with a slowed circadian cycle (heterozygous). Atrophy of the striatum. Cortical thinning is a condition in which the cortex thins out. Reduced amounts of dopamine and BDNF
HDhQ 92	C57BL/6J	92	Normal life span	Testing for depressive-like phenotype in women with splash tests and forced swim tests. Open field test for anxiety-like phenotypes (male). Deficit in olfactory function due to an anxio-depressive-like phenotype. Discrimination in the workplace (males). The rotarod of motor learning has been altered. Memory impairment for long-term object recognition (4 months). Impairment of spatial memory (8 months).
HDhQ 111		111		
HDhQ 20		20		
HDhQ 50		50		
HDhQ 80		80		

Les modèles KI sont plus adaptés que les modèles transgéniques pour étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires de la MH car ils reproduisent de manière plus précise les anomalies génétiques observés en cliniques. Ils permettent à la fois l'étude des conséquences de la perte de fonction de la HTT non mutée et du gain de fonction de la mHTT. Ils sont, ainsi, pertinents pour étudier la mise en place et le développement des symptômes. L'inconvénient de ces modèles est, qu'ils ne disposent pas tous, de l'expression comportementale complète de la maladie (déficits moteurs, cognitifs et psychiatriques) ce qui peut rendre le suivi des animaux plus difficile.

B- Modèles cellulaires

La recherche biomédicale s'appuie fortement sur des modèles expérimentaux *in vitro* pour élucider les mécanismes impliqués dans la pathogenèse de la maladie ainsi que pour travailler sur des pistes thérapeutiques. Une multitude de modèles existe, allant de la lignée cellulaire de patients à des organismes unicellulaire, comme la levure, en passant par des modèles de neurones dérivés de fibroblastes de patients ou même des organoïdes 3D. Ces modèles sont notamment d'une grande utilité pour la recherche fondamentale ainsi que pour les tests précliniques, le point clé étant de bien les choisir en fonction du mécanisme étudié.

Les modèles cellulaires utilisés pour modéliser la MH se regroupent majoritairement sous 3 grandes catégories : les lignées primaires de patients, les cellules souches pluripotentes induites (iPSCs) et leurs dérivés (**Figure 34**) (Evangelisti et al. 2024).

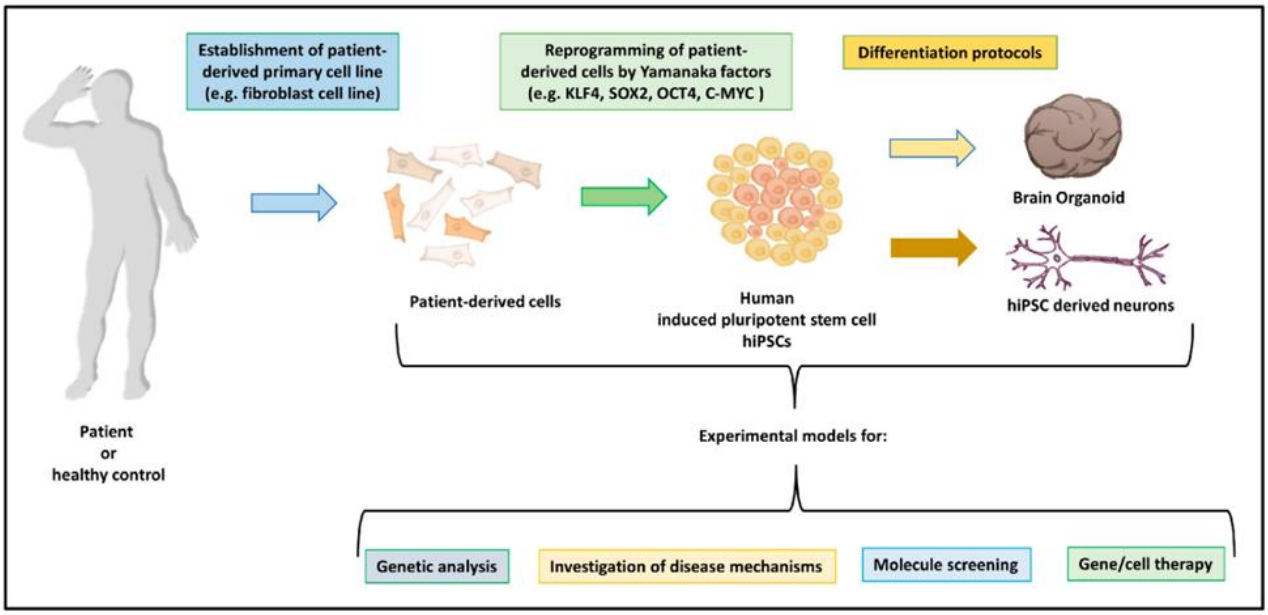


Figure 34 : Représentation schématique du processus de génération des modèles expérimentaux (Evangelisti et al. 2024). *Reprogrammation de cellules primaires de patients ou de témoins (ex. fibroblastes) en hiPSC à l'aide des facteurs de Yamanaka (OCT4, SOX2, KLF4, c-MYC), suivie de leur différenciation en neurones ou organoïdes cérébraux pour modéliser la maladie in vitro et étudier les mécanismes pathologiques, le criblage thérapeutique et les approches de thérapie génique ou cellulaire*

1- Les lignées primaires de patients

Les lignées primaires de patients sont obtenues, par culture d'une biopsie réalisée chez le patient. Elles conservent un bon nombre de caractéristiques génétiques et phénotypiques de leur tissu d'origine ce qui permet d'étudier les mécanismes cellulaires pathologiques (Evangelisti et al. 2024).

Les fibroblastes cutanés sont des cellules périphériques qui peuvent être prélevées par biopsie cutanée chez un patient, à l'aide d'une procédure simple, avec un niveau d'inconfort relativement faible pour l'individu. Ces biopsies sont ensuite cultivées *in vitro* afin de multiplier les fibroblastes, une procédure qui peut prendre environ quatre semaines (Iannello et al. 2023). Les fibroblastes dérivés de patients, ont été largement utilisés comme modèles précieux pour étudier diverses affectations et l'utilisation de fibroblastes cutanés constitue un outil important dans l'étude des processus neurodégénératifs (Evangelisti et al. 2024).

Hung et al., ont utilisé, des fibroblastes provenant de patients atteints de la MH pour étudier les phénotypes cellulaires de la maladie. Ces phénotypes comprenaient une morphologie, une taille et un taux de croissance altérés, une sensibilité accrue au stress oxydatif, des rapports adénosine diphosphate/adénosine triphosphate (ADP/ATP) anormaux et une protéine HTT hypo-phosphorylée. Cette étude démontre la génération et la caractérisation d'un modèle cellulaire humain cliniquement pertinent pour étudier les mécanismes de la MH au niveau de la cellule unique, qui préserve les fonctions critiques de la régulation transcriptionnelle de la HTT et de l'intégrité génomique, contrairement aux lignées cellulaires transformées (C. L.-K. Hung et al. 2018).

Dans l'ensemble, les fibroblastes dérivés de patients constituent des outils précieux pour modéliser les maladies neurodégénératives, reproduire les aspects clés de la pathologie et fournir des plateformes pour les études mécanistiques et le développement de thérapies. Les fibroblastes sont aussi de point de départ à l'obtention de cellues pluripotentes induites (iPSCs), pouvant être induites en n'importe quel type cellulaire, dont des neurones.

2- Les cellules souches pluripotentes

Les iPSCs peuvent être obtenues à partir de différentes cellules somatiques (fibroblastes, lymphocytes, cellules dérivées des voies urinaires, par exemple), ce qui constitue l'un des principaux avantages de ce type de cellules souches pluripotentes. La particularité des cellules pluripotentes réside dans leur capacité à s'auto-renouveler et à pouvoir se différencier en n'importe quel type cellulaire. De plus, l'utilisation de cellules somatiques rend la génération de cellules souches pluripotentes plus accessible, en contournant les questions éthiques liées aux tissus dérivés d'embryons.

Les gènes et les facteurs utilisés pour reprogrammer les cellules somatiques différenciées en iPSC comprennent les facteurs de Yamanaka. Certains des protocoles disponibles incluent l'utilisation des gènes *SOX2, OCT4, NANOG* et *LIN28* pour générer des iPSC humaines (Yu et al. 2007), tandis que d'autres utilisent la combinaison de *KLF4, SOX2, OCT4* et *C-MYC* (Takahashi et al. 2007). L'administration de ces facteurs peut se faire à l'aide de virus, tels que le virus MMLV ou SENDAI, mais aussi de liposomes (Pazzin et al. 2024). Les iPSCs peuvent servir de source de traitements par transplantation cellulaire entièrement dérivée des patients, sous la forme de greffe autologue. Cela pourrait aider à régénérer les tissus endommagés et à inverser ou améliorer l'évolution de la maladie, tout en s'affranchissant de la question de biocompatibilité (Rehman et al. 2024).

Une autre application prometteuse des iPSCs consiste à modéliser des maladies. En effet, pour les maladies neurodégénératives, il est possible de travailler sur des cellules neurales dérivées d'iPSCs, afin d'élucider les mécanismes complexes qui conduisent à leur développement au cours de la différenciation cellulaire. L'utilisation de cellules souches pluripotentes induites humaines pour modéliser les maladies neurodégénératives résout également le problème lié à la nécessité de disposer du tissu cérébral d'un patient. Les lignées cellulaires dérivées de ces iPSCs seraient non seulement spécifiques à une maladie, mais aussi spécifiques à un patient, présentant différentes variantes pathogéniques. A ce jour, très peu de traitements efficaces sont disponibles pour ces maladies et la plupart des traitements disponibles se concentrent sur la gestion des symptômes. Le développement des iPSCs dérivées de patients, pourrait représenter une contribution précieuse à la thérapie personnalisée basée sur des altérations génétiques spécifiques (Matilla-Dueñas et al. 2017). À terme, une fois qu'une lignée d'iPSC représentative d'une maladie aura été établie, ces lignées pourraient servir de modèles pour des thérapies médicamenteuses ciblées (Van Der Lee et al. 2018).

Les efforts collectifs visant à reproduire des modèles cellulaires fiables à l'aide des iPSC constituent un aspect essentiel pour surmonter les difficultés liées à la mise en place et à l'utilisation de ces modèles. L'un des problèmes à résoudre est la normalisation des protocoles. Pour obtenir des cellules différenciées, plusieurs facteurs de différenciation peuvent être utilisés pour une même lignée ; il est donc essentiel de rendre ces protocoles reproductibles afin de générer des données fiables (Jothi et Kulka 2024). Une autre question concerne la perte d'âge épigénétique due à la reprogrammation elle-même, qui pourrait affecter les résultats obtenus. La perte de l'âge épigénétique pourrait entraîner un manque de corrélation entre le phénotype et le génotype des lignées iPSC obtenues à partir de cellules de patients. De nombreuses maladies neurodégénératives apparaissent en effet à l'âge adulte et les cellules dérivées de patients pourraient présenter des caractéristiques impossibles à reproduire dans une cellule reprogrammée. Cependant, en raison de cette même particularité, le jeune âge épigénétique des cellules reprogrammées pourrait contribuer à la découverte de phénotypes précoces corrélés à différentes maladies (Lang et al. 2023).Cependant, les cellules iPSCs sont rarement utilisées sous cette forme, elles servent à générer des cellules dérivées, comme des neurones ou des organoïdes.

3- Cellules dérivées des iPSCs

Neurones dérivés d'iPSCs

Dans la pathogenèse des maladies neurodégénératives, les neurones et les cellules gliales jouent un rôle central. Cependant, l'obtention de ces cellules a longtemps représenté un défi majeur pour les chercheurs. L'avènement des cellules iPScs a considérablement atténué les difficultés liées à l'accès à ces types cellulaires. Actuellement, diverses cellules neuronales dérivées de cellules iPScs sont largement utilisées dans de nombreux domaines des neurosciences (Ray et al. 2021) (**Figure 35**).

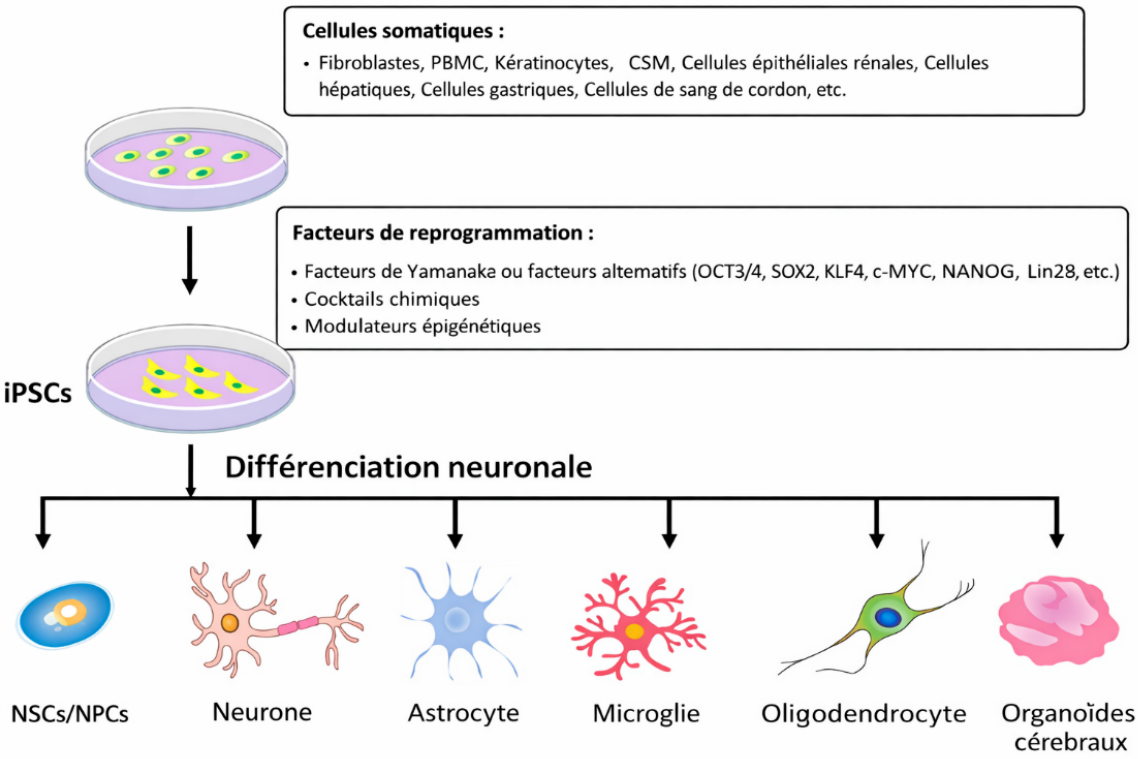


Figure 35 : Représentation schématique du processus de génération des différentes cellules neural à partir de cellules somatiques (Guo et al. 2025). *Schéma de la reprogrammation de cellules somatiques en cellules souches pluripotentes induites (iPSCs) à l'aide de facteurs de reprogrammation (ex. facteurs de Yamanaka). Les iPSCs peuvent ensuite être différenciées en différents types cellulaires du système nerveux (neurones, astrocytes, microglies, oligodendrocytes) ou en organoïdes cérébraux. Ce modèle permet d'étudier le développement et les mécanismes des maladies neurologiques in vitro. Abréviations : iPSCs : induced pluriplotent stem cells ; NSCs : Neural stem cells*

Les iPSC peuvent être orientées vers la différenciation en cellules souches neurales (CSN) en ajustant finement les mécanismes moléculaires à l'aide de facteurs de croissance spécifiques et/ou par l'inhibition et la stimulation de plusieurs voies de signalisation. Parmi celles-ci, on trouve par exemple la protéine morphogénétique osseuse 4 (BMP-4), le facteur de croissance transformant bêta (TGFβ) et les protéines apparentées à Sma et Mad (SMAD).

De plus, les CSN dérivées d'iPSC peuvent être amplifiées, stockées sous cette forme et ultérieurement différenciées en divers types de neurones, chacun caractérisé par des fonctions distinctes. À ce jour, plusieurs types de cellules neuronales ont été différenciés avec succès : neurones corticaux, neurones dopaminergiques, oligodendrocytes, astrocytes, motoneurones, neurones hippocampiques et neurones sérotoninergiques. Outre les cellules d'origine neuronale, les iPSC peuvent également être orientées pour obtenir des cellules microgliales, qui jouent un rôle crucial dans les maladies neurodégénératives et la neuroinflammation. Pour cette raison, des protocoles de différenciation spécifiques vers ce type de cellules ont été développés (Ayeni et al. 2022), avec des protocoles incluant des facteurs spécifiques des lignées immunitaires, par exemple l'administration de CSF-1, IL-34 et TGFb (Abud et al. 2017).

Les avancées récentes dans la génération de modèles *in vitro* à partir des MH-iPSC ont fourni des informations significatives sur la pathogenèse de la MH (**Tableau IV**). Notamment, le « HD Consortium » a différencié avec succès 14 lignées de HD-iPSC, englobant à la fois les cas d'apparition précoce et tardive, en neuroprogeniteurs, neurones du cerveau antérieur et neurones striataux. Ces cellules dérivées de patients MH expriment des HTT mutées avec des répétitions de CAG étendues, et les analyses transcriptomiques révèlent une dérégulation des gènes associés à la transduction du signal, au cycle cellulaire, au guidage axonal, au développement neuronal, à l'organisation du cytosquelette, à l'adhésion cellulaire et au métabolisme cellulaire.

Ces changements moléculaires sont cohérents avec les anomalies transcriptionnelles connues dans la MH et s'accompagnent de caractéristiques phénotypiques telles que des propriétés électrophysiologiques aberrantes et une apoptose accrue. Parmi les différentes caractéristiques pathologiques de la MH, la perte des neurones moyen épineux (MSNs) GABAergiques dans le striatum est particulièrement significative. Plusieurs études ont rapporté que les MSNs GABAergiques dérivés des MH-iPSC récapitulaient les principales caractéristiques pathologiques de la MH, y compris l'agrégation de la mHTT, les perturbations de l'homéostasie protéique, les altérations mitochondriales, les inclusions nucléaires, l'activation des caspases et la mort neuronale exacerbée au cours du vieillissement (Nekrasov et al. 2016) (**Tableau IV**).

Tableau IV : Caractéristiques observées dans différents modèles dérivés d'iPSCs pour la MH

Modèle dérivé d'iPSC	Caractéristiques pathologiques de la MH
Progéniteurs neuronaux / cellules souches neurales (NPCs/NSCs)	- Expression de la protéine HTT mutée, expansion des répétitions CAG - Dérégulation transcriptomique - Propriétés électrophysiologiques anormales - Augmentation de l'apoptose - Susceptibilité accrue au retrait du BDNF
Neurones du télencéphale (forebrain)	- Agrégation de la protéine HTT mutée - Dysfonction synaptique - Dérégulation transcriptomique
Neurones GABAergiques de type striatal (MSNs)	- Agrégation de la protéine HTT mutée - Augmentation de l'activité lysosomale et autophagosomale - Invaginations nucléaires - Activation des caspases - Mort neuronale exacerbée avec le vieillissement - Dysfonction mitochondriale (lien indirect)
Astrocytes	- Phénotype de vacuolisation - Susceptibilité accrue au retrait du BDNF - Altération des fonctions de soutien neuronal
Cellules gliales (général)	- Susceptibilité accrue au retrait du BDNF

Il est également possible d'obtenir des neurones induits (Ni) fonctionnels directement à partir de cellules somatiques par transdifférenciation (**Figure 36**). Par exemple, les fibroblastes peuvent être reprogrammés directement par surexpression de *BRN2, ASCL1, MYT1L* et *NEUROD1* (Marro et al. 2011). Ces Ni récapitulent les principales caractéristiques neuropathologiques de la MH, y compris l'agrégation de mHTT, une mort cellulaire accrue lors de la différenciation neuronale et des excroissances et ramifications anormales des neurites, ce qui est conforme aux observations faites dans les MSN des coupes cérébrales de patients MH post-mortem (Liu et al. 2014). Il a également été rapporté la présence d'agrégats de mHTT, des dommages à l'ADN, un dysfonctionnement mitochondrial et une dégénérescence spontanée dans les MSN directement dérivés de fibroblastes de patients MH (Victor et al. 2018).

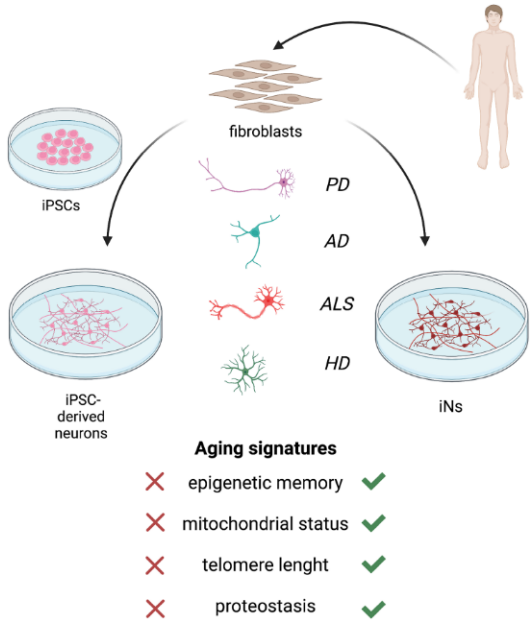


Figure 36 : Schéma mettant en évidence les avantages de la différentiation directe des fibroblastes en neurones (Aversano et al. 2022). *Les cellules somatiques (fibroblastes) issues de patients peuvent être reprogrammées en cellules souches pluripotentes induites (iPSCs), puis différenciées en neurones. Cependant, ce processus efface en grande partie les signatures liées au vieillissement (mémoire épigénétique, état mitochondrial, longueur des télomères, protéostasie). À l'inverse, la conversion directe de fibroblastes en neurones induits (iNs) permet de conserver ces caractéristiques liées à l'âge. Cette approche est particulièrement pertinente pour l'étude des maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson (PD), la maladie d'Alzheimer (AD), la sclérose latérale amyotrophique (ALS) et la maladie de Huntington (HD).*

Ces résultats mettent en évidence l'utilité des lignées cellulaires dérivées de MH-iPSC dans la modélisation des divers processus pathologiques et la progression temporelle de la MH. Ces modèles *in vitro* constituent une plateforme robuste pour étudier les mécanismes pathogéniques et offrent de précieuses opportunités pour identifier et tester des traitements potentiels contre la MH (X. Guo et al. 2025).

Organoïdes

Les organoïdes sont des structures tridimensionnelles (3D) auto-organisées dérivées de cellules souches ou de progéniteurs d'organes qui reproduisent l'architecture et la fonctionnalité d'organes ou de tissus spécifiques. Plusieurs méthodes existent, les cellules peuvent être mélangées avec un échafaudage avant d'être déposées sous forme de dômes dans des plaques de culture ou former des corps embryoïdes à partir de cellules souches (Eiraku et al. 2008). Ces corps embryoïdes sont ensuite intégrés dans du Matrigel™ et placés dans un bioréacteur ou des fioles centrifuges pour former des organoïdes (Conforti et al. 2018). Enfin, la dernière méthode consiste à former des organoïdes à l'interface air-liquide où les cellules souches, qui peuvent être intégrées dans du Matrigel™, sont cultivées sur une membrane poreuse en contact avec le milieu de culture (Takasato et al. 2016).

Les organoïdes offre une approche plus pertinente, sur le plan physiologique pour étudier le développement des organes, la pathologie des maladies et les réponses aux médicaments, par rapport aux systèmes traditionnels de culture cellulaire bidimensionnelle (2D). Les organoïdes reproduisent les aspects clés de l'architecture et de l'organisation des structures cérébrales, permettant aux chercheurs d'étudier les interactions complexes entre différents types de cellules, de modéliser la progression des maladies et de tester l'efficacité thérapeutiques de différentes molécules (Evangelisti et al. 2024).

En ce qui concerne les maladies neurodégénératives, les iPSC et les organoïdes offrent la possibilité d'étudier les cellules nerveuses des patients en contournant l'impossibilité évidente d'utiliser directement leur tissu cérébral. De plus, il est particulièrement difficile de prédire l'efficacité clinique, la toxicité et les effets secondaires des médicaments. Les organoïdes 3D offrent la possibilité de mieux reproduire la physiologie du cerveau humain et constituent des outils intéressants pour la conception d'interventions thérapeutiques (Evangelisti et al. 2024). Un autre avantage est la possibilité de combiner deux ou plusieurs organoïdes afin de former des assembloïdes pour former des cultures 3D auto-organisées (**Figure 37**). Ces modèles permettent de simuler la migration neuronale, le guidage axonal et la formation de circuits, en imitant à la fois les interactions cellulaires inter-régionales et intra-régionales dans le système nerveux (Miura et al. 2020). Les assembloïdes ont été particulièrement utiles dans étudier les interactions entre les cellules neuronales et non neuronales, telles que les cellules vasculaires et immunitaires, renforçant ainsi la pertinence physiologique des systèmes *in vitro* (Ozgun et al. 2024).

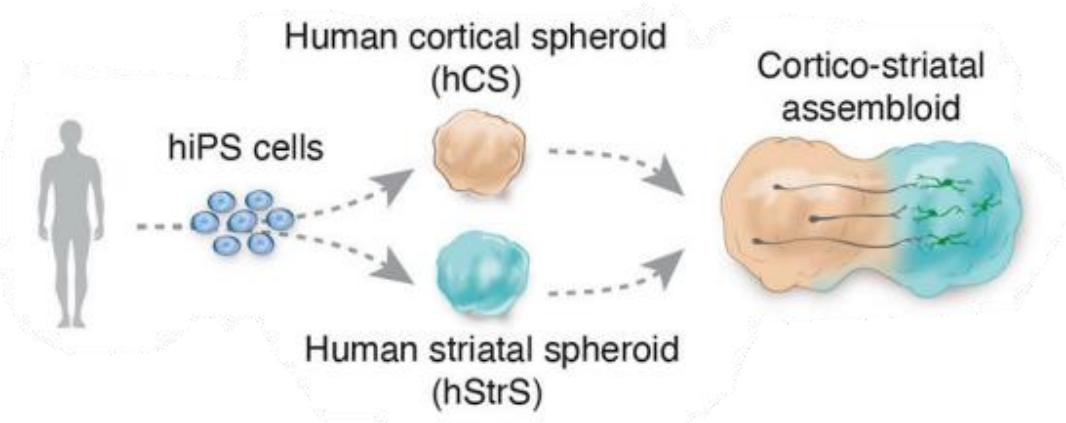


Figure 37 : Modélisation in vitro des projections cortico-striées utilisant un assembloïde dérivé de cellules hiPS (Miura et al., 2020). *Des cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSCs) sont différenciées en sphéroïdes corticaux (hCS) et striataux (hStrS), reproduisant respectivement des régions spécifiques du cerveau. L'assemblage de ces deux types de sphéroïdes permet de former des assembloïdes cortico-striataux, au sein desquels des connexions neuronales fonctionnelles peuvent s'établir, modélisant ainsi les interactions entre cortex et striatum in vitro.*

Cependant, comme pour tout modèle, l'utilisation des organoïdes présentent également des limites. Tout d'abord, il n'existe actuellement aucun protocole standardisé pour générer des organoïdes, et la variation d'un organoïde à l'autre est le principal facteur responsable de la mauvaise reproductibilité des résultats expérimentaux. En outre, la génération et le maintien d'une culture à long terme sont longs, coûteux et nécessitent un personnel de laboratoire spécialisé. De plus, les organoïdes peuvent présenter une nécrose cellulaire centrale due à une diffusion insuffisante d'oxygène et de nutriments mettant en jeux des mécanismes spécifiques sans lien avec la pathologie étudiée (Evangelisti et al. 2024).

Dans le contexte de maladies comme la MH, les organoïdes dérivés d'iPSC (Wu et al. 2024):

- Reproduisent les altérations précoces
- Permettent l'étude du métabolisme neuronal
- Donnent accès aux mécanismes développementaux altérés
- Offrent un modèle humain impossible à obtenir autrement.

V- Pistes thérapeutiques et Essais cliniques

Aujourd'hui, le traitement de la MH repose sur la réduction des symptômes. Les nouvelles thérapies développées ciblent la mutation à l'origine de la MH, aussi bien au niveau du gène, qu'au niveau de son ARN, afin de diminuer l'expression de la HTT (**Figure 38**). Deux stratégies principales sont utilisées : la diminution globale de la HTT (Wild-type et mutée) et la diminution de la mHTT spécifiquement (Tabrizi et al. 2020).

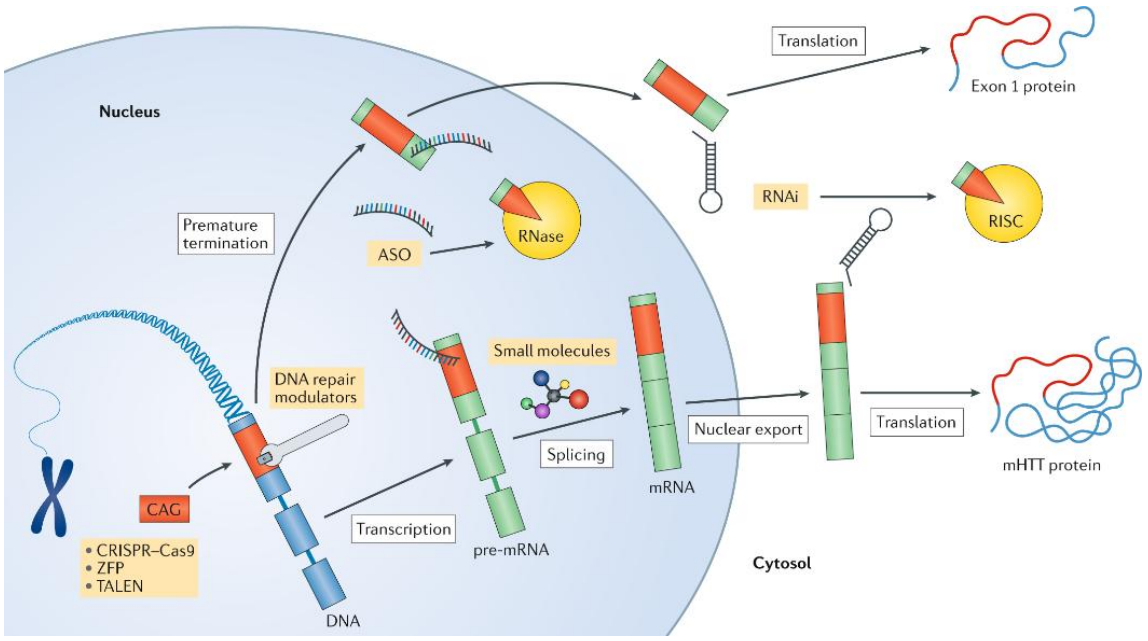


Figure 38 : Les différentes stratégies thérapeutiques visant à diminuer l'expression de la HTT (Tabrizi et al. 2020). *Les rectangles rouges au niveau de l'ADN, de l'ARN et de la protéine, représentent l'expansion CAG pathogène et la séquence polyglutamine qui en découle. Les rectangles oranges résument les différentes stratégies thérapeutiques utilisées. ASO : Oligonucléotides antisenses, mHTT : HTT mutée, Abréviations : RISC : RNA-induced silencing complex, RNAi : ARN interférent, RNAse : ribonuclease, TALEN : transcription activator-like effector nuclease, ZFP : protéine à doigt de zinc.*

A- Les stratégies ciblant les ARN

1- ARN interférents (ARNi)

Les ARNi sont des acides ribonucléiques qui interfèrent spécifiquement avec un ARN épissé ou mature et conduisent à sa dégradation (Setten et al. 2019). Ils peuvent être de deux natures : les micro-ARN (miARN) et les petits ARN interférents (siARN). Les miARN guide le complexe RISC (RNA-induced silencing complex) pour se lier à un ARNm complémentaire, entrainant sa dégradation et donc, à une répression traductionnelle (**Figure 38**) (Ha et Kim 2014). Les siARN diffèrent des miARN, d'un point de vue structural et sont plus spécifiques (Ahmadzada et al. 2018). Cette stratégie est non-sélective, ce qui implique une diminution globale de la HTT. Elle nécessite l'utilisation d'un vecteur viral et d'une injection chirurgicale au sein du SNC Cette stratégie présente l'avantage d'un traitement unique. Les essais phares de cette stratégie sont les essais d'uniQure et de Spark.

L'AMT-130 d'uniQure est un AVV5 délivrant un miARN non-sélectif de la HTT administré par injection unique au sein du striatum. L'essai comprenait 40 patients et a mis en évidence une réduction durable de la HTT au sein du striatum et des circuits connectés, ainsi qu'un ralentissement de l'UHDRS complet (cUHDRS), et une réduction des neurofilaments (NfL) au sein du liquide céphalo-rachidien (LCR) (uniQure, s. d.). Les résultats sont donc prometteurs et représentent une avancée importante, cependant la FDA a refusé, en septembre 2025, sa mise sur le marché, pour défaut méthodologique. Une poursuite du programme avec une analyse complète des biomarqueurs et un design renforcé sont nécessaires pour confirmer le potentiel de cette approche.

Avec la même stratégie, Spark Therapeutics, a développé une thérapie génique reposant sur un miARN délivré par AAV1 en injection intra-parenchymateuse. Les données pré-cliniques ont montré une baisse durable de la HTT dans les modèles animaux ainsi qu'une amélioration de la neuropathologie et du phénotype moteur dans des modèles murins. L'étude n'est pas encore assez avancée pour présenter les résultats sur les données chez l'homme (Hoffmann-La Roche 2025a).

Enfin Alnylam, a développé une stratégie de siARN-C16 (technique de vectorisation liant le siARN à une chaine lipidique de 16 carbones) nommé ALN-HTT02, par injection intrathécale. Les résultats des premiers biomarqueurs sont attendus pour 2026 (Health Res. Auth., s. d.).

2- Oligonucléotides antisens (ASO)

Les ASO sont des molécules d'ADN synthétiques, simples brins, qui, en se liant à des segments complémentaires de l'ARNm, en induise la dégradation via la RNAse H (Bennett et Swayze 2010). L'avantage par rapport aux ARNi, est leur capacité de liaison aux ARN pré-messager et donc aux introns comme aux exons, offrant plus de cibles potentielles (Rinaldi et Wood 2018). De plus, les ASO diffusent bien dans le SNC (absorbés par les neurones et les cellules gliales) sans avoir besoin d'utiliser de vecteur viral, rendant la thérapie réversible (Rinaldi et Wood 2018). Cependant, ils ne peuvent pas être administrés par voie orale car ils ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique, l'injection au sein du SNC est donc nécessaire (Rinaldi et Wood 2018).

Les essais phares de cette stratégie sont ceux de Ionis/Roche avec le tominersen et Wave Life Sciences avec la molécule WVE-003.

Les résultats du premier essai de Ionis/Roche, GENERATION-HD1, ont été publiés en 2019. La molécule utilisée, HTT_{Rx}, est un ASO non-sélectif. Les résultats de phase 1/2, ont montré une réduction, dose dépendante, de 40-60% de la mHTT dans le LCR (pour les doses les plus importantes). Cependant, des pics transitoires de NfL, ont été observés, ce qui a notamment pesé dans la balance des calculs bénéfice/risque de l'étude et entraîné un arrêt de l'étude par Roche en 2021 (Tabrizi et al. 2019; F Hoffmann-La Roche 2021). L'étude a cependant mis en évidence une sous-population (patients plus jeunes que 50 ans et avec une MH précoce) répondant positivement au traitement, ce qui a abouti à la création de l'essai GENERATION-HD2. Cette étude repose toujours sur l'ASO non-spécifique, injectée par voie intrathécale. Il est actuellement en phase 2 et permettra de déterminer l'efficacité et l'utilité de traiter des patients, à faible dose de tominersen, dans des stades très précoces (Hoffmann-La Roche 2025b).

Wave Life Sciences, avec le WVE-003, ont développé, cette fois-ci, un ASO sélectif de l'allèle mutant en ciblant les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP3). L'essai SELECT-HD, en phase 1b/2a, montre une réduction durable et significative de la mHTT jusqu'à 46%, une wtHTT préservé, une atrophie caudée ralentie et aucune variation au niveau des NfL. La prochaine étape est une étude pivot, en préparation (2025-2026) (Wave Life Sciences 2021).

3- Petites molécules régulatrices de l'épissage

Bien que très prometteurs, les résultats des traitements par ASO ou ARNi, posent des difficultés d'administration. Une autre stratégie, est l'utilisation des petites molécules, qui peuvent elles, être prise par voie orale. Ces dernières permettent la réduction de l'expression de la HTT par régulation de l'épissage de cette dernière (**Figure 38**) (Tabrizi et al. 2020). Cette stratégie est non-sélective mais réversible.

Deux essais phares reposent sur cette stratégie, Novartis avec leur molécule Branaplam et PTC Therapeutics avec le PTC518.

Novartis, a lancé l'essai VIBRANT-HD, phase 2b, avec le branaplam. La molécule module l'épissage de l'ARNm de la HTT en favorisant l'inclusion d'un pseudoexon porteur de codons stop prématurés, provoquant la dénaturation des transcrits et aboutissant à une réduction de l'expression de la HTT. L'essai a été arrêté en 2022, en raison d'un profil de sécurité défavorable (cas de neuropathie périphérique) (Piao et al. 2025; Estevez-Fraga et al. 2024).

Cependant ce projet a donné lieu à une collaboration avec PTC Therapeutics, donnant naissance à la molécule PTC518. Le mécanisme d'action est le même et l'essai PIVOT-HD (Phase 2) montre des résultats prometteurs, avec une réduction, dose-dépendante de l'ARNm et de la protéine, ainsi qu'un niveau de NfL stable suggérant une bonne tolérance. Une étude en phase 2/3, en collaboration avec Novartis, est attendue (Gao et al. 2024; Piao et al. 2025).

B- Les stratégies ciblant l'ADN

Les stratégies de modification de l'ADN visent à modifier directement la séquence génétique du gène *HTT*. Les trois principales approches sont, les nucléases à doigt de zinc (ZFN), les nucléases effectrices de type activateur de transcription (TALEN) et CRISPR-Cas9 (Tabrizi et al. 2020).

Les ZFN (protéine en doigt de zinc), peuvent cibler sélectivement la répétition CAG expansée et réduire sa transcription (Garriga-Canut et al. 2012). L'idée étant de concevoir des facteurs de transcription synthétiques capables de se fixer préférentiellement aux expansions CAG associées à l'allèle mutant *HTT*. Garriga-Canuet et al., ont administré dans un modèle de cellules neuronales dérivées de cellules souches de patients MH, un AAV contenant une ZFN. Ils ont mis en évidence, une réduction drastique de l'allèle mutant tout en préservant de 86% l'expression de l'allèle wild-type (Garriga-Canut et al. 2012). Ils ont également injecté la construction dans le striatum de souris R6/2 et mis en évidence une réduction significative du niveau de mHTT, couplé à une réduction d'agrégats protéiques et une amélioration de certains paramètres comportementaux (Garriga-Canut et al. 2012). Plus récemment, Zeitler et al., ont utilisé la même stratégie et ont montré une réduction sélective de 99% de l'allèle mutant tout en préservant de 86% l'allèle wild-type, dans des fibroblastes et des neurones dérivés de patients MH. Ils ont également, administré la molécule, dans le striatum du modèle murin zQ175. Ils ont mis en évidence, une réduction de l'ARNm et de la mHTT de plus de 98% dans les neurones en culture ainsi qu'une réduction des agrégats toxiques de la mHTT de plus de 98% in vivo et une inversion des anomalies électrophysiologiques associées à la MH (Zeitler et al. 2019).

Les TALEN peuvent reconnaître et se fixer spécifiquement à des séquences de l'ADN et provoquer des ruptures de la double hélice de manière site-spécifique (Piao et al. 2025). Fink et al., ont utilisé cette stratégie dans des fibroblastes de patients MH et ont mis en évidence qu'il était possible de réduire l'expression de l'allèle mutant, sans impacter significativement l'allèle wild-type (Fink et al. 2016). Cette étude constitue une première preuve de concept de cette stratégie mais des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer la sécurité et l'efficacité avant de passer aux études cliniques. Car mêmes si les TALEN représentent un avantage en termes de spécificité et d'efficacité par rapport aux ZFN, elles nécessitent cependant une thymine à l'extrémité de la séquence cible, réduisant le nombre de cibles potentielles par rapport aux ZFN (Tabrizi et al. 2020).

Le système CRISPR/Cas9, est constitué d'un ARN guide, homologue à la séquence d'ADN cible et une endonucléase capable de couper cette séquence d'ADN cible. Dans des modèles cellulaires et animaux de la MH, ce système a été utilisé pour réduire les niveaux d'HTT via plusieurs mécanismes d'actions : en bloquant la transcription de la HTT, en excisant les répétitions CAG ou en inactivant sélectivement les allèles CAG expansés en ciblant les SNP associés (Tabrizi et al. 2020). Dans ce sens, Choi et al., se sont basé sur le mécanisme de « base editing » pour convertir des CAG en CAA dans l'expansion de l'exon 1 de *HTT*. Ils ont montré une conversion efficace de CAG en CAA dans des modèles cellulaires humains et dans des modèles murins knock-in, avec une réduction effective de l'expansion, sans réduction significative de l'expression global de *HTT* (D. E. Choi et al. 2024). En 2025, Matsuzek et al., ont mis en évidence, en utilisant la même stratégie, dans des cellules humaines de patients et dans le modèle murin knock-in *HdhQ111*, une réduction significative de l'expansion CAG avec une efficacité de 30% dans le cortex et le striatum des souris (Matuszek et al. 2025). A ce jour, aucun essai clinique n'est lancé, cependant cette approche offre une nouvelle stratégie thérapeutique applicable à la MH mais également à toutes les maladies à triplets.

Ces trois approches ciblant l'ADN (ZFN, TALEN et CRISPR–Cas9) pourraient prévenir tous les événements pathogènes qui se produisent en aval de la mHTT. De plus, la correction de la mutation HTT éliminerait la transmission intergénérationnelle de la MH. Cependant, le ciblage de l'ADN soulève des inquiétudes quant aux effets hors cible potentiels ailleurs dans le génome, aux mutations d'insertions et à l'immunogénicité (Tabrizi et al. 2020).

C- Autres stratégies

D'autres stratégies tentent de ne pas impacter directement l'acide nucléique ou les acides ribonucléiques de la HTT et de la mHTT mais de cibler plutôt leur environnement.

Ainsi Skyhawk Therapeutics, a développé, SKY-0515, agissant comme modulateur de l'épissage de l'ARNm (**Figure 38**) pour réduire la production de HTT (non-spécifiquement) mais aussi de PMS1, protéine régulatrice de l'expansion somatique. L'essai Falcon, en phase 2/3, montre une diminution de mHTT sanguine jusqu'à 62% et une augmentation modérée de PMS1 ainsi qu'une bonne tolérance, même si les résultats des différents biomarqueurs cliniques sont encore attendus (Skyhawk Therapeutics69 2025).

Prilenia Therapeutics ont, quant à eux, développé la pridopidine, un agoniste sélectif du récepteur sigma-1. Ce récepteur intracellulaire est impliqué dans différents mécanismes neuroprotecteurs, en jouant sur l'homéostasie du calcium, l'autophagie, le transport axonal ou encore la fonction mitochondriale (Prilenia 2025). L'essai PROOF-HD, en phase 3, n'a pas atteint son objectif principal (UHDRS-TFC (échelle fonctionnelle)) ni son objectif secondaire (cUHDRS (UHDRS complet)) significativement différent). Cependant, dans un sous-groupe de patients (n'utilisant pas d'antipsychotiques), la pridopidine a montré des bénéfices ou au moins une stabilisation, du cUHDRS, de la fonction motrice et de la cognition sur au moins 1 an de traitement. Toutefois, l'agence européenne du médicament (EMA) n'a pas accepté l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Une nouvelle étude confirmatoire est prévue en 2026, chez les patients précoces sans anti-dopaminergiques (Prilenia 2025).

Enfin, il est important de parler des stratégies de thérapie cellulaire visant à remplacer les neurones perdus. En effet, La MH est caractérisée par une perte progressive de neurones striataux, en particulier les neurones moyens épineux, ce qui contribue aux symptômes moteurs et cognitifs de la maladie. Remplacer ces neurones par des greffes internes pourrait théoriquement restaurer certains circuits neurologiques et améliorer la fonction neuronale. C'est l'approche de l'étude TRIDENT (TRIal DEsigns for Delivery of Novel Therapies in Neurodegeneration), un essai clinique en phase 1 de transplantation de cellules neuronales fœtales. Cette étude est conçue pour évaluer la sécurité et la faisabilité d'une greffe de neurones directement dans le cerveau (Drew et al. 2021).

L’essai n’a pas été concluant, probablement du fait de l’intervalle de temps restreint entre les greffes (1 mois plutôt qu’un an), ce qui a engendré de fortes réactions immunitaires et donc participé à la hausse du rejet de greffes. Une future étude est prévue, avec une augmentation du nombre de cellules greffées, augmentation de l’immunosuppression, amélioration de la taille de l’échantillon, etc. afin de perfectionner l’étude (Drew et al. 2021; A.Rosser 2025).

La diversité des stratégies développées dans les nouveaux essais cliniques montre une réelle volonté pluridisciplinaire, augmentant les chances de trouver des thérapies efficaces. Ces approches multiples permettront éventuellement de mettre en place des thérapies complémentaires chez un même patient, dans un objectif de médecine personnalisée.

Chapitre 2: Le métabolisme des monocarbones

I- Description générale du métabolisme des monocarbones

Le métabolisme des monocarbones (MMC) est une voie métabolique ubiquitaire centrale et essentielle à la biosynthèse de plusieurs acides aminés, de donneurs de groupes méthyles et de nucléotides.

Le MMC est associé à la méthylation des ADN, ARN et protéines ainsi qu'à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques et participe par conséquent à la croissance et au fonctionnement du métabolisme cellulaire. Le MMC repose principalement sur le transfert de groupements méthyle provenant de la sérine, au sein du cycle des folates, de la voie de la méthionine, et de la voie de la transsulfuration permettant la reméthylation de l'homocystéine en méthionine ou sa transformation en cystéine. Le cycle d'oxydation de la choline participe également à la reméthylation de l'homocystéine (HCY) en méthionine (MET) via la BHMT (Betaine-homocysteine S *m*ethyltransferase) qui utilise la bétaïne comme donneur de méthyles, cette voie n'est présente que dans le foie et les reins (**Figure 39**) (Friso et al. 2017). Des facteurs génétiques, le mode de vie, les habitudes alimentaires ou certaines pathologies peuvent augmenter la concentration en HCY, on parle alors d'hyperhomocystéinémie (HHCY). Trois stades sont identifiés, on parle d'HHCY modérée entre 15 et 50 µmol/L, d'HHCY intermédiaire entre 50 et 100µmol/L et d'HHCY sévère au-dessus de 100 µmol/L (Finkelstein et Martin 2000).

Grâce à la synthèse de cystéine, le MMC participe aussi à la production d'antioxydant, en synthétisant du glutathion (Friso et al. 2017, Werge et al., 2021). Les vitamines B hydrosolubles (B6, B9 et B12) sont les principaux cofacteurs des enzymes du MMC et sont essentiels au bon fonctionnement de ce métabolisme (Guéant et al. 2022, 2013).

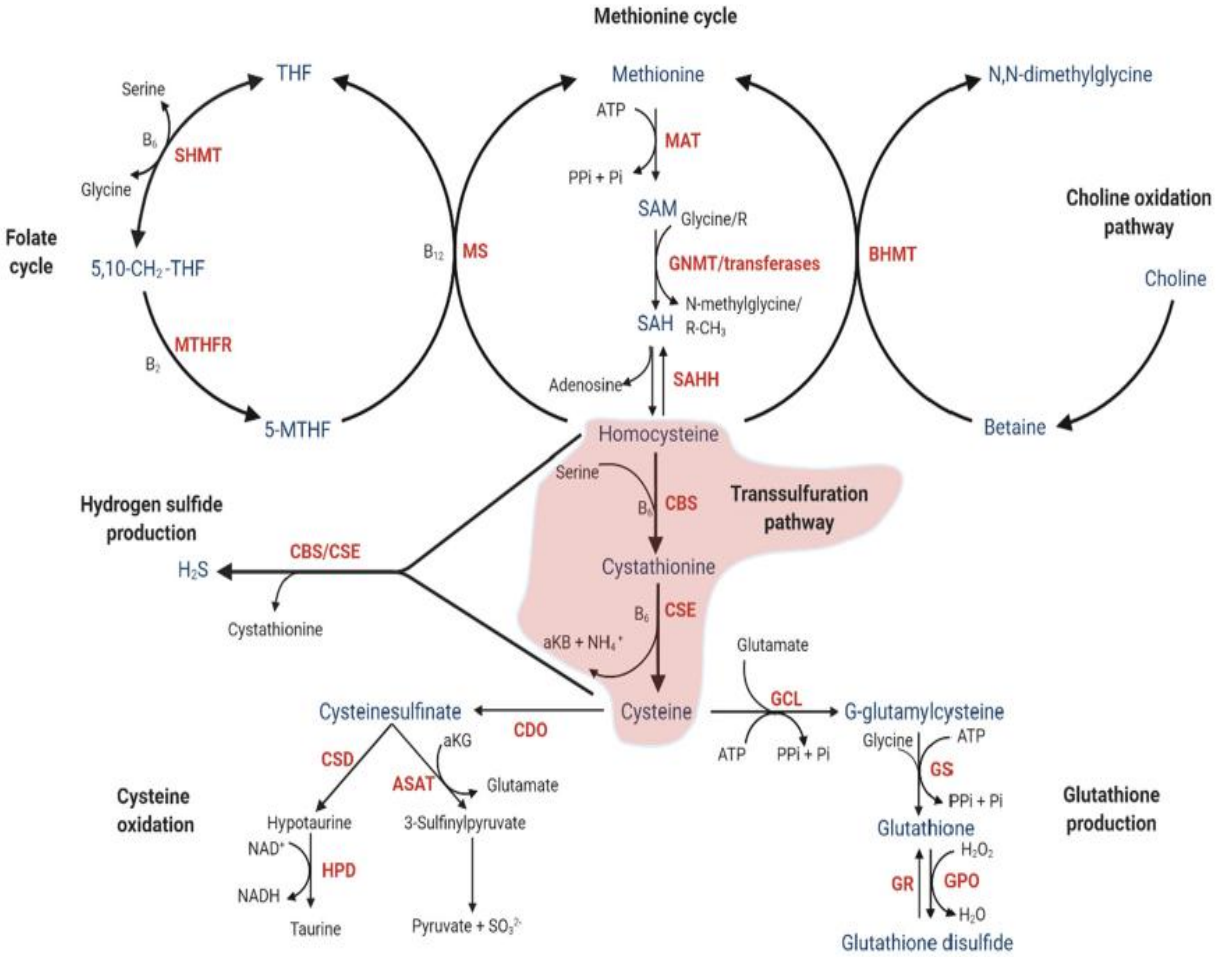
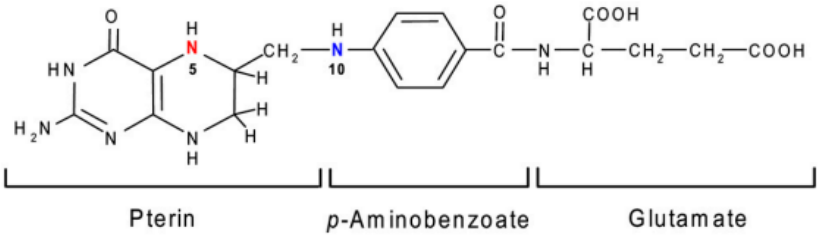


***Figure 39** : Le métabolisme des monocarbones (Werge et al., 2021). Le cycle des folates et de la méthionine permet la synthèse de SAM et les réactions de méthylations cellulaires. Cela aboutit à la formation d'homocystéine (*HCY*) qui peut être reméthylée en méthionine par la MS dans le cycle de la méthionine en utilisant le 5-MTHF comme donneur de groupement méthyles ou la BHMT dans le cycle d'oxydation de la choline en utilisant la bétaine comme donneur de groupement méthyle, l'expression de la BHMT étant restreinte au foie et aux reins. L'*HCY *peut aussi être transformée en cystéine dans la voie de la transsulfuration grâce aux enzymes CBS et CSE participant ainsi à la synthèse de cystéine, et de glutathion. Les vitamines B12, B9 et B6 sont essentielles au bon fonctionnement de ce métabolisme Abréviations des métabolites : 5-MTHF, 5-methyltetrahydrofolate ; 5,10-CH2-THF. 5-10-méthylènehydrofolate ; α-KB, α-cétobutyrate ; ATP ; adénosine triphosphate ; B2, riboflavine ; B6, pyridoxal 5'-phosphate ; B12, cobalamine ; H2S, hydrogène sulfide ; NH4 +, ammoniac ; Pi, phosphate inorganique ; PPi, pyrophosphate ; SAH, S-adénosyl homocystéine ; SAM, S-adénosyl méthionine ; SO32-, sulfite ; THF, tetrahydrofolate. Abbréviations des enzymes : SHMT : Serine hydroxymethyltransferase, MTHFR : Methylenetetrahydrofolate reductase, MS : Methionine synthase, MAT : Methionine adenosyltransferase , GNMT : Glycine N-methyltransferase , SAHH : Adenosylhomocysteinase, BHMT : Betaine-homocysteine S methyltransferase, CBS : Cystathionine beta-synthase, CSE : Cystathionine gamma-lyase, CDO : Cysteine dioxygenase , CSD : Cysteine sulfinic acid decarboxylase, GCL : Glutamate-cysteine ligase, GS : Glutathione syntHETase , GR : Glutathione reductase , GPO : Glutathione peroxidase.*

II- La vitamine B9 et le cycle des folates

A- Synthèse, structure et besoin en folates

Les folates sont synthétisés par la plupart des bactéries, levures et plantes et se présentent sous différentes formes (**Figure 40**). Ce micronutriment est indispensable à la vie car non synthétisé par le métabolisme endogène humain. Il est apporté par l'alimentation, notamment par les légumes surtout à feuilles vertes, les fruits mais aussi les abats comme le foie (Lyon et al. 2020). D'après des études menées notamment par l'ANSES (ANSES 2021) la quantité maximale à consommer par jour serait de 300 µg et varie en fonction de l'âge et du sexe. Un point particulier est à amener quant à la femme enceinte et allaitante qui nécessite elle, un apport de 450 µg/jour (ANSES 2021).



C_1 unit	Name	Abbreviation
N^5—CH_3	5-methyl-THF	CH_3-THF
OHC—N^{10}	10-formyl-THF	10-CHO-THF
N^5=CH=N^{10}	5,10-methenyl-THF	CH=THF
N^5—CH_2—N^{10}	5,10-methylene-THF	CH_2-THF
N^5—CHO	5-formyl-THF	5-CHO-THF

***Figure 40** : **Structure chimique de la vitamine B9 et de ses dérivés (Guéant et al., 2013).** La structure chimique naturelle de la vitamine B9 représentée est celle du Tétrahydrofolate (THF). Il est constitué d'un cycle ptéridine, de l'acide para-amino-benzoïque (PABA) et d'une queue polyglutamate à longueur variable. Les atomes d'azote en position 5, 8 et 10 sont des accepteurs d'hydrogène ou de groupements carbonés.*

La structure de la vitamine B9 peut se décomposer en trois éléments : un cycle ptéridine qui peut être réduit ou oxydé, un liant, l'acide para-amino-benzoïque (PABA) et une queue polyglutamate à longueur variable (**Figure 40**). La forme biologiquement active du folate est la ptéridine réduite ou tétrahydrofolate (THF) (Ducker et Rabinowitz 2017). Le THF peut être réduit afin de former différents dérivés comme le N5-formylTHF, N5-méthylTHF, N10-formylTHF ou 5, 10 méthylèneTHF. La forme de folate retrouvée le plus communément dans le sang et dans les tissus est le 5-méthyltétrahydrofolate.

B- Transport et absorption des folates

Dans l'alimentation, les folates sont sous la forme de polyglutamates qui ne passent pas la barrière intestinale, ils sont hydrolysés en monoglutamates (FMG) par la glutamate carbopeptidase II (GCPII) puis transportés dans la cellule entérocytaire au niveau du duodénum et du jéjunum proximal via un transport actif à PH acide (PCFT1 : « proton-coupled folate transporter »). Les folates passent ensuite dans la circulation grâce aux transporteurs MRP1, 3 et 5 (« multi drug resistance associated protein ») (R. Zhao et al. 2009).

Dans la circulation sanguine, la vitamine B9 est liée soit à un ligand de faible affinité comme l'albumine ou de forte affinité comme les « folate binding protein solubles » (S-FBP). Le transport cellulaire se fait via 3 transporteurs : le récepteur aux folates réduits (RFC), le récepteur aux folates (FR) et PCFT1. PCFT1 est un symporteur permettant le transport de folates et de protons, il utilise le gradient en proton et fonctionne plus efficacement dans un environnement extracellulaire acide. PCFT1 est une protéine transmembranaire retrouvée au niveau du duodénum et du jéjunum proximal, ainsi que dans le foie, les reins, le placenta, la rétine et le système nerveux central (Inoue et al. 2008). Le transporteur de folate réduit (RFC) est un échangeur d'anions qui utilise le gradient de phosphate organique transmembranaire (OP) pour absorber les folates réduits (5meTHF ou 5formylTHF). Les récepteurs aux folates (FR) sont codés par 3 gènes différents (α, β et γ) localisés sur le chromosome 11. FRα est localisé au niveau des cellules épithéliales des reins, de la rétine, de l'utérus, du placenta et au niveau du plexus choroïde alors que FRβ est exprimé au niveau du placenta, du thymus et de la rate. Ces récepteurs transportent les folates dans les cellules par un mécanisme d'endocytose (R. Zhao et al. 2009; Guéant et al. 2013) (**Figure 41**).

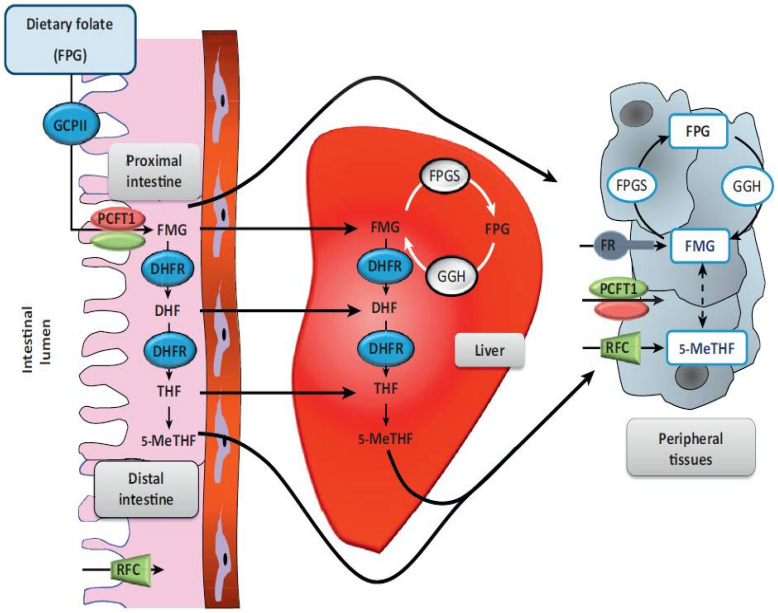


Figure 41 : Absorption et distribution des folates dans le foie et les tissus périphériques (Guéant et al., 2013). *La glutamate carboxypeptidase II (GCPII) permet l'hydrolyse des polyglutamates de folate (FPG) en monoglutamate (FMG) qui peuvent alors être absorbés au niveau entérocytaire via le transporteur de folate couplé aux protons (PCFT1). Les FMG peuvent être transformés en dihydrofolate (DHF) et tétrahydrofolates (THF) par la dihydrofolate réductase (DHFR). Trois systèmes de transports sont ensuite impliqués dans la distribution des folates dans le foie et les tissus périphériques : le reduced folate carreer (RFC) pour les folates réduits (5-MeTHF), les récepteurs aux folate (FRs) et PCFT1 pour les FMG. Dans les tissus les folates peuvent etre polyglutaminés en FPG par la folylpoly-g-glutamate syntHETase (FPGS) et hydrolysés en FMG par la g-glutamyl hydrolase (GGH).*

C- Le cycle des folates

Les folates jouent un rôle prépondérant dans le MMC, ils sont donneurs de méthyles, jouant ainsi un rôle dans les processus de méthylation cellulaire (ADN, ARN, Protéines…), dans la reméthylation de l'HCY en MET, dans la synthèse des acides aminés et participe également à la synthèse de bases nucléiques et donc à la synthèse d'ADN et d'ARN. Un ensemble complet d'enzymes liant la sérine au formate existe à la fois dans le cytosol et les mitochondries. Cela permet non seulement des processus métaboliques parallèles, mais aussi un cycle de réactions d'oxydo-réduction, qui catabolise la sérine dans les mitochondries et synthétise la sérine dans le cytosol (Guéant et al. 2013; Lyon et al. 2020; Ducker et Rabinowitz 2017).

1- Le cycle des folates dans le cytosol

L'entrée dans le cycle des folates, se fait via la réduction des folates alimentaires par la dihydrofolate réductase (DHFR) en dihydrofolate (DHF) puis en tétrahydrofolate (THF) avant de pouvoir intégrer le cycle.

La sérine hydroxyméthyltransférase (SHMT1) assure ensuite le transfert réversible d'une unité carbone de la sérine vers le tétrahydrofolate (THF) pour générer de la glycine et du 5,10 méthylèneTHF. Ce métabolite peut ensuite être pris en charge par la méthylèneTHF réductase (MTHFR) pour former du 5-méthylTHF. Ce donneur de méthyle primaire est indispensable à la reméthylation de l'HCY en MET grâce à la méthionine synthase (MS) dans la voie de la reméthylation (Friso et al. 2017).

À la suite de cette réaction enzymatique, le THF est régénéré pour permettre la continuité du cycle. Dans le cytoplasme, le 10-formylTHF synthétisé à partir de formate mitochondrial permettra sous l'effet des enzymes GART (Phosphoribosylglycinamide formyltransférase) et ATIC (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide formyltransférase), de produire le noyau purine.

L'enzyme MTHFD1 permet la production de 5,10 méthylèneTHF qui est utilisé par l'enzyme thymidylate synthase (TYMS) afin de former la thymidylate composant des bases pyrimidines (Field et al. 2018; Ducker et Rabinowitz 2017; Lyon et al. 2020) (**Figure 42**).

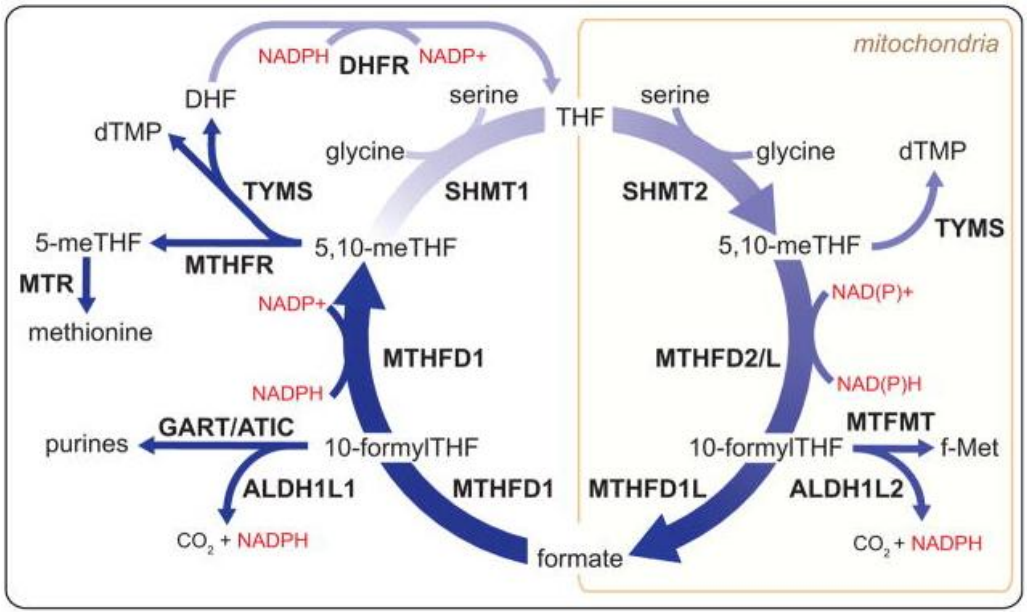


Figure 42 : Produit et compartimentation du métabolisme des folates (Duckerts et Rabinowitz, 2017). *Par un ensemble interconnecté de réactions mitochondriales et cytosoliques, le métabolisme du folate soutient les réactions anaboliques du métabolisme des monocarbones. THF : Tétrahydrofolate ; SHMT1/2 : Sérine hydroxyméthyl transférase 1/2 ; MTHFD1 : MéthylèneTHF déshydrogénase1 (formylTHFsynthétase 1) ; MTHFD2/L : MéthylèneTHF déshydrogénase 2/Like ; MTHFD1L : MéthylèneTHF synthase 1 (Like) mitochondriale ; MTFMT : Méthionyl-ARNt formyltransférase mitochondrial ; TYMS : Thymidylate synthétase ; MTHFR : méthylèneTHF réductase ; MTR : Méthionine synthase ; DHFR : Dihydrofolate réductase ; GART : Phosphoribosylglycinamide formyltransférase ; ATIC : 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide formyltransférase; ALDH1L1/2, cytosolique (1)/ mitochondrial (2) 10-formylTHF déshydrogénase.*

2- Le cycle des folates dans la mitochondrie

Le métabolisme des folates est hautement dépendant de la présence de formate qui est un intermédiaire métabolique capable de traverser la membrane mitochondriale. Au niveau mitochondrial, le THF est pris en charge par la SHMT2 pour être converti en 5,10 méthylèneTHF puis par MTHFD2/L permettant la formation de 10-formylTHF qui sera catalysé par MTHFD1L (D1 like) afin de former le formate (Ducker et Rabinowitz 2017; Field et al. 2018) (**Figure 42)**.

3- Le cycle des folates dans le noyau

Certaines enzymes du cycle des folates présentent également une localisation nucléaire qui dépend de leur sumoylation, c'est le cas de SHMT1, MTHFD1, DHFR et TYMS. Cette compartimentation nucléaire serait impliquée dans la synthèse de thymidylate directement au niveau nucléaire (Field et al. 2018; Ducker et Rabinowitz 2017) (**Figure 43**).

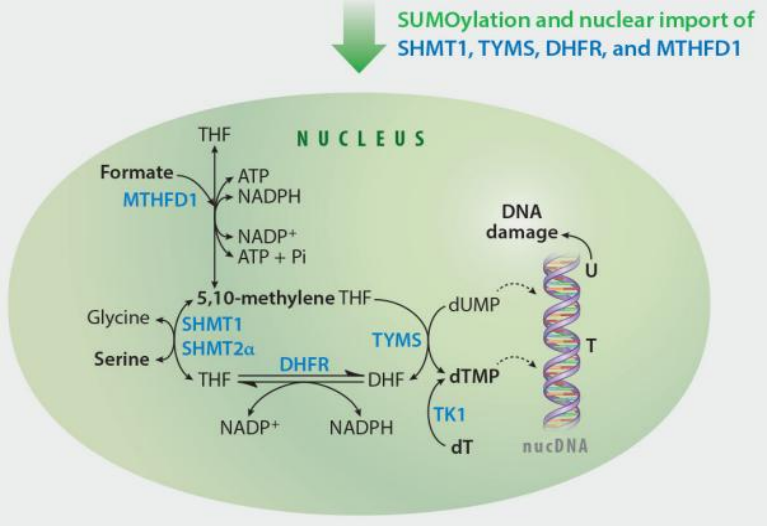


Figure 43 : Compartimentalisation nucléaire du cycle des folates (Field et al., 2018). *La synthèse nucléaire de novo de dTMP nécessite TYMS, DHFR, MTHFD1, SHMT1 et SHMT2α. Ces enzymes sont SUMOylées et importées dans le noyau au début de la phase S. Le formate et la sérine sont les principales sources du métabolisme nucléaire des folates.*

4- Compartimentation du statut redox en NADH et NADPH

Le cycle des folates produit et consomme du pouvoir réducteur sous la forme de NADH ou de NADPH. Alors que beaucoup de réactions du cycle sont réversibles, l'oxydation du 10-formyl-THF en CO2 ne l'est pas et génère un NADPH. Des études récentes suggèrent que la production de NADPH folate dépendante serait particulièrement importante dans l'homéostasie redox mitochondriale (Ducker et Rabinowitz 2017). De plus la production de NADH par l'activité mitochondriale de la MTHFD2 relie le métabolisme des folates à la respiration cellulaire. Les ratios NAD+ /NADH mitochondriaux sont maintenus par la phosphorylation oxydative, et il a été montré que la production de formate à partir de la sérine dépendait de la respiration mitochondriale.

La compartimentation et le potentiel électrochimique différentiel du NADH par rapport au NADPH explique pourquoi le métabolisme des folates implique la navette de formate mitochondrial vers le cytosol. L'hypothèse la plus communément admise suggère que le catabolisme de la sérine et l'oxydation des unités monocarbonées seraient localisés dans les mitochondries pour découpler le métabolisme des monocarbones de la glycolyse. En effet, d'une part la fermentation du glucose en lactate est équilibrée par la balance NAD+/NADH, d'autre part la glycolyse nécessite un pool cytosolique en NAD+ pour se poursuivre (6ème réaction). Ces équilibres redox pourraient être perturbés par toutes autres réactions cytosoliques génératrices de NADH. Si l'oxydation des unités monocarbonées devait plutôt se produire dans le cytosol avec la génération concomitante de NADH, le pool cytosolique en NAD+ diminuerait, bloquant la glycolyse.

D- Altération du cycle des Folates

1- Carence en vitamine B9, polymorphismes et mutations génétiques

La carence en folates est un problème de santé publique car c'est l'une des carences les plus fréquentes dans la population globale. En France, l'étude Estéban a montré que 13.5% des femmes en âge de procréer présentaient un déficit en folates. La carence est, le plus souvent, lié à un apport insuffisant en aliments riches en vitamine B9 ou à la sensibilité à la lumière et à la chaleur de la vitamine B9.

Les déficits en vitamines B9 ou les perturbations de fonctionnement du cycle des folates peuvent également avoir des causes génétiques induisant des malabsorptions intestinales, des troubles du transport ou encore des problèmes dans le métabolisme intracellulaire (Guéant et al. 2013; Lyon et al. 2020; Ducker et Rabinowitz 2017). Divers polymorphismes ont ainsi été documentés concernant *GCPII* (H475Y), *MTHFR* (C6777T et A1298C), *MTHFD1* (G1958A), *FOLH1* (T484C) (Hiraoka et Kagawa 2017).

Concernant *MTHFR* environ 247 SNP (single nucleotide polymorphism) et plus de 200 variants pathogènes rares ont été identifiés (Araszkiewicz et al. 2025). Deux polymorphismes du gène *MTHFR* sont plus fréquents et ont pu être largement documentés : c.677C>T et c.1298A>C. Le polymorphisme c.677C>T entraine la substitution d'une alanine par une valine dans le domaine catalytique de la MTHFR (p.Ala222Val). Ce polymorphisme augmente la thermolabilité de l'enzyme et diminue son affinité pour le FAD entrainant une diminution d'activité de l'ordre de 35% par allèle touché. La prévalence de ce polymorphisme chez l'homme est en moyenne de 30 à 40% mais varie selon les régions géographiques. Ainsi en Italie, il a été montré une prévalence de 49.8% d'hétérozygote (CT) et de 29.4% d'homozygote (TT). Les concentrations sériques en HCY et en folate étaient significativement différentes parmi les génotypes du polymorphisme c.C677T (CC versus CT versus TT : <0,0001) avec des valeurs d'HCY augmentant, et le folate sérique diminuant. Ainsi le génotype homozygote TT induit une perte de plus de 70% de l'activité enzymatique de la MTHFR et une hyperhomocystéinémie (Zappacosta et al. 2014; Araszkiewicz et al. 2025). Le polymorphisme c.1298A>C provoque une substitution du glutamate en position 429 avec l'alanine (p.Glu429Ala) et présente une fréquence d'apparition similaire ou légèrement inférieure à celle du polymorphisme c.677C>T selon les populations. Contrairement au polymorphisme c.677C>T, un seul allèle muté c.1298A>C ne conduit pas à une augmentation de l'homocystéine sérique. Cependant, les individus qui sont homozygotes ou hétérozygotes c.677C>T et portent également l'allèle c.1298A>C (fréquence moyenne en Europe : 33, 54%) présentent une perte de fonction enzymatique similaire aux homozygotes c.677C>T (Nefic et al. 2018; Zappacosta et al. 2014; Araszkiewicz et al. 2025).

2- Pathologies associées à un déficit en folates

Les perturbations du métabolisme des folates altèrent la synthèse des acides nucléiques et les mécanismes épigénétiques avec un rôle majeur au cours du développement embryonnaire ainsi que dans le renouvellement cellulaire des tissus prolifératifs chez l'adulte.

Lors du développement fœtal la carence en vitamine B9 est associée aux anomalies de fermeture du tube neural. Les conséquences varient allant de l'anencéphalie à la spina bifida (Copp et al. 2015). En plus d'une altération de la prolifération, il a également été montré que la faible disponibilité en méthyle perturbait les mécanismes épigénétiques qui orchestre les étapes critiques du développement embryonnaire (Kerek et al. 2013; Zaganjor et al. 2016; Geoffroy et al. 2019). En outre, des polymorphismes dans les gènes *MTHFR, MTR* et *MTRR* ont été impliqués dans le risque de développer des anomalies de fermetures du tube neural (Lyon et al., 2020). Il a été également montré que la supplémentation orale en acide folique chez les mères à risque permettait de réduire de 72% le risque récurrent d'anomalies de fermetures du tube neural (Seyoum Tola 2024).

Chez l'adulte, les symptômes cliniques touchent majoritairement le système hématopoïétique (anémie mégaloblastique), le système immunitaire, le système cardiovasculaire et le système nerveux (déficience intellectuelle, troubles cognitifs). Il a été montré que les polymorphismes *MTFR* c.677C>T et c.1298A>C sont des facteurs de risques dans le trouble du spectre autistique, les maladies psychiatriques (schizophrénie, dépression…) et les maladies neurodégénératives (Maladie d'Alzheimer et MH) (Brune et al. 2004a; Lyon et al. 2020; Araszkiewicz et al. 2025; Beaudin et al. 2011; Ducker et Rabinowitz 2017).

III- La vitamine B12 et le cycle de la méthionine

A- La vitamine B12

1- Structure de la vitamine B12

La vitamine B12, aussi appelée cobalamine (Cbl), a été isolée pour la première fois par Smith et Rickes en 1948 et sa structure a été identifiée par Hodgkin une dizaine d'années plus tard (Froese et Gravel 2010). Il s'agit d'une grande molécule organométallique de 1300- 1500 kDa. Le point central de la vitamine est l'atome de cobalt pouvant être entouré par six ligands. Quatre d'entre eux sont les atomes d'azote du cycle corrine entourant l'atome de cobalt. Le ligand se trouvant sous le cycle corrine est le 5.6-diméthylbenzimidazole ribonucléotide phosphate (DMB) avec un groupement imidazole lié au cobalt, tandis que le phosphate est connecté à un des noyaux pyrrole. Le ligand au-dessus du cycle corrine varie en fonction de l'état de modification de la vitamine B12. Le plus fréquemment ce groupe fonctionnel R peut être un méthyle, on parle alors de méthylcobalamine (MeCbl) ou de l'adénosyl et on parle alors d'adénosylcobalamine (AdoCblc). Mais il peut également s'agir d'un groupe hydroxyle formant l'hydroxycobalamine (OHCbl) ou cyano formant la cyanocobalamine (CNCbl) (**Figure 44**). Les différentes formes de la cobalamine ne se trouvent pas au même endroit dans l'organisme, ainsi, la MeCblc se trouve dans le cytoplasme, l'AdoCvl dans la mitochondrie et l'OHCbl est la forme circulante. La CNCbl constitue une exception puisque c'est une forme circulante retrouvée principalement chez les fumeurs (Froese et Gravel 2010; Guéant et al. 2022; McCorvie et al. 2023).

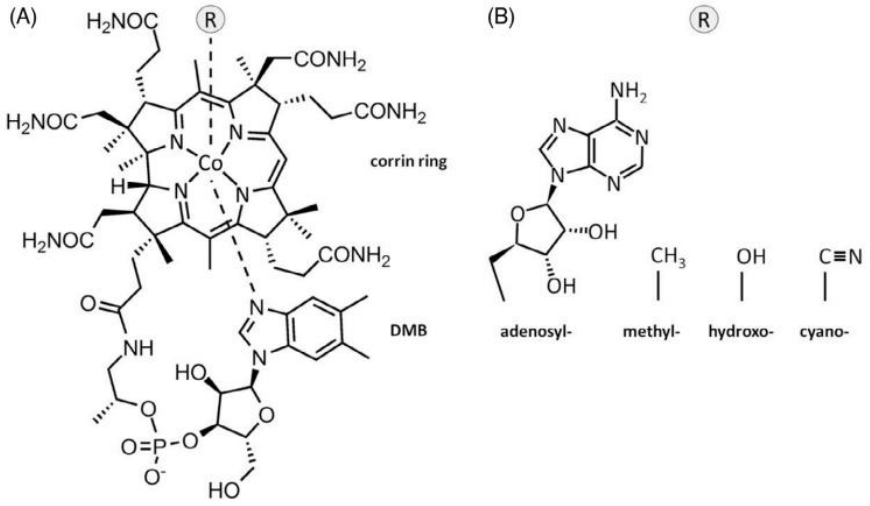


Figure 44 : Structure chimique de la vitamine B12 (McCorvie et al. 2023)*. (A) Structure moléculaire de la vitamine B12. Le noyau central de cobalt est associé par le dessous au ribonucléotide 5.6-diméthylbenzimidazole (DMB) et par le dessus à un ligand R variable définissant sa fonction. (B) Structure moléculaire des groupements R possibles.*

2- Synthèse, Transport et Absorption de la vitamine B12

La cobalamine est un micronutriment synthétisé uniquement par des micro-organismes, elle est apportée par l'alimentation, plus précisément par l'alimentation d'origine animale, la viande rouge, les abats, le poisson et les œufs. L'ANSES recommande un apport de 0,4 à 2,5 µg/j chez l'enfant de 6 mois à 17 ans, de 4µg/j chez l'adulte et de 4.5-5 µg/j chez la femme enceinte et allaitante (ANSES 2021).

Le métabolisme de la cobalamine est complexe car elle est naturellement associée à des protéines empêchant son absorption. Une fois ingérée, elle est libérée dans l'estomac via l'action de la pepsine et du pH acide puis liée à l'haptocorrine, une glycoprotéine d'origine salivaire (HC) (Froese et Gravel 2010; Quadros 2010; Guéant et al. 2022). Dans l'intestin grêle, la Cbl est libérée sous l'action de protéases pancréatiques et liée par le facteur intrinsèque (FI). Le récepteur CUBAM permet l'internalisation du complexe FI-Cbl dans les entérocytes de l'iléum (Fyfe et al. 2004).

Dans les entérocytes, la Cbl est libérée par la dégradation lysosomale du FI et pourra rejoindre la circulation sanguine via les récepteurs MRP1 (Kapadia et al. 1983). Dans le sang, cette dernière se lie soit à l'HC (75 à 90%) soit à la transcobalamine (TC) (10-25%) (Mørkbak et al. 2006; Nielsen et al. 2012). La HC intervient dans l'absorption hépatocytaire de la cobalamine uniquement alors que la TC facilite son absorption pour l'ensemble des cellules des tissus périphériques. Dans ces tissus l'endocytose du complexe TC-Cbl est réalisée via le récepteur CD320. Cette internalisation via le récepteur CD320 représente la voie de captation majoritaire de la B12 dans le cerveau (Lai et al. 2013).

Dans les cellules le complexe TC-Cbl est dégradé dans les lysosomes et la Cbl sera libérée dans le cytoplasme et prise en charge par le complexe MMACHC (Metabolism Of Cobalamin Associated C)/ MMADHC (Metabolism Of Cobalamin Associated D) qui va orienter la Cbl vers le métabolisme des monocarbones cytoplasmique (formation de Methyl-Cbl) ou vers le métabolisme des monocarbones mitochondrial (formation d'Adénosyl-Cbl). Dans le cytoplasme la Methyl-Cbl intervient comme cofacteur de la Méthionine Synthase et permet la reméthylation de l'homocystéine en Méthionine tandis que dans la mitochondrie l'Adénosyl-Cbl intervient comme cofacteur de la méthylmalonyl CoA Mutase qui convertit le méthylmalonyl CoA en succinyl CoA pour le cycle de Krebs reliant ainsi le MMC au métabolisme des glucides (Green et al. 2017; Guéant et al. 2022) (**Figure 45**).

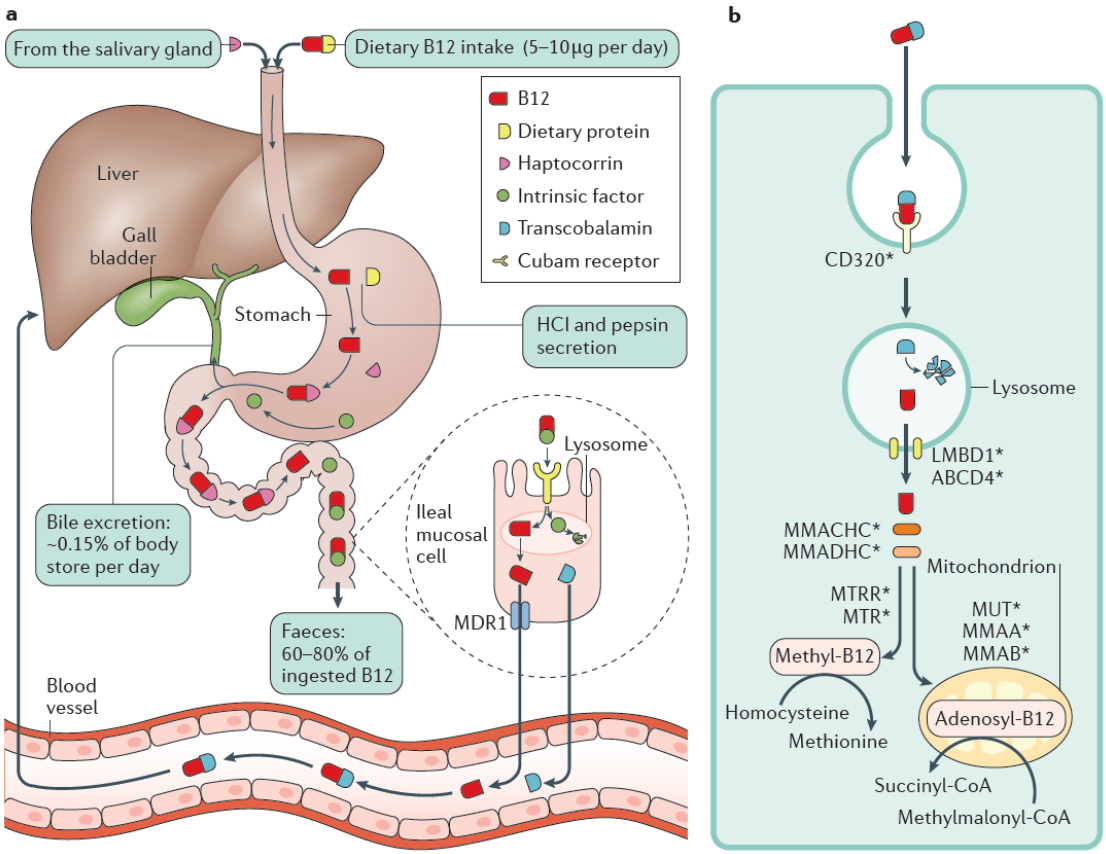


Figure 45 : Absorption, transport et métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 (Green et Plattel 2024). *(A) Dans le tractus gastro-intestinal supérieur, la B12 est libérée des composants alimentaires et liée par l'haptocorrine (HC). Dans le duodénum, l'HC est dégradée et la B12 est capturée par le facteur intrinsèque (FI). Dans l'iléon terminal, la vitamine B12 liée au FI est endocytée par le complexe CUBAM. À l'intérieur de l'entérocyte, le FI est dégradé et la vitamine B12 est libérée dans le sang grâce au Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1). Dans le plasma, la B12 est liée à l'HC ou à la transcobalamine. Cette dernière est responsable de l'administration de la B12 aux cellules des tissus périphériques. Dans le foie et d'autres tissus, l'absorption de la vitamine B12 cellulaire dépendante de la transcobalamine est médiée par le récepteur CD 320, tandis que le récepteur mégaline assure la réabsorption rénale dans le rein. (B) Dans la cellule la TC va être dégradée dans les lysosomes et la Cbl libre va passer dans le cytoplasme via les transporteurs LMBD1 et ABCD4. Dans le cytoplasme, la Cbl sera prise en charge par le complexe MMACHC/MMADHC pour rejoindre soit le cycle de la méthionine dans le cytoplasme soit la voie mitochondriale du MMC. Plusieurs troubles héréditaires — désignés CblA à CblJ et Mut—sont associés à des mutations dans les gènes codant pour des protéines impliquées dans le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12.LMBD1 :lysosomal cobalamin transporter; ABCD4 : lysosomal membrane transporter; MTRR : methionine synthase reductase ;MTR : methionine synthase (MS) ; MMACHC :methylmalonic aciduria and homocystinuria type C protein ; MMADHC : methylmalonic aciduria and homocystinuria type D protein ; MUT : methylmalonyl-CoA Mutase; MMAA / MMAB: methylmalonic aciduria cblA / cblB type ; HCl, hydrochloric acid.*

B- Le cycle de la méthionine

1- Synthèse et métabolisme de la méthionine

La méthionine (MET) est un acide aminé essentiel impliqué notamment dans la synthèse protéique qui n'est pas synthétisé par l'Homme. La MET provient soit de l'alimentation soit de la reméthylation de l'HCY dans le cycle de la méthionine (Guéant et al. 2022; Lyon et al. 2020; Guéant et al. 2013). Le cycle de la méthionine a lieu dans le cytoplasme et permet la synthèse de donneur universel de groupement méthyle, la S-adénosylméthionine (SAM) indispensable dans les réactions de méthylation et dans les réactions épigénétiques (**Figure 46**).

La Méthionine synthase (MS) utilise la Cbl, sous sa forme méthyl-Cbl, comme cofacteur pour transférer le groupement méthyle issu du 5-CH3-THF du cycle des folates sur l'HCY, entraînant la formation de la méthionine. La méthionine sera ensuite utilisée par les méthionines adénosyltransférases (MATs) pour former la S-adénosylméthionine (SAM). Les méthylases dépendantes de la SAM vont transférer un groupement méthyle de la SAM vers les sites accepteurs (ARN, ADN, protéines…) entrainant la production de S-adénosyl-homocsytéine (SAH) qui sera ensuite hydrolysée par la S-adénosyl-homocystéine-hydrolase (SAHH) en HCY.

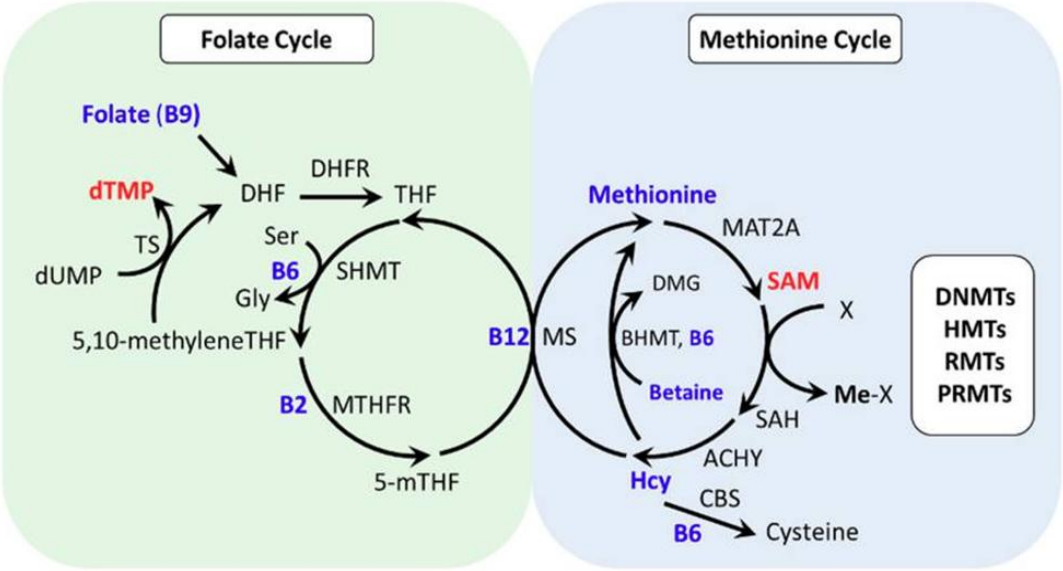


Figure 46 : La voie de reméthylation associe les cycles des folates et de la méthionine (Lyon et al., 2020). *Le 5-méthylTHF provenant du cycle des folates donne son groupement méthyle à la Méthionine synthase (MS) qui utilise comme cofacteur la vitamine B12 sous la forme de méthylCbl pour reméthyler l'homocystéine (*HCY*) en Methionine. La Methionine-adénosyl-transférase (MAT2) utilise la méthionine comme substrat pour former la S-adénosyl-méthionine (SAM) pour les processus méthylation cellulaire via des méthylases dépendantes de la SAM (DNMT, HMT, RMT et PRMT) ce qui aboutit à la formation de S-adénosyl-homocystéine (SAH). La SAH sera ensuite hydrolysée par la S-adénosyl-homocystéine-hydrolase (SAHH) aboutissant à la formation d'homocystéine.*

Au-delà de la voie de reméthylation classique impliquant le cycle des folates et le cycle de la méthionine, il est également possible que l'HCY soit reméthylée pour former de la méthionine catalysée par la BHMT en utilisant la choline et la bétaïne mais uniquement dans le foie et les reins (Craig 2004; Guéant et al. 2013; Werge et al. 2021) (**Figure 39**). De plus il existe une voie de secours pour la synthèse de méthionine (Methionine salvage) la méthylthioadénosine (MTA), un sous-produit de la synthèse des polyamines qui consomme la SAM, peut être métabolisée pour produire de la méthionine (Xing et Tu 2025).

2- Synthèse et métabolisme de la SAM

Au sein du cycle de la méthionine (**Figure 46**), la SAM est obtenue majoritairement par l'activité des enzymes MATs (MAT1 et MAT2) en présence d'ATP. La SAM est un métabolite essentiel du cycle de la méthionine, c'est un donneur universel de groupement méthyle nécessaire à toutes les réactions biologiques de méthylation, il joue ainsi un rôle majeur dans la régulation des mécanismes épigénétiques et épigénomiques (Xing et Tu 2025; Guéant et al. 2022; Friso et al. 2017). La SAM est le substrat de nombreuses méthyltransférases, pour la méthylation des ARN (RNA méthyltransferase : RMTs), la méthylation de l'ADN (DNA méthyltransférases: DNMTs), la méthylation des histones (Histone méthyltransférases : HMTs), la méthylation des protéines (protéines méthyltransférases : PRMTs).

La SAH est hydrolysée par la SAH hydrolase (SAHH) pour former de l'HCY et de l'adénosine, mais la SAH agit également comme inhibiteur des enzymes responsables du transfert des groupes méthyles, y compris les ADN méthyltransférases, en se liant à ces enzymes avec une affinité plus élevée que la SAM (Friso et al. 2017). D'un autre côté la SAM est un inhibiteur allostérique de la MTFHR du cycle des folates. Les réactions de transméthylation et leur efficacité dépendent donc de l'élimination efficace de la SAH. L'objectif étant un équilibre entre la SAM pour l'apport de groupement -CH3 et la SAH pour le fonctionnement du cycle. En cas d'accumulation d'HCY la réaction de la SAHH est réversible ce qui peut provoquer une élévation des taux intracellulaire de SAH, qui auront d'une part un effet inhibiteur sur la réaction des méthyltransférases et d'autre part un effet activateur sur la CBS la première enzyme de la voie de la transsulfuration qui permet de convertir l'HCY en cystéine (Froese et Gravel 2010).

Ainsi, le métabolisme de la SAM est au cœur du cycle de la méthionine et l'équilibre entre la SAM et la SAH qui se forme suite au transfert du groupement méthyle de la SAM est primordial. Les capacités de méthylation cellulaire se définissant par le ratio SAM/SAH. Des études ont montré que des niveaux élevés du ratio SAM/SAH sérique été associés à des risques plus faibles de démences et de mortalité au cours du vieillissement (Mihara et al. 2022).

C- Altération du cycle de la méthionine

1- Carence en vitamine B12

La carence en vitamine B12 est liée à différents mécanismes physiopathologiques qui peuvent survenir dans la petite enfance, l'enfance, l'adolescence et la vie adulte. Ainsi, la carence cellulaire en B12 peut être en lien avec des apports insuffisants, une malabsorption, des inactivations chimiques, des facteurs génétiques entraînant des altérations du transport ou du métabolisme intracellulaire de la B12 (**Tableau V**).

Tableau V : Les différentes causes de déficiences en vitamine B12 (Green et al., 2017).

Condition	Base pathogénique associée
Anémie pernicieuse	Absorption insuffisante de la vitamine B12 due à un déficit en facteur intrinsèque (généralement lié à une maladie auto-immune)
Maladies ou chirurgie gastriques	Gastrectomie partielle ou totale ou chirurgie de réduction gastrique entraînant un déficit en facteur intrinsèque
Gastrite atrophique chronique	Inflammation chronique provoquant la perte des cellules produisant l'acide gastrique. La prise de médicaments modifiant la sécrétion acide ou le pH gastrique (IPP, antagonistes H_2, antiacides) empêche la libération de la vitamine B12 de la matrice alimentaire en raison d'une acidité chlorhydrique insuffisante et d'une faible activité de la pepsine
Maladies pancréatiques ou pancréatectomie	La vitamine B12 n'est pas libérée du complexe avec l'haptocorrine en raison d'une activité enzymatique pancréatique insuffisante
Autres maladies intestinales	Résection iléale, infections parasitaires ou prolifération bactérienne entraînant une absorption altérée du complexe vitamine B12–facteur intrinsèque
Médicaments affectant l'absorption ou le métabolisme de la vitamine B12	Diminution des concentrations sériques de B12 par des mécanismes connus (ex. cholestyramine) ou encore mal élucidés (ex. metformine)
Facteurs alimentaires	Malnutrition, régimes végétariens ou végétaliens et alcoolisme chronique entraînant une diminution de l'apport en vitamine B12
Troubles héréditaires	Diminution de l'expression, de l'activité de liaison ou de l'affinité des récepteurs et protéines impliqués dans le transport et le métabolisme de la vitamine B12
Divers	Incluant l'infection par le VIH et l'anesthésie au protoxyde d'azote

Les déficiences majeures en vitamines B12 sont peu fréquentes et souvent d'origine génétique avec des manifestations cliniques hématologiques et neurologiques. Les déficiences en B12 qualifiées comme faibles (<148pmol/litre de plasma) ou intermédiaires (148-220 pmol/litre de plasma) sont plus communes, elle n'entraîne pas de symptômes aussi sévères mais représentent tout de même une préoccupation de santé publique (sources OMS /ANSES) (Green et al. 2017). En effet, ces déficiences en vitamine B12 peuvent toucher 10 à 30% de la population, elles peuvent provenir de modification du comportement alimentaire, notamment chez des personnes avec un régime de type végan ou végétarien, mais touchent également les personnes âgées (Green et al. 2017).

2- Défauts génétiques associés au métabolisme de la vitamine B12

Au sein du transport et de l'absorption de la vitamine B12 ou Cbl il est possible qu'une déficience en HC, FI ou TC soit observée (**Figure 45**). La mutation du gène *GIF* qui code pour le FI entraine une déficience congénitale en facteur intrinsèque. La déficience en FI est associée à la maladie de Biermer et représente une des causes les plus fréquentes de carences en vitamines B12. Les mutations des gènes *CUBN* et *AMN* qui codent pour les deux parties du récepteur CUBAN aboutit à un défaut d'internalisation du complexe FI-Cbl au niveau de l'iléon et est associée à la maladie d'Imerslund-Gräsbeck. Les patients atteints par ces défauts génétiques affectant le FI sont en général diagnostiqués entre 1 et 5 ans, ils présentent des taux sériques de B12 diminués, une hyperhomocystéinémie ainsi qu'une acidémie méthylmalonique, avec un retard de croissance, des symptômes neurologiques et hématologiques (Huemer et Baumgartner 2019).

La déficience en HC est liée à des mutations du gène *TCN1* et se manifeste par une diminution des taux plasmatiques en B12 mais ne présente aucun symptôme clinique alors que les mutations du gène *TCN2* codant pour la TC entraînent une insuffisance tissulaire grave en Cbl, une anémie mégaloblastique, un retard de croissance et souvent des complications neurologiques (Michael Whitehead 2006). Des taux sériques très élevé de Cbl (1 000-10 000 pg/mL) sont nécessaire pour corriger une carence en TC, ils sont administrés par voie orale ou intramusculaire de 0.5-1 mg de CNCbl ou OHCbl une à deux fois par semaine (Banerjee et Ragsdale 2003).

Les désordres héréditaires ou erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 sont des maladies rares associées à des mutations de gènes codant pour l'expression de protéines ou d'enzymes impliquées dans le transport et le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12. Ces maladies sont responsables de l'altération de la formation soit de l'Adénosyl-Cbl soit de la Methyl-Cbl, ou dans certains cas, de ces deux cofacteurs ainsi que d'une augmentation combinée de l'homocystéine et de l'acide méthylmalonique (Green et al. 2017; Guéant et al. 2022).

Il existe cependant une grande diversité clinique et biochimique observée chez les patients ce qui a conduit à définir des groupes sur la base des différents désordres génétiques. 9 groupes sont actuellement décrit, CblA à CblG, CblJ et Mut (Wiedemann et al. 2022; Gherasim et al. 2013; Coelho et al. 2008; Guéant et al. 2022) (**Figure 45** et **Figure 47**).

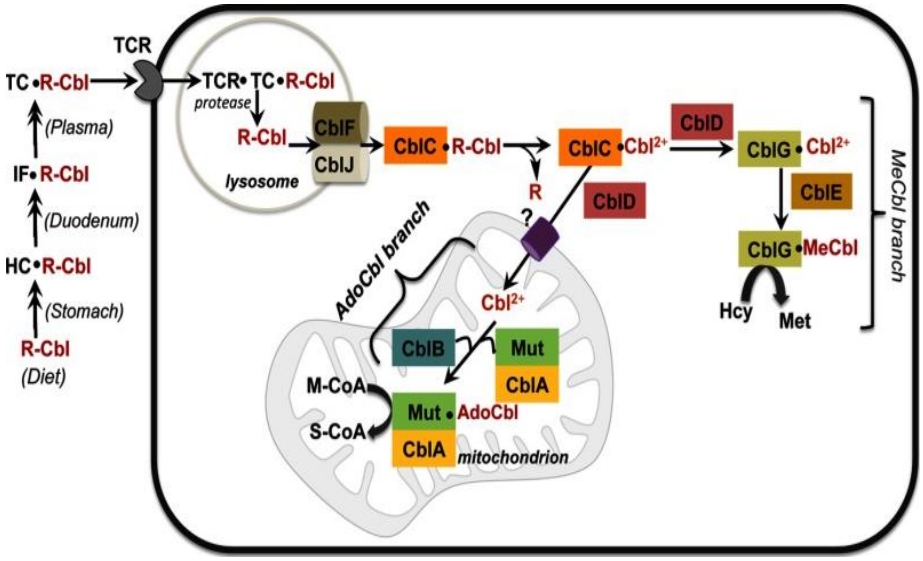


Figure 47 : Les erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 (Cbl) : CblA-CblG, CblJ et Mut (Gherasim et al., 2013). *La cobalamine alimentaire (R-Cbl) est liée dans la salive et l'estomac par l'haptocorrine (HC), dans le duodénum par le facteur intrinsèque (IF), et dans le sang par la transcobalamine (TC) le complexe TC-Cbl est internalisé dans les cellules via le récepteur CD320 (TCR : transcobalamin receptor) et dégradé dans les lysosomes. La Cbl libre va passer dans le cytoplasme via les transporteurs LMBD1 (CblF) et ABCD4 (CblJ) et sera prise en charge par le complexe MMACHC (CblC)/ MMADHC (CblD) qui va orienter la Cbl vers le métabolisme des monocarbones cytoplasmique (formation de Methyl-Cbl) ou vers le métabolisme des monocarbones mitochondrial (formation d'Adénosyl-Cbl). Dans le cytoplasme la Methyl-Cbl intervient comme cofacteur de la Méthionine Synthase (CblG) et de la Méthionine Synthase réductase (CblE) et permet la reméthylation de l'homocystéine en Méthionine tandis que dans la mitochondrie la formation d'Adénosyl-Cbl via MMAA (Metabolism of cobalamin associated A – CblA) et MMAB (Metabolism of cobalamin associated B – CblB) intervient comme cofacteur de la méthylmalonyl CoA Mutase (Mut) qui convertit le méthylmalonyl CoA en succinyl CoA.*

3- Pathologies associées à un déficit en vitamine B12 ou cobalamine.

Une déficience en vitamine B12 se manifeste par de nombreux symptômes qui différent selon l'âge du patient et qui sont listés dans le **Tableau VI**. Chez l'adulte les symptômes hématologiques et neurologiques sont les mieux documentés. Parmi les troubles hématologiques, le plus connu, l'anémie mégaloblastique, résulte de l'anémie pernicieuse en lien avec une déficience génétique de l'absorption et du transport de la B12 ou résultant de gastrite chronique entrainant une disparition des cellules sécrétant le facteur intrinsèque, une déficience en fer et une malabsorption en B12.

Parmi les symptômes neurologiques, on retrouve la démyélinisation périphérique et centrale généralement considérée comme le mécanisme sous-jacent de la myéloneuropathie associée à la déficience en B12. On retrouve également des perturbations sensitives et motrices, l'ataxie, le déclin cognitif, des troubles psychiatriques, les convulsions, la déficience intellectuelle et la démence. Ainsi des niveaux accrus d'homocystéine et un faible statut sérique en B12 ont été associé à une atrophie cérébrale accélérée et à des altérations cognitives cliniques (Green et al. 2017; Guéant et al. 2022).

Tableau VI : Conséquences et symptômes de la déficience en vitamine B12 (Green et al., 2017)

Catégorie	***Symptômes / Conséquences associés à une carence en vitamine B_{12}***
Symptômes de carence en B12 chez les nourrissons	Difficultés d'alimentation ; régurgitations ; constipation ; apathie ; irritabilité ; fasciculations, tremblements et secousses myocloniques ; croissance ralentie, périmètre crânien réduit et lésions cérébrales ; retard du développement incluant une diminution du développement moteur global, du sourire et du babillage ; pancytopénie.
Conséquences d'un faible statut maternel en B12 chez les nourrissons	Défauts du tube neural rapportés chez les nourrissons de mères ayant un faible statut en B12 dans les populations avec ou sans enrichissement en acide folique ; effets sur le développement du nourrisson incluant retard staturo-pondéral, atrophie cérébrale, hypotonie, léthargie, retards du développement et anomalies de l'électroencéphalogramme ; contribution aux maladies cardiovasculaires, aux maladies neurodégénératives et aux troubles psychiatriques à l'âge adulte via l'augmentation de l'homocystéine circulante ; contribution au développement du diabète via des effets sur le métabolisme de l'insuline et des lipides.
Symptômes de carence en B12 chez les enfants plus âgés	Baisse des performances scolaires ; poids réduit ; taille et périmètre crânien diminués ; anémie macrocytaire ; poids normal ou augmenté ; valeurs hématologiques normales ; altération du développement mental et social, de la mémoire à court terme et de l'attention.
Conséquences d'un faible statut en B12 ou d'une carence chez l'adulte	Anémie mégaloblastique ou macrocytaire ; dégénérescence combinée subaiguë de la moelle épinière ; altération des fonctions sensorielles et des nerfs périphériques ; troubles cognitifs ; dépression ; maladies osseuses ; perte auditive ; dégénérescence maculaire

IV- La vitamine B6 et la voie de la transsulfuration

A- La vitamine B6

1- Structure de la vitamine B6

Structurellement la vitamine B6 est une pyridine substituée avec un groupe hydroxyle et un groupe méthyle en position 5 et 6 respectivement (**Figure 48**). Plusieurs formes de la vitamine B6 existent, la pyridoxine (PN) contenant un groupement hydroxyméthyle, le pyridoxal (PL) contenant un groupement aldéhyde ou encore la pyridoxamine (PM) contenant un groupement aminométhyle. Les formes bioactives sont phosphorylées et la forme active circulante de la B6 la plus fréquente correspond au phosphate de pyridoxal (PLP) (Franco et al. 2022).

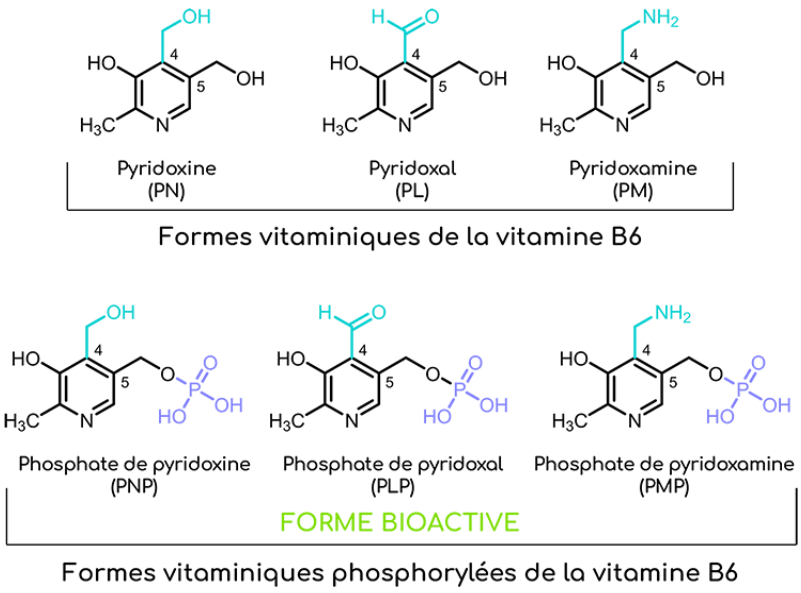


Figure 48 : Structure chimique de la vitamine B6. D'après (Franken et al. 1996). *La structure de la vitamine B6 est une pyridine substituée avec un groupe hydroxyle et un groupe méthyle en position 5 et 6. Elle existe également sous plusieurs formes en fonction du groupement en position 4. Les formes bioactives sont phosphorylées, il existe trois formes bioactives mais la forme circulante la plus fréquente est le pyridoxal phosphorylé.*

2- Transport et absorption de la vitamine B6

La vitamine B6 n'est pas synthétisée par l'Homme, elle provient de l'alimentation, notamment par le poisson, le foie, les légumes verts, les pommes de terre et les pois chiches. Les besoins sont de 1,3 mg/jour chez l'adulte et de 1,9 mg/jour chez la femme enceinte (Franco et al. 2022). Les produits animaux contiennent principalement du PLP et PMP, tandis que chez les végétaux le PNP est la forme dominante. La vitamine B6 est absorbée dans le jéjunum, métabolisée en sa forme active dans le foie, filtrée au niveau rénal et excrété dans les urines (**Figure 49**).

Les PLP, PMP et PNP ingérées sont déphosphorylés par des phosphatases intestinales (IP) avant absorption. La circulation portale délivre les PL, PM et PN au foie, où ils sont rephosphorylés par la pyridoxal kinase (PDXK), et les PMP et PNP sont convertis en PLP par la pyridoxine oxydase (PNPO). Dans le foie, la production de PLP est régulée de manière à garder le contenu relativement constant, même après un apport très élevé. Le PLP est libéré du foie vers le plasma ou il est étroitement lié à l'albumine. Les PLP plasmatiques doivent être déphosphorylés par la phosphatase alcaline localisée au niveau de la membrane externe des cellules des tissus périphériques avant d'être absorbés au niveau tissulaire ou de passer la barrière hémato-encéphalique (Wilson et al. 2019).

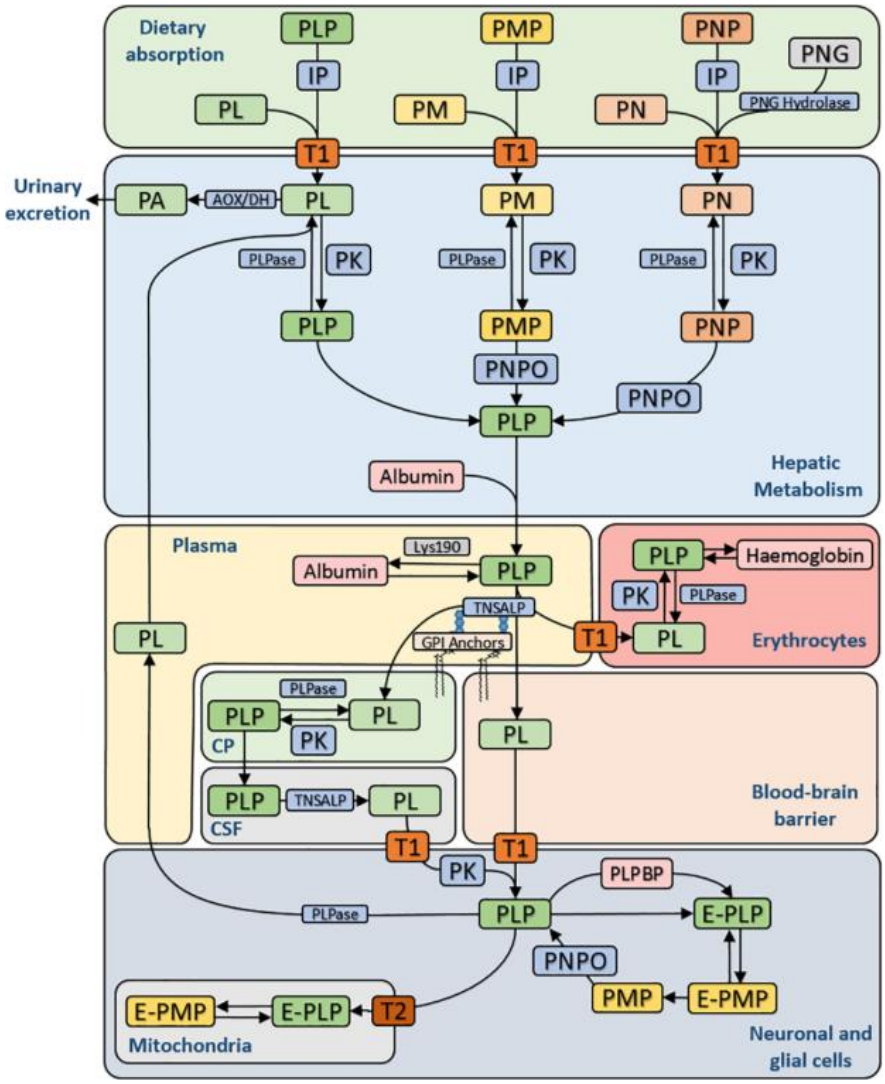


Figure 49 : Synthèse, Transport et Absorption du PLP (forme active de la vitamine B6) (Wilson et al., 2018). *AOX/DH: aldehyde oxidase /ß-NAD dehydrogenase; T1 : plasma membrane transporter et T2 : mitochondrial membrane transporter; CP : choroid plexus; CSF : cerebrospinal fluid; IP : intestinal phosphatases ; E-PLP, enzyme bound PLP; E-PMP : enzyme-bound PMP; GPI :, glycosylphosphatidylinositol anchor; PA : 4-pyridoxic acid; PK : pyridoxal kinase (PDXK); PL : pyridoxal; PLP: pyridoxal 5'-phosphate; PLPase: pyridoxal-phosphatase; PLPBP/PROSC : pyridoxal 5'-phosphate binding protein; PM :pyridoxamine; PMP : pyridoxamine 5'-phosphate; PN : pyridoxine; PNG : pyridoxine-5'-ß-D-glucoside; PNP : pyridoxine 5'-phosphate; PNPO, pyridox(am)ine 5'-phosphate oxidase; TNSALP : tissue nonspecific alkaline phosphatase.*

3- Métabolisme intracellulaire de la vitamine B6

Dans les tissus, le PL est phosphorylé par la PDXK dont l'expression est ubiquitaire et basale dans de nombreux tissus (glandes surrénales, poumon, sein, tractus gastro-intestinal, voies urinaires, testicules et tissu adipeux) ou très importante comme dans le système nerveux central, en particulier au niveau du cortex cérébral. La PDXK est le régulateur principal des niveaux de PLP et de l'activité de la vitamine B6, sa régulation se produit au niveau transcriptionnel et post-traductionnel (PTMs). Bien que tous leurs effets ne soient pas encore définis, de nombreuses phosphorylations de PDXK ont été décrites, dont plusieurs sont mutées chez les patients atteints de cancer. De plus, PDXK possède huit sites d'ubiquitination différents pour la dégradation par le protéasome (Franco et al. 2022).

La vitamine B6 sous sa forme PLP est le cofacteur d'environ 160 enzymes impliquées dans de nombreuses fonctions régulatrices dans le catabolisme du glycogène, la gluconéogenèse, le métabolisme lipidique, la synthèse des acides aminés, la biosynthèse de l'hème, la biosynthèse des neurotransmetteurs, l'anaplérose, et l'homéostasie redox (Franco et al. 2022). Au sein du MMC, cette forme est utilisée par les sérine-hydroxyméthyltransférases (SHMT1/2) du cycle des folate comme cofacteur pour convertir la sérine en glycine. La PLP est également le cofacteur de la bétaïne hydroxyméthyltransférase (BHMT) permettant la conversion de la bétaïne en diméthylglycine afin de reméthyler l'HCY en méthionine dans le foie (Lyon et al. 2020). Dans la voie de la transsulfuration qui permet de transformer l'homocystéine en cystéine, les deux enzymes de la voie, la cystathionine β-synthase (CBS) et la cystathionine γ-lyase (CSE) utilisent également le PLP comme cofacteur, de même pour la CSD qui intervient dans la transformation de la cystéine en Taurine (Stach et al. 2021) (**Figure 50**).

B- La voie de la transsulfuration ou voie cataplérotique

1- Description de la voie de la transsulfuration

La voie de la transsulfuration a déjà été abordée dans le chapitre I de l'introduction en lien avec le rôle de la HTT dans la régulation de cette voie (**Figure 23** et **Figure 30**). Brièvement, l'HCY est métabolisée en cystathionine via la cystathionine-β-synthase (CBS) en utilisant la sérine et la vitamine B6 sous la forme PLP (Martinez et al. 2000). La cystathionine est ensuite hydrolysée pour former de la cystéine par la deuxième enzyme de cette voie, la cystathionine-γ-lyase, utilisant elle aussi la vitamine B6/PLP comme cofacteur (S.-W. Choi et Friso 2010) (**Figure 50**).

Le devenir de la cystéine est ensuite multiple : elle peut être oxydée et former à la suite de son métabolisme du glutathion (GSH), un puissant antioxydant, elle peut aussi être utilisée pour former du pyruvate ou de la taurine. Le devenir du pyruvate va dépendre des besoins énergétiques de la cellule, du niveau en O2 (respiration cellulaire ou fermentation) et du patrimoine enzymatique de la cellule (néoglucogenèse dans le rein et le foie). La taurine est un acide aminé particulièrement présent dans le cerveau, la rétine et les muscles, il joue un rôle important dans l'homéostasie calcique, la neuromodulation et l'immunomodulation (Werge et al. 2021). La voie de la transsulfuration permet également la production du sulfure d'hydrogène (H2S). Le sulfure d'hydrogène (H2S) est un gasotransmetteur produit par la CBS et la CSE dans de nombreux tissus, et notamment dans le cerveau, où il joue un rôle de neuromodulateur. Ces effets passent majoritairement par la modification post-traductionnelles des protéines (S-sulfhydation des résidus Cys). Ce processus conduit à la modulation de l'activité enzymatique, à l'ouverture ou à la fermeture des canaux ioniques et à la régulation de l'expression de gènes, avec des effets biologiques antioxydant, anti-inflammatoire, vasorelaxant, cardioprotecteur et neuroprotecteur (Werge et al. 2021; Flori et al. 2025) (**Figure 50**).

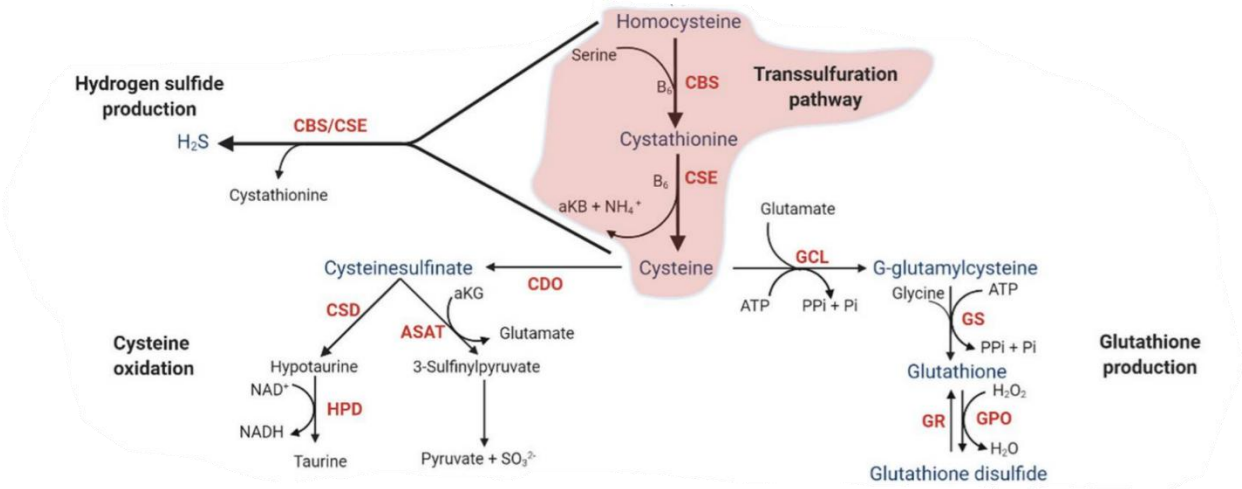


Figure 50 : Produits de la voie de la transsulfuration (Modifié Werge et al., 2021). *L'*HCY *peut être transformée en cystéine dans la voie de la transsulfuration grâce aux enzymes CBS et CSE utilisant la vitamine B6 sous forme de PLP comme cofacteur. La cystéine peut etre incorporée dans la synthèse protéique ou servir de précurseur pour la synthèse de Taurine, de Pyruvate et de glutathion. Abréviations des métabolites : α-KB, α-cétobutyrate ; ATP ; adénosine triphosphate ; B6, pyridoxal 5'-phosphate ; H2S, hydrogène sulfide ; NH4 +, ammoniac ; Pi, phosphate inorganique ; PPi, pyrophosphate ; SO32-, sulfite. Abbréviations des enzymes : CBS : Cystathionine beta-synthase, CSE : Cystathionine gamma-lyase, CDO : Cysteine dioxygenase, CSD : Cysteine sulfinic acid decarboxylase, ASAT : cysteinesulphinate transaminases/aspartate aminotransferase, HPD : hypotaurine deshydrogénase, GCL : Glutamate-cysteine ligase, GS : Glutathione syntHETase, GR : Glutathione réductase, GPO : Glutathione peroxidase.*

2- Régulation de la voie de la transsulfuration

L'H2S et la cystéine participent à une grande variété de processus physiologiques et leur production est très finement contrôlée. Au sein de la voie de la transsulfuration la CBS et la CSE sont régulées à la fois au niveau transcriptionnel mais aussi post-traductionnel et de nombreux PTMs modulent ainsi leur activité enzymatique ou leur localisation sub-cellulaire (Sbodio et al. 2019c) (**Figure 51**).

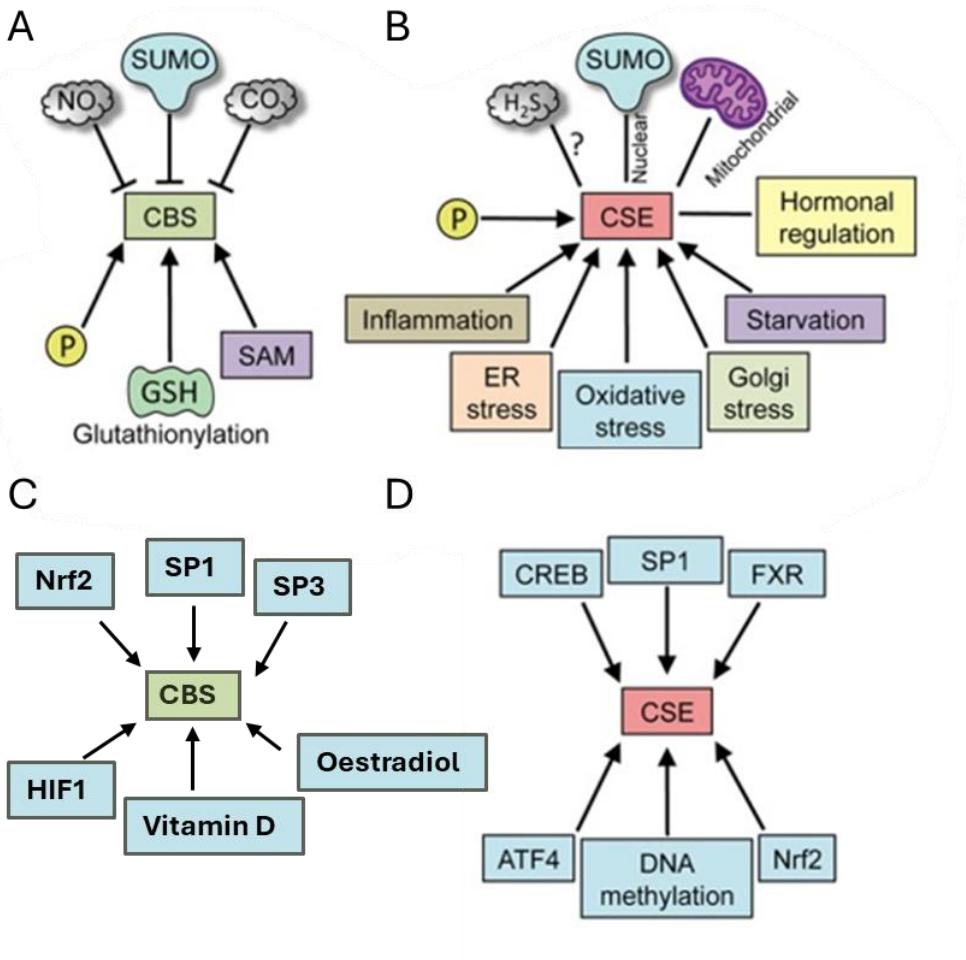


Figure 51 : Régulation de l'expression et de l'activité de la cystathionine-β-synthase (CBS) et de la cystathionine γ-lyase (CSE) (Modifié Sbodio et al., 2019a). *(A) Régulation post-traductionnelle de l'activité de la CBS. (B) Régulation post-traductionnelle de l'activité de la CSE. (C) Régulation transcriptionnelle de l'expression du gène codant pour la CBS (D) Régulation transcriptionnelle du gène codant pour la CSE.*

Régulation de la CBS

La CBS est un tétramère formé de sous-unités de 63 kDa qui peuvent chacune se lier à l'homocystéine, à la sérine, au PLP, à la SAM et à l'hème. L'hème joue le rôle de « switch » impliquant la CBS soit dans la production de cystathionine soit dans la production d'H2S (Zuhra et al. 2020).

La présence de ligand endogènes (HCY) et une forte concentration en sérine oriente la CBS vers la production de cystathionine. Cette étape est l'étape limitante dans l'entrée de la voie. L'activité de la CBS peut être régulée par de nombreux facteurs, elle est inhibée par le NO (monoxyde d'azote), le CO (monoxyde de carbone) et par sumoylation (E3 SUMO ligase), elle est activée par phosphorylation (Ser^{227}/ PKG), glutathionylation (Cys^{346}) et par la SAM (B. Murphy et al. 2019; Zuhra et al. 2020).

La production de H2S dans les différentes parties du cerveau est contrôlée par la CBS mais également par la SAM, et cette production fait défaut dans la maladie d'Alzheimer (Werge et al. 2021). La régulation par la SAM permet la coordination entre le cycle de la méthionine et la voie de transsulfuration. Ainsi, la SAM inhibe directement l'activité de la MTHFR du cycle des folates et active et stabilise la CBS. Cela permet d'une part de ralentir le cycle de la méthionine et donc la production d'homocystéine et d'autre part d'induire la prise en charge de l'homocystéine par la voie de la transsulfuration. A l'inverse, une diminution des taux de SAM conduit à une activation du cycle de la méthionine (Zuhra et al. 2020; Werge et al. 2021).

L'expression de la CBS a longtemps été considérée comme basale, constitutive et ubiquitaire, via des facteurs de transcription comme SP1/SP3, cependant, il est maintenant reconnu qu'elle peut être surexprimée notamment par NRF2 en réponse au stress oxydant et/ou à la production d'H2S. Il a été également été montré que l'expression de la CBS peut être induite par la forme active de la vitamine D (présence d'un élément de réponse à la vitamine D dans l'intron 2 du gène *CBS*), par l'estriadiol-17β ou des agonistes spécifiques des récepteurs aux œstrogènes (ER) α or β (présence d'un élément de réponse ERE dans le promoteur du gène *CBS*) et par la liaison de HIF1 sur un élément de réponse à l'hypoxie (HRE) dans le gène *CBS* humain (Zuhra et al. 2020).

Régulation de la CSE

La CSE est un tétramère formé de sous-unités de 45 kDa, chaque sous-unité se lie au PLP et à la cystathionine. C'est la seule enzyme qui peut directement générer de la cystéine *de novo* chez les mammifères (B. Murphy et al. 2019).

La CSE comme la CBS est régulée par de nombreux PTMs, la phosphorylation via Akt augmente son activité catalytique tandis que la sumoylation entraine sa localisation nucléaire. Elle sera activée et délocalisée en réponse au stress (oxydant, ER, Golgi), aux signaux pro-inflammatoires, à la déprivation énergétique ou en acides aminés (cystéine) (Sbodio et al. 2019c; Werge et al. 2021).L'expression de la CSE n'est pas constitutive mais extrêmement inductible en réponse à de nombreux signaux intra ou extracellulaires : stress oxydant, stress du RE, stress du Golgi, inflammation, déprivation en nutriments, hormone etc…(Sbodio et al. 2019c; B. Murphy et al. 2019).

L'expression de la CSE est régulée par SP1 dans les conditions normales, son expression induite est régulée par différents facteurs en fonction des cellules et des tissus. Dans le foie, FXR (Farnesoid X receptor) se lie au promoteur du gène *CTH* codant pour la CSE et augmente son expression pour réguler la production d'H2S. Le GPABR1 (G protein-coupled bile acid receptor 1) active la voie AMPc/PKA ce qui aboutit à la phosphorylation de CREB et, à sa liaison sur un site CRE du promoteur de *CTH* et à une augmentation de l'expression de la CSE avec des effets inflammatoires et vasculaires en lien avec l'H2S (vasodilatation). L'expression de la CSE est également induite par le stress oxydant via NRF2, par la déprivation énergétique ou en acides aminés via le facteur de transcription ATF4, par les hormones (GH, TSH). De plus, le promoteur du gène *CTH* est régulé par méthylation (Sbodio et al. 2019c; B. Murphy et al. 2019; Werge et al. 2021).

Les régulateurs FXR, GPBAR-1, SP1 et NRF2 sont également impliqués dans le métabolisme des lipides, du glucose et de l'acide biliaire, dans l'inflammation et le stress oxydant ce qui suggère que l'activation de la voie de la transsulfuration est régulée de manière adaptative en réponse aux mêmes besoins cellulaires et métaboliques (Werge et al. 2021).

C- Perturbation de la voie de la transsullfuration

1- Carence en B6

La carence en vitamine B6 est causée par un apport réduit, une mauvaise absorption ou une augmentation de son utilisation. La demande en vitamine B6 augmente pendant la grossesse, où elle favorise le développement du système nerveux central et périphérique. Un faible apport en vitamine B6 a été associé à la malnutrition, alors qu'une faible absorption peut être causée par l'alcoolisme, la contraception orale, l'usage de drogues, le tabagisme, la maladie cœliaque ou le diabète. Certains médicaments tels que l'isoniazide peuvent également interférer avec le métabolisme de la vitamine B6.

L'isoniazide est utilisé pour traiter la tuberculose, mais peut entraîner une neuropathie périphérique en interférant avec le PL pour former des dérivés d'hydrozone qui agissent comme un inhibiteur de PDXK, réduisant ainsi les niveaux de PLP nécessaires au fonctionnement du système nerveux (Franco et al. 2022). Une des conséquences les plus courantes de la déficience sévère en B6 est l'altération de la voie de la transsulfuration, l'hyperhomocystéinémie et le déficit en H2S et en glutathion (Flori et al. 2025). De manière similaire aux folates, la vitamine B6 est essentielle pour le fonctionnement neurologique et la formation des globules rouges. Le rôle neuroprotecteur de la vitamine B6 découle de son rôle de cofacteur dans la synthèse du glutathion, réduisant ainsi la sensibilité du cerveau vieillissant au stress oxydant. Ainsi, les carences en B6 faussent directement l'équilibre du stress oxydant, contribuant ainsi à la neurodégénérescence (Franco et al. 2022).

Une faible PLP plasmatique peut également résulter de mutations génétiques dans les enzymes PDXK ou PNPO. Des mutations de perte de fonction dans PDXK sont trouvées dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth, qui pourraient être corrigées par une supplémentation en PLP, et des mutations de l'enzyme PNPO ont été signalées dans l'encéphalopathie épileptique à début précoce (Wilson et al. 2019).

2- Mutations génétiques et polymorphismes de la CBS et de la CSE

Plus de 150 mutations dans la protéine CBS ont été signalées. L'homocystinurie (HCU) est une maladie génétique récessive autosomique rare associée à certaines mutations pathogènes de la CBS. Les mutations faux-sens pathogènes dans le gène CBS altèrent souvent le repliement, la liaison au cofacteur, la stabilité ou l'oligo-mérisation (Wd 2017). Par exemple, La mutation c.797 G>A de la CBS affecte sa stabilité et entraine une élimination protéasomale accrue (Gupta et al. 2017). Chez les patients la déficience en CBS s'accompagne de concentrations très élevées en HCY plasmatique (tHCY) et d'homocystinurie. Chez l'adulte la concentration en tHCY varie normalement de 5 à 15 µM, mais les patients non traités atteints d'un déficit en CBS ont souvent plus de 200 µM de tHCY (Majtan et al. 2025).

De plus il a été montré que les variants de la CBS couramment trouvés chez les patients atteints d'homocystinurie ont une propension accrue à se lier au CO ce qui inhibe l'activité de la CBS. Les patients déficients en CBS souffrent très précocement de diverses pathologies, notamment de thrombose, d'ostéoporose, des déficits neurologiques et des atteintes oculaires (**Figure 52**) (Wd 2017; Sbodio et al. 2019c; Majtan et al. 2025).

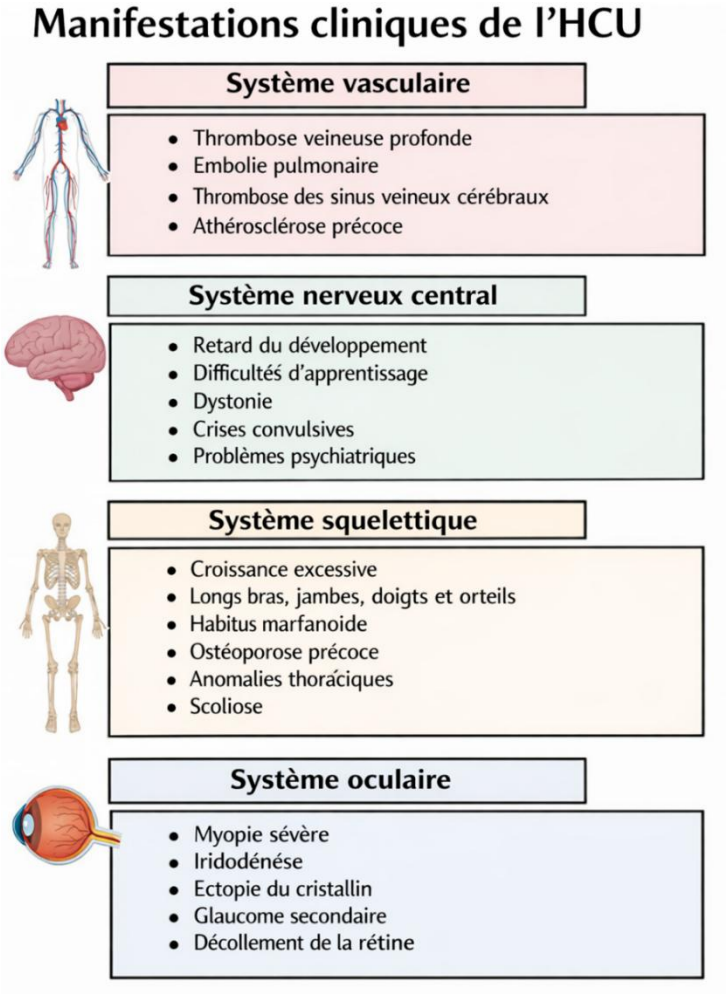


Figure 52 : Symptômes cliniques associés à l'homocystinurie (HCU) (Majtan et al., 2025). *Une déficience dans l'activité de la CBS entraîne un déséquilibre métabolique caractérisé par une* HCY *élevée) et le développement de l'homocystinurie (HCU). Les symptômes cliniques caractéristiques de la HCU affectent quatre compartiments majeurs : vasculaire, oculaire, squelettique et système nerveux central.*

Différentes mutations du gène *CTH* codant pour la CSE ont été rapportées et sont associées à une cystathioninurie. La cystathioninurie est une erreur innée rares du métabolisme, autosomique récessive, caractérisée par une accumulation anormale de cystathionine plasmatique et une augmentation ultérieure de l'excrétion urinaire due à une déficience en CSE. Par exemple, le variant c.1364G>T qui convertit la serine en position 403 de la CSE en isoleucine entraine une hyperhomocystéinémie et une cystathioninurie (Werge et al. 2021). Il a également été mis en évidence une association entre la présence de mutation du gène *CTH* et certain cancer (adénocarcinome pulmonaire) (Abdullah Ramadhan et al. 2023).

La perte d'expression de la CSE est majoritairement associée au stress oxydatif, à une réponse aberrante au stress cellulaire, à des déficits vasculaires et à l'hyperhomocystéinémie (Werge et al. 2021).

3- Pathologies associées à une déficience en vitamine B6

Une diminution des apports en vitamines B6 et un faible taux de PLP plasmatique est associé au risque cardiovasculaire, à la thrombose veineuse, à l'inflammation systémique et à certains cancers (colorectal, poumon, sein et rein) (**Figure 53**). Des faibles taux de PLP plasmatique ont aussi été associé à l'arthrite rhumatoïde, aux maladies chroniques de l'intestin (MICI), au diabète, à la neurodégénérescence et au vieillissement cérébral accéléré (Stach et al. 2021).

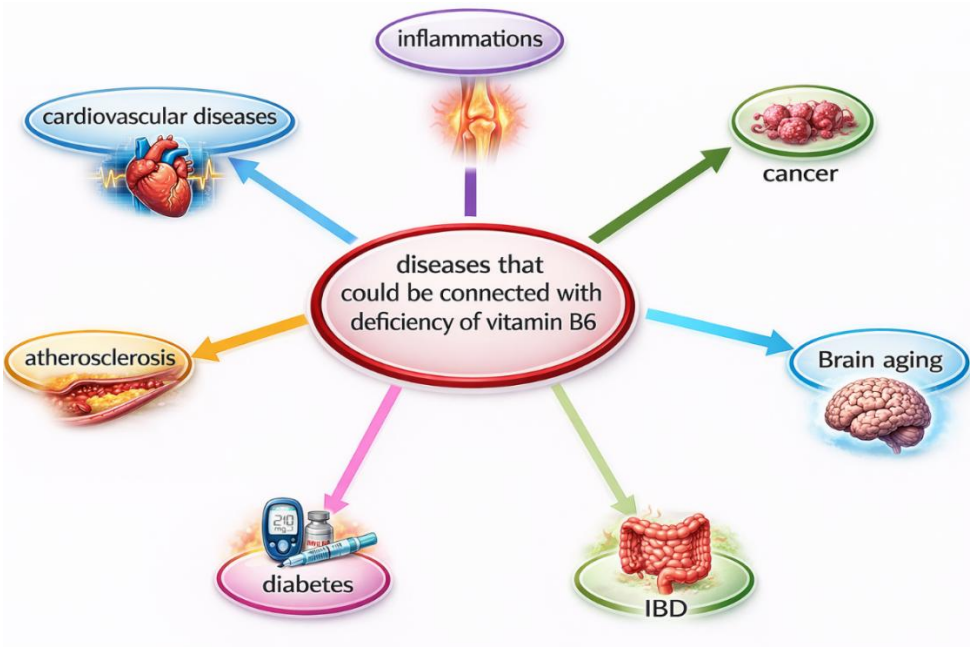


Figure 53 : Pathologies qui peuvent être en lien avec une déficience en vitamine B6 (modifié d'après Stach et al., 2021). *Schéma illustrant différentes pathologies susceptibles d'être associées à une carence en vitamine B6, notamment les maladies cardiovasculaires, les processus inflammatoires, certains cancers, le vieillissement cérébral, les maladies inflammatoires de l'intestin, le diabète et l'athérosclérose. La vitamine B6 joue un rôle important dans le métabolisme, l'immunité et le fonctionnement du système nerveux.*

Les études publiées démontrent que l'inflammation, l'immunoactivation et les pathologies associées s'accompagnent d'une réduction du PLP plasmatique jusqu'à 50%, d'une réduction du PLP rénal avec des changements mineurs dans le PLP érythrocytaire tandis que la vitamine B6 musculaire n'est pas affectée. L'inflammation est directement liée à une altération tissus-spécifiques de la distribution du PLP. L'apport ou la supplémentation en vitamine B6 améliore certains paramètres dans les modèles *in vivo* et chez l'homme (Stach et al. 2021; Franco et al. 2022).

V- Conséquences moléculaires, cellulaires et tissulaires d'une perturbation du métabolisme du MMC

A- Modèles d'études du MMC in vivo et in vitro

1- Les modèles *in-vivo* du MMC

Les modèles génétiques

Il existe de nombreux modèles KO ou transgéniques ciblant les protéines impliquées dans le transport, l'absorption ou le métabolisme intracellulaire de la Cbl, des folates et de la vitamines B6 au sein du MMC. Les modèles concernant la Cbl et les folates sont décrits dans le **Tableau VII** (L et al. 2016).

Le laboratoire NGERE dispose du modèle KO CD320 et a développé le modèle de souris KO conditionnel *Mtr*. Le modèle de souris KO conditionnel *Mtr* présente une délétion tissu dépendante permettant la délétion spécifique du gène Mtr dans le foie, le coeur et le cerveau, en utilisant respectivement les promoteurs Albumine (Alb), Myosin Heavy Chain 6 (Myh6) et Thy-1 T-Cell Antigen (Thy1). Le système Cre-Lox permet une délétion des exons 4 et 5 dans le gène codant pour la méthionine synthase qui permet de reméthyler l'HCY en méthionine. Le modèle KO *Mtr* cerveau présentent une diminution des taux de méthionine, une augmentation de l'HCY, des anomalies de la neurogenèse, une déficience du métabolisme énergétique et mitochondrial et une rétinopathie (Matmat et al. 2023) (**Figure 54**).

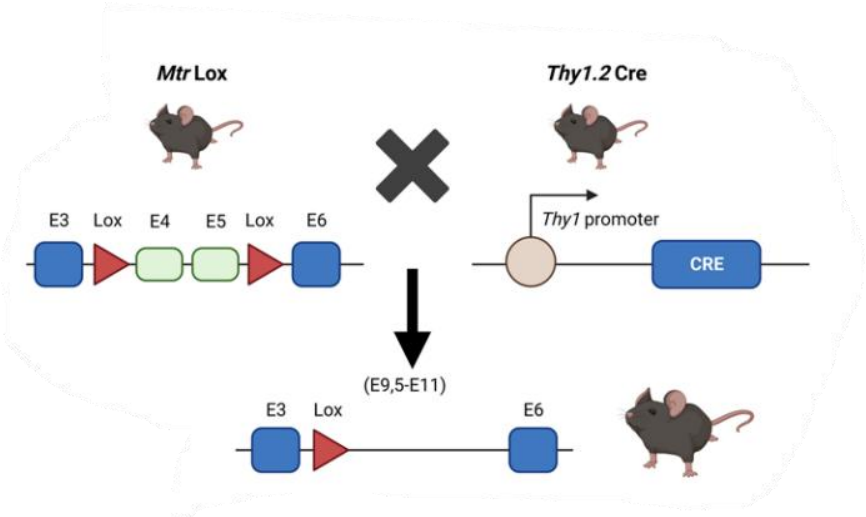


Figure 54 : Modèle Mtr-cKO (Matmat et al. 2023). *Les souris exprimant le Cre recombinase sous le contrôle du promoteur Thy1 sont croisées avec des souris portant les exons 4 et 5 floxés du gène Mtr (indiqués par des triangles rouges). Les descendants de ce croisement présentent une délétion conditionnelle du gène Mtr codant pour la méthionine synthase.*

Le modèle CD320 repose sur l'invalidation spécifiquement au niveau du cerveau du gène codant pour le récepteur CD320 qui permet l'internalisation cellulaire du complexe transcobalamine/B12. Ces souris présentent une diminution de l'activité des enzymes B12-dépendante (Méthionine synthase et Methylmalonyl-CoA mutase) et une augmentation des niveaux d'homocystéine, d'acide méthylmalonique et de méthionine. Ceci est associé à une démyélinisation, de l'inflammation et une perturbation des fonctions d'apprentissage et de mémorisation (Dreumont et al. 2021; K et al. 2019).

Tableau VII : Modèles génétiques mises en œuvre chez la souris pour modéliser les pathologies humaines liées à la carence en B12 et en folate (Arnold et al., 2016).

Function	Targeted gene	Tissue of expression in wild type	Type of invalidation	Mouse phenotype	References	Related human pathology
Intestinal absorption	Gif	Stomach	Full KO	Growth retardation, decreased bone mass	Roman-Garcia et al., 2014	Osteoporosis
	Cubn	Intestine, kidney, embryonic neuroepithelium	Full KO	Embryonic lethal	Smith et al., 2006	None
			Cre/lox in epiblast	Head morphogenesis impaired	Cases et al., 2013	None
			Cre/lox in kidney	Proteinuria	Weyer et al., 2011	Imerslund-Grasbeck syndrome (megaloblastic anemia, proteinuria and neurologic signs)
	Amn	Intestine, kidney	Transgene-induced insertional mutation	Embryonic lethal at E10.5 – E11.5	Tomihara-Newberger et al., 1998	None
	Pcft	Intestine, liver, heart, kidney, lung, bone, CNS, brain capillary endothelial cells	Full KO	Anemia, hemorrhages	Salojin et al., 2011	Megaloblastic anemia
Cellular transport	TCblR/CD320	Ubiquitous	Gene trap	Decreased cerebral B_{12}, SAM/SAH, global DNA methylation. Increased cerebral Hcy and MMA	Lai et al., 2013, Fernandez-Roig 2012	None to date
	FolR1	Numerous tissues and embryo	Full KO +/− folate supplementation	NTD, craniofacial defects, congenital heart defects, death at E10.5, folate renal excretion, colon cancer	Piedrahita et al., 1999, Spiegelstein et al., 2004, Tang et al., 2003, Iskandar et al., 2010	Neural tube closure defects, colon cancer, cardiovascular defects
	FolR2	Numerous tissues	Full KO (double KO FolR1 and FolR2), +/− folate supplementation	Normal embryonic development. Colon cancer	Piedrahita et al., 1999, Ma et al., 2005, Chapkin et al., 2009	Colon cancer
	FolR4	Numerous tissues	Full KO	Microarray analysis only	Salbaum et al., 2013	None
	Rfc1	Ubiquitous	Full KO +/− supplementation	Embryonic lethal before E9.5, impaired hematopoiesis, renal and seminiferous function	Zhao et al., 2001, Gelineau-van Waes et al., 2008	Hematological disease, renal failure, male infertility
	Pcft	Intestine, liver, heart, kidney, lung, bone, CNS, brain capillary endothelial cells	Full KO	Blood Brain Barrier neuroprotective function impaired	Wang et al., 2013	Neurological disorders, hypersensitivity to toxics
Cellular metabolism	Mthfr	Ubiquitous	Full KO	Perinatal lethal, reduced cerebellar size, lipid deposition in aorta, short-term memory deficits	Chen et al., 2001, Jarubowski et al., 2015, Jadavji et al., 2015	Neurological disorders, cardiovascular disease
	Mut	Kidney, liver, heart, ovary, CNS, muscle, spleen	Full KO	Early perinatal lethal	Peters et al., 2003	Methylmalonic aciduria
	Mmachc	Ubiquitous	Gene trap	Embryonic lethal at E3.5-E5.5	Moreno-Garcia et al., 2014	None
	Mtrr	Ubiquitous	Gene trap knock-down	Developmental delay, cardiac defects, NTD at E10.5	Elmore et al., 2007, Deng et al., 2008, Padmanabhan et al., 2013	Developmental disorders inherited transgenerationally
	Bhmt	Liver	Full KO	Hepatic steatosis, hepatocellular carcinoma at 1 year	Teng et al., 2011	Hepatic steatosis (NAFLD) and cancer

Il existe aussi des modèles de KO pour la CBS et la CSE afin d'étudier l'HCU, la cystathioninurie et/ou les déficits en H2S. Le KO de la CBS présente une léthalité néonatale en lien avec une hyperhomocystéinémie sévère et une déficience hépatique majeure, par la suite différents modèles transgénique/conditionnel ont été développés (M et al. 1995; Wd 2017). A l'inverse, les souris KO *cth* sont viables mais présentent des diminutions en H2S, une hyperhomocystéinémie, une hyperméthioninémie et une hypertension sévère avec l'âge. Un régime déficient en cystéine ou enrichi en méthionine est léthal pour ces souris qui présentent une déficience hépatique (Yamada et al. 2012; G. Yang et al. 2008).

Les modèles nutritionnels

Il existe de nombreuses études utilisant chez la souris ou le rat des régimes déficient en vitamine B12, en folates, en vitamine B6, choline, ou bien des régimes enrichis en méthionine, ou encore des régimes utilisant des combinaisons diverses de ces micronutriments. Il a été ainsi montré que les régimes pauvres en vitamine B12, vitamine B6 ou folate et riches en méthionine s'accompagnent d'une augmentation des niveaux d'homocystéine plasmatiques et tissulaires. De plus, la souche de souris et l'âge des souris peut affecter le niveau d'homocystéine et les conséquences physiopathologiques (Brütting et al. 2021).

Le laboratoire NGERE a mis en place un modèle de carence nutritionnelle en vitamine B12 et B9 chez le rat : le modèle MDD (Méthyl Donnor Deficiency) (**Figure 55**). Ce modèle a été mis en place chez le rat adulte et au cours de la gestation. Le modèle de rats nés de mères carencées en donneurs de méthyle (B9 et B12) pendant la gestation et la période d'allaitement est associé à un retard de croissance intra-utérin et des anomalies neurodéveloppementales (spina bifida) qui perdure après la naissance. A l'âge de 21 jours (sevrage), il a été observé une accumulation d'homocystéine dans les neurones et les astrocytes de l'hippocampe, la zone subventriculaire et l'hypothalamus. Ces structures cérébrales sont altérées et présentent une atrophie définitive. Le rétablissement d'une alimentation normale au sevrage régularise les altérations du métabolisme de l'homocystéine mais demeure associée à un retard de croissance et à des déficits cognitifs persistants (Kerek et al. 2013; Geoffroy et al. 2017, 2019).

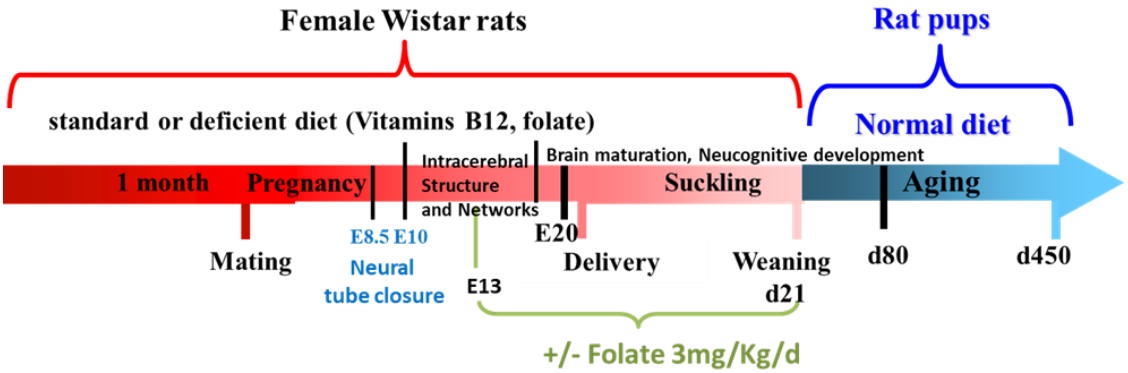


Figure 55 : le modèle MDD de carence gestationnelle (Kerek et al., 2013 ; Goeffroy et al., 2017 et 2019). *Les rattes dfemelles sont soumises à une carence en vitamine B9 et B12 1 mois avant l'accouplement, pendant la gestation et jusqu'au sevrage des ratons à 21 jours post-natal. A partir du sevrage les ratons sont alimentés avec un régime normal.*

Le modèle MDD adulte consiste en une carence en vitamine B9 et B12 à partir de l'âge de 2 mois sur une période de 6 mois. Cette longue période de carence pendant la vie adulte affecte de manière beaucoup moins importante les performances cognitives des rats. Ces résultats suggèrent qu'un cerveau mature semble plus résistant à la carence MDD qu'un cerveau immature. Néanmoins, certains déficits sont présents très probablement dus à une modification de la plasticité fonctionnelle (Hassan et al. 2019).

2- Les modèles *in-vitro* du MMC

Différents types de modèles in-vitro peuvent être utilisés pour approfondir les approches mécanistiques en lien avec des altérations du MMC, tels que des cultures primaires issues de modèles animaux, des lignées cellulaires carencées ou déficientes en vitamines B9/B12/B6 ou des fibroblastes de patients atteint de maladies rares du MMC. Ne seront détaillés ci-dessous que ceux utilisés au laboratoire NGERE.

Le laboratoire NGERE a développé un modèle de neuroprogéniteurs hippocampiques *in vitro* (H19-7) cultivés et/ou différentiés dans un milieu de culture carencés en B9. Dans ces cellules, il a été observé des perturbations des processus de méthylation cellulaire associées à une dérégulation du programme neurogénique, à des anomalies de différenciation neuronale et à une augmentation de l'apoptose (Akchiche et al. 2012).

La carence intracellulaire en vitamine B12 est extrêmement compliquée à obtenir in vitro. C'est pourquoi le laboratoire NGERE a mis en place le modèle OT-TO à partir de cellules de neuroblastome humain (Pons et al. 2009).

Le modèle est basé sur la transfection stable d'une protéine chimère composé du récepteur TC à la vitamine B12 et de l'oléosine une protéine végétale qui se lie au réticulum endoplasmique (RE). La construction OT correspond au contrôle, elle présente la TC fusionnée du coté C-terminal de l'oléosine et ne peut pas fixer la vitamine B12 **(Figure 56**). La construction TO présente la TC fusionnée du côté N-terminal de l'oléosine, la protéine chimère est fonctionnelle, elle se lie au RE et à la vitamine V12 qui sera séquestrée créant ainsi une déficience intracellulaire. Il a été montré dans ce modèle une diminution de la prolifération, une différentiation anticipée et une augmentation de l'apoptose. Ces mécanismes ont été reliés à une altération du transport nucléocytoplasmique des ARNm par défaut de méthylation de la protéine de liaison aux ARN HuR associé à un stress du RE, à l'augmentation de l'expression d'ATF4 et à une diminution de l'expression de SIRT1 (S. Battaglia-Hsu et al. 2009; R. Ghemrawi et al. 2013; S.-F. Battaglia-Hsu et al. 2018).

Les lignées de fibroblastes issues de biopsies de patients atteints d'erreurs innées du MMC sont des outils précieux pour décortiquer les mécanismes intracellulaires liés aux différentes mutations présentes dans le MMC. Le laboratoire dispose ainsi de lignée CblC (mutation de MMACHC) et CblG (mutation de la méthionine synthase). Dans ces lignées les erreurs innées du métabolisme de la vitamine B12 associent le stress du RE, une délocalisation des protéines de liaison à l'ARN, une perturbation du trafic d'ARNm et une atteinte de l'expression et de l'activité de SIRT1 confirmant les résultats obtenus dans le modèle OT-TO (Rose Ghemrawi et al. 2019).

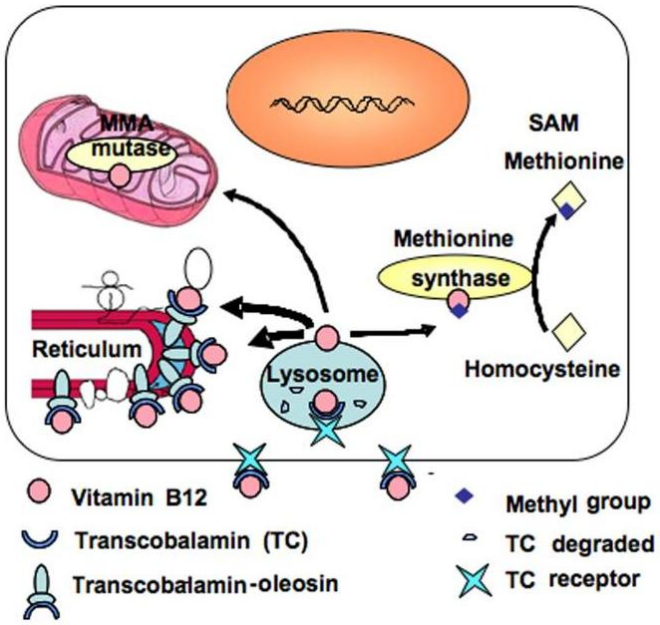


Figure 56 : Le modèle OT-TO de carence intracellulaire en vitamine B12 (Pons et al., 2009). *Le modèle OT-TO est un modèle expérimental de séquestration intracellulaire de la vitamine B12 par la protéine chimérique transcobalamine-oléosine.*

B- Mécanismes physiopathologiques liés à la perturbation du MMC

1- Description générale des interactions physiopathologiques en lien avec une altération du MMC

La déficience chronique en micronutriment impliqués dans le MMC (folates, vitamine B6, méthionine, vitamine B12…) ou les déficiences liées aux erreurs innées du métabolisme vont directement impacter l'activité du MMC, entraînant une diminution de la synthèse de l'ADN, une instabilité génomique accrue et un potentiel de méthylation réduit (Mellor et al. 2025; Lyon et al. 2020) (**Figure 57**).

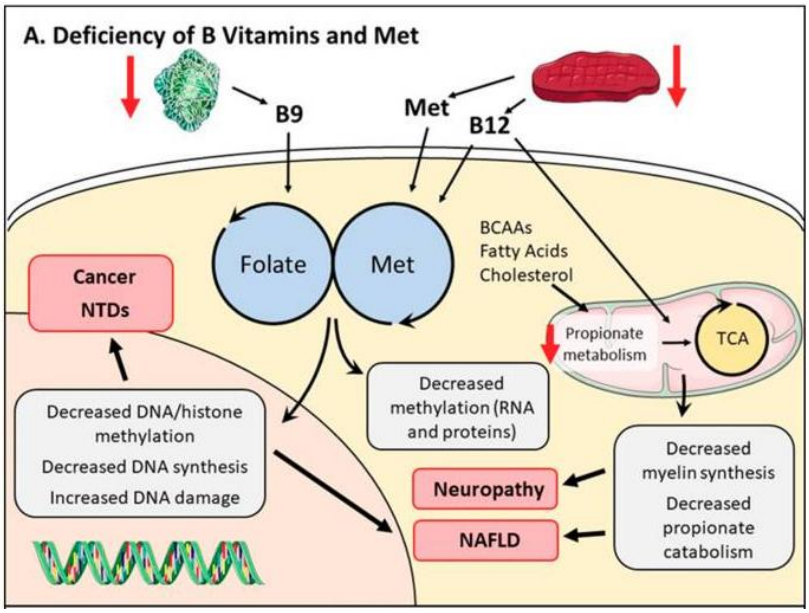


Figure 57 : Effets systémiques d'une carence en vitamine B ou méthionine (Lyon et al., 2020). *Une carence en folates, méthionine ou vitamine B12 altère le métabolisme du carbone monocarboné, entraînant une diminution de la synthèse de l'ADN, une instabilité génomique et une baisse du potentiel de méthylation. Ces altérations sont associées à plusieurs pathologies, notamment les anomalies du tube neural (ATN), la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) et certains cancers, en particulier le cancer colorectal. La carence en vitamine B12 réduit également l'activité de la méthylmalonyl-CoA mutase (MUT), perturbant la voie du propionate, ce qui peut altérer la synthèse de la myéline, augmenter le stress cellulaire et perturber le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA), contribuant au développement de neuropathies. (B) Les effets d'un excès de folates, méthionine ou vitamine B12 sont moins bien caractérisés, mais pourraient favoriser la prolifération cellulaire et augmenter les niveaux de S-adénosylméthionine (SAM), maintenant ainsi l'état de méthylation cellulaire et pouvant soutenir le développement tumoral. Un excès de folates pourrait également perturber l'hématopoïèse normale.*

Cela peut favoriser le développement de cancer (en particulier le cancer colorectal), d'anomalies du tube neural (NTD) mais aussi de neuropathies (démyélinisation), et un vieillissement cérébral accéléré présentant un facteur de risque d'apparition de maladies neurodégénératives. D'un point de vue métabolique ces déficiences sont également associées à des perturbations de la fonction mitochondriale, du métabolisme des acides gras, du cholestérol, du propionate et du cycle de Krebs, favorisant l'apparition de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) (Lyon et al. 2020).

Au niveau moléculaire, une altération du MMC entraîne une accumulation d'homocystéine et une diminution de la synthèse de méthionine et par extension de S-adénosylméthionine (SAM), le donneur universel de groupement méthyle dans les réactions de transméthylation et dans les modifications épigénétiques (Green et al. 2017; Lyon et al. 2020; Guéant et al. 2022; Castillo et al. 2025). Parmi ces modifications il a été observé une diminution de la méthylation des protéines nucléocytoplasmique de liaison à l'ARN (HuR) aboutissant à une diminution de l'expression de SIRT1 (Guéant et al. 2022). Les cellules sont plus vulnérables au stress oxydant en raison de la diminution de la synthèse du glutathion dans la voie de la transsulfuration, de l'accumulation d'homocystéine et de la génération d'homocystamide sous la forme de protéines N-Homocystéinylées (Guéant et al. 2022; Araszkiewicz et al. 2025). Le stress oxydant et la diminution d'expression de SIRT1 participe à la génération d'un stress du RE. De plus, la diminution de SAM et de l'activité de SIRT1 induise une hypométhylation et une hyperacétylation de PGC1α induisant une perturbation de l'homéostasie mitochondriale (Lyon et al. 2020; Castillo et al. 2025; Matmat et al. 2023) ainsi qu'une diminution de l'activité de PPARα, Erα et d'autres récepteurs nucléaires. Ces mécanismes perturbent le métabolisme énergétique, la prolifération, la différentiation, et la survie cellulaire, chez le neurone ils affectent également la neuroplasticité (Kosgei et al. 2020; Guéant et al. 2022) (**Figure 58**).

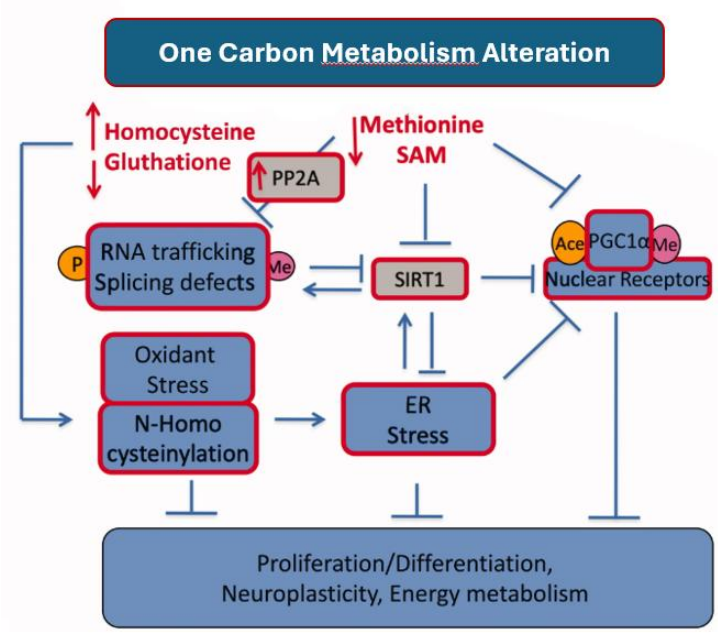


Figure 58 : Mécanismes pathogéniques des causes nutritionnelles et héréditaires de l'altération de l'activité de la méthionine synthase (MS) (Guéant et al., 2022). *La diminution de l'activité de la méthionine synthase (MS) réduit la synthèse de S-adénosylméthionine (SAM) et augmente l'activité de la protéine phosphatase 2A (PP2A), entraînant des perturbations de la méthylation de l'ADN et des protéines. Ces altérations affectent notamment la protéine de liaison à l'ARN ELAVL1/HuR, conduisant à une diminution de l'expression de SIRT1 et à une sensibilité accrue au stress oxydatif et au stress du réticulum endoplasmique. La baisse de SAM et de SIRT1 provoque également une hypométhylation et une hyperacétylation de PGC-1α, entraînant l'inactivation de plusieurs récepteurs nucléaires (PPAR-α, ER-α, ERR-α, HNF-4α, VDR) et une altération du métabolisme énergétique et de la neuroplasticité.*

2- L’hyperhomocystéinémie

L’homocystéine (HCY)

L’HCY est un acide aminé neurotoxique, non impliqué dans la synthèse protéique. Il est au cœur du MMC où il sera soit recyclé par reméthylation via la MS pour former la méthionine soit pris en charge dans la voie de la transsulfuration qui permet de former de la cystéine et du glutathion (GSH) à fort pouvoir antioxydant. Dans le foie et les reins, l’HCY peut aussi être pris en charge dans la voie de la bétaïne/choline pour être reméthyler en méthionine (Friso et al. 2017). Même si tous les facteurs altérant le MMC peuvent conduire à l’accumulation d’HCY, les déterminants importants du taux d’HCY repose sur les taux de vitamines B6, B9 et B12, le sexe, l’insuffisance rénale, l’insuffisance hépatique ainsi que les variants génétiques impliquées dans le MMC. Trois stades d’hyperhomocystéinémie (HHCY) sont identifiés, on parle d’HHCY modérée entre 15 et 50 µmol/L, d’HHCY intermédiaire entre 50 et 100µmol/L et d’HHCY sévère au-dessus de 100 µmol/L (Finkelstein et Martin 2000).

L’HHCY a déjà été reconnu comme un facteur de risques dans certaines maladies neurodégénératives comme la maladie d’Alzheimer et la maladie de Parkinson (Herrmann et Obeid 2011; M. Sharma et al. 2015a), mais aussi dans des maladies cardiovasculaires et des troubles neurodéveloppementaux (Franken et al. 1996). La neurotoxicité s’explique notamment par le stress oxydant, le stress du RE, les dommages à l’ADN, l’homocystéinylation des protéines et l’excitotoxicité (Chen et al. 2017; Deep et al. 2024; Araszkiewicz et al. 2025) (**Figure 59**).

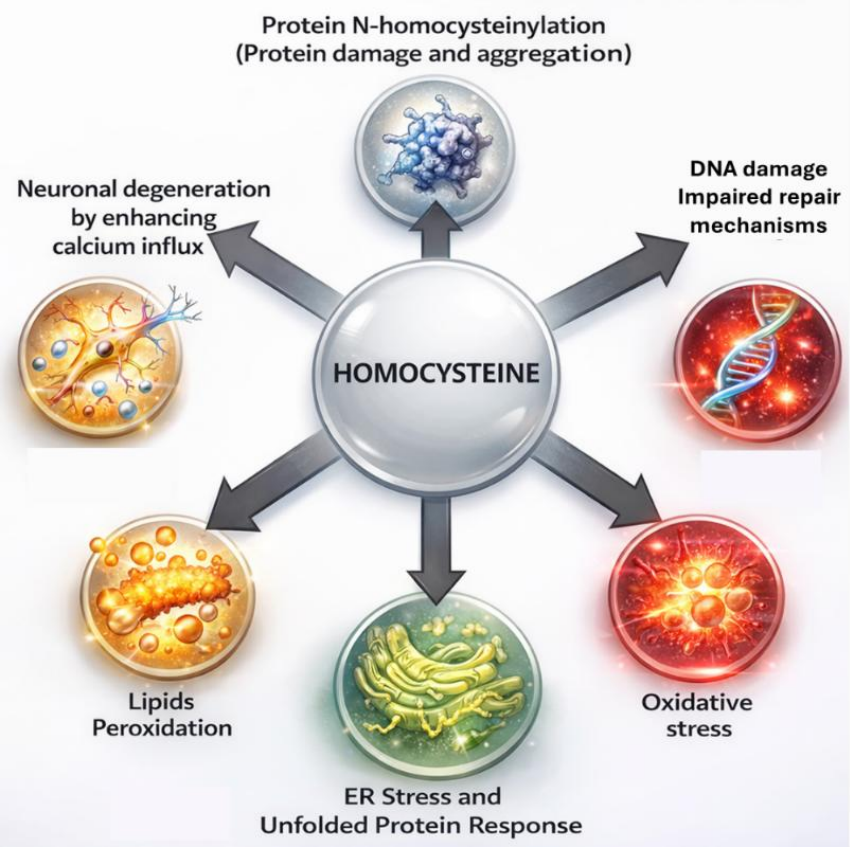


***Figure 59** : **Mécanismes de toxicité cellulaire de l'hyperhomocystéinémie (M. Sharma et al. 2015a; Araszkiewicz et al. 2025).** L'hyperhomocystéinémie est connue pour provoquer la N-homocystéinylation des protéines engendrant leur agrégation et perte de fonction, du stress oxydant, du stress du réticulum endoplasmique, une peroxydation des protéines, des dommages à l'ADN ainsi qu'une neurodégénérescence.*

Conséquences de l'hyperhomocystéinémie (HHCY)

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) et le système antioxydant cellulaire. Les ROS et RNS sont nocives par leur possibilité d'altérer structurellement et fonctionnellement un certain nombre de macromolécules. Les espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, en ce qui concerne les espèces réactives de l'azote, le peroxynitrite est le plus cité (Sies 2020). L'ion superoxyde est principalement généré par la fuite d'électrons au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, mais il peut aussi provenir des NADPH oxydase ou encore du cytochrome P450. Le peroxyde d'hydrogène quant à lui provient d'une dismutation enzymatique de l'ion superoxyde par la superoxyde dismutase. Enfin, le radical hydroxyle qui est le plus réactif et toxique est généré lors de la peroxydation des lipides (Jomova et Valko 2011). D'un point de vue physiologique les ROS sont utiles afin de préserver l'équilibre redox et ils participent à des processus de signalisation cellulaire (prolifération, différenciation ou encore à la réponse immunitaire) (B. Murphy et al. 2019; Jomova et al. 2023) (**Figure 60**).

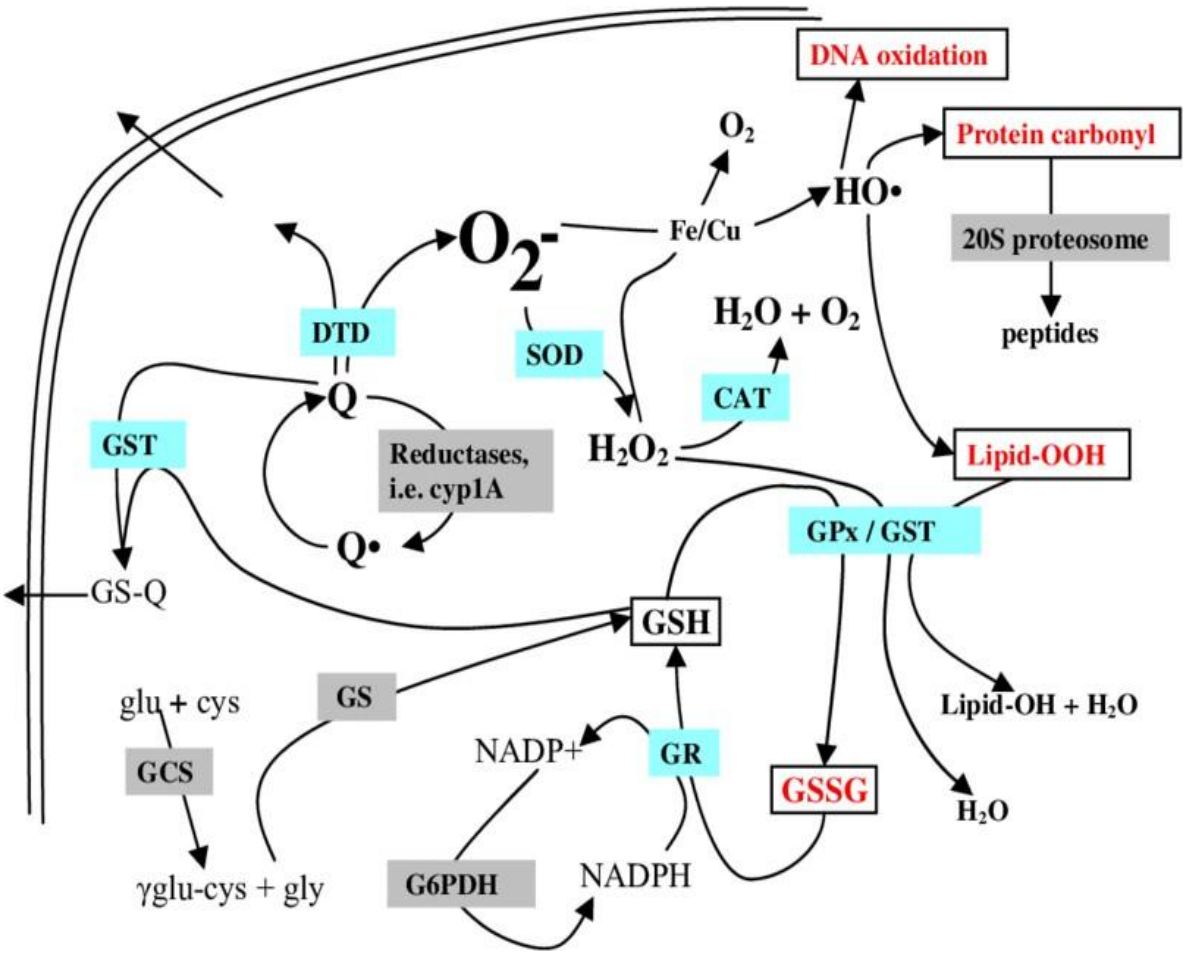


Figure 60 : Stress oxydant et systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Halliwell et al. 2015). *Principales voies de génération et de neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) au sein de la cellule. Le radical superoxyde ($O_2•^-$) est produit lors du métabolisme oxydatif et est converti en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la superoxyde dismutase (SOD). Le H_2O_2 est ensuite éliminé par la catalase (CAT) ou la glutathion peroxydase (GPx), cette dernière utilisant le glutathion réduit (GSH) comme substrat. Le GSH oxydé en GSSG est régénéré par la glutathion réductase (GR) grâce au pouvoir réducteur du NADPH, produit notamment par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH). La glutathion S-transférase (GST) intervient dans la conjugaison de GSH à des composés électrophiles pour leur détoxification. Le cycle du coenzyme Q (ubiquinone/ubiquinol, Q/Q•) contribue également au transfert d'électrons et à la régénération du GSH via des réductases (ex. CYP1A). Les ROS excédentaires peuvent oxyder l'ADN, les lipides (formation de Lipid-OOH), les protéines (carbonylation) entraînant des dommages cellulaires et leur dégradation par le protéasome 20S. En bas du schéma, la synthèse du glutathion est représentée : la γ-glutamylcystéine synthétase (GCS) et la glutathion synthétase (GS) catalysent successivement la formation du GSH à partir de la cystéine, de glutamate et de la glycine.*

Il existe deux types de systèmes de défense biologique : une défense enzymatique et une défense non enzymatique. La première regroupe les superoxydes dismutases, les catalases et les glutathion peroxydases. Les dismutases convertissent l'ion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, les catalases quant à elle sont présentes dans les peroxysomes et transforment le peroxyde d'hydrogène en oxygène et les glutathion peroxydases réduisent également le peroxyde d'hydrogène et les hyperoxydes lipidiques en présence de glutathion. La voie de la transsulfuration du MMC qui produit le glutathion joue ainsi un rôle majeur dans la gestion du stress oxydant (Sbodio et al. 2019c). Les défenses non enzymatiques rassemblent l'acide ascorbique, le glutathion ou encore le coenzyme Q10 (Birben et al. 2012; Lubos et al. 2011).

En cas de déséquilibre redox, les effets délétères sont multiples (M. P. Murphy 2009; Jomova et al. 2023). Au niveau lipidique, le phénomène le plus observé est la peroxydation lipidique, c'est une réaction en chaîne initiée par un radical hydroxyle. Les conséquences directes sont une diminution de la fluidité membranaire, une altération des récepteurs et des transporteurs membranaires et une dérégulation de la signalisation cellulaire (Ayala et al. 2014). En ce qui concerne les protéines, l'impact majeur du stress oxydant est l'oxydation des acides aminés, la carbonylation et la nitration entraînent une perte de fonction enzymatique et l'agrégation des protéine (Dalle-Donne et al. 2006). Enfin, au niveau des acides nucléiques, le stress oxydant provoque l'oxydation des bases puriques et pyrimidiques aboutissant à des mutations ponctuelles et à des dommages de l'ADN. Pris dans sa globalité, le stress oxydant chronique provoque une inflammation persistante, l'apoptose voire la nécrose et est impliqué dans un grand nombre de pathologies cardiovasculaires, neurodégénératives ou encore dans certains cancers (Valavanidis et al. 2009; Jomova et al. 2023).

L'induction du stress oxydant par l'homocystéine se fait par différents mécanismes, la peroxydation des lipides, la formations d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une réponse UPR (J. Perła-Kaján et al. 2007a; McDowell et Lang 2000; C. Zhang et al. 2001) (**Figure 61**). L'UPR est une réponse au stress cellulaire provoqué par l'accumulation de protéines mal repliées au sein du réticulum endoplasmique (RE). Le système ERAD (ER-associated degradation) est le principal mécanisme de contrôle qualité et de la réponse UPR pour la dégradation cytosolique des protéines via le système UPS (système d'ubiquitine–protéasome) ou l'autophagie. Il a été montré récemment que le dysfonctionnement du système ERAD s'accompagne de dérégulations du MMC au niveau cérébral chez la souris (Mauricio Torres et al. 2025).

De plus, La diminution de la disponibilité en vitamine B12 induit un stress du RE lié à une diminution de l'activité d'expression de SIRT1 qui engendre une altération de la désacétylation de HSF1 et diminue l'expression des protéines de choc thermique (HSP70 et HSP27) dans les cellules TO et les fibroblastes des patients atteints d'erreurs innées du MMC (R. Ghemrawi et al. 2013; Guéant et al. 2022).

Cependant l'HCY étant pro-oxydante, elle peut aussi induire directement un stress cellulaire par son groupe sulfhydrile (-SH) très réactif qui peut malheureusement subir une oxydation à pH physiologique en présence d'oxygène. Le résultat est la production de peroxyde d'hydrogène et d'autres ROS (Jacobsen 2000). Ainsi, il a été montré dans des cellules endothéliales, qu'une HHCY modérée, stimule la peroxydation lipidique et induit la mort cellulaire (Ferretti et al. 2004). Une autre étude a mis en évidence l'inhibition de l'expression de certaines enzymes antioxydantes par l'HCY, notamment la superoxyde-dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase (Outinen et al. 1999; A. D. Smith et Refsum 2016; Araszkiewicz et al. 2025) (**Figure 61**).

L'HCY exerce également un effet proinflammatoire sur les cellules endothéliales (CE), induisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, IL-6, IL-8 et TNF-α). Ces cytokines sont liées à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), à l'activation du facteur nucléaire kappa B (NF-κ B) et au recrutement des monocytes, qui se différencient en macrophages pro-inflammatoires. Dans les neurones l'HCY augmente également l'expression du facteur NF-kB (Nuclear Factor-kappaB), aboutissant à la synthèse de plusieurs protéines pro-apoptotiques, telle que telles que Bax (Bcl-2–associated X), p53 et caspase-3 (Ferlazzo et al. 2008; Araszkiewicz et al. 2025) (**Figure 61**).

Enfin, dans le SNC, l'HCY est impliquée dans l'augmentation des influx de calcium et de l'excitotoxicité. Dans ce contexte, Il a été démontré que l'HCY agit comme un agoniste au niveau du site de liaison au glutamate du récepteur NMDA, provoquant l'influx d'ions calcium, une augmentation de la production de ROS, une perturbation de la fonction mitochondriale et la mort neuronales (Deep et al., 2024). D'autres mécanismes sur le rôle de l'HCY dans les influx calciques ont également été identifiés le premier impliquerait une surexpression du gène Présénilin 1 (PS1) (Fuso et al. 2012) et le deuxième impliquerait une potentialisation de l'HCY sur les influx calciques médiés par le peptide Aβ, entraînant l'apoptose des neurones (Obeid et Herrmann 2006; Ho et al. 2001).

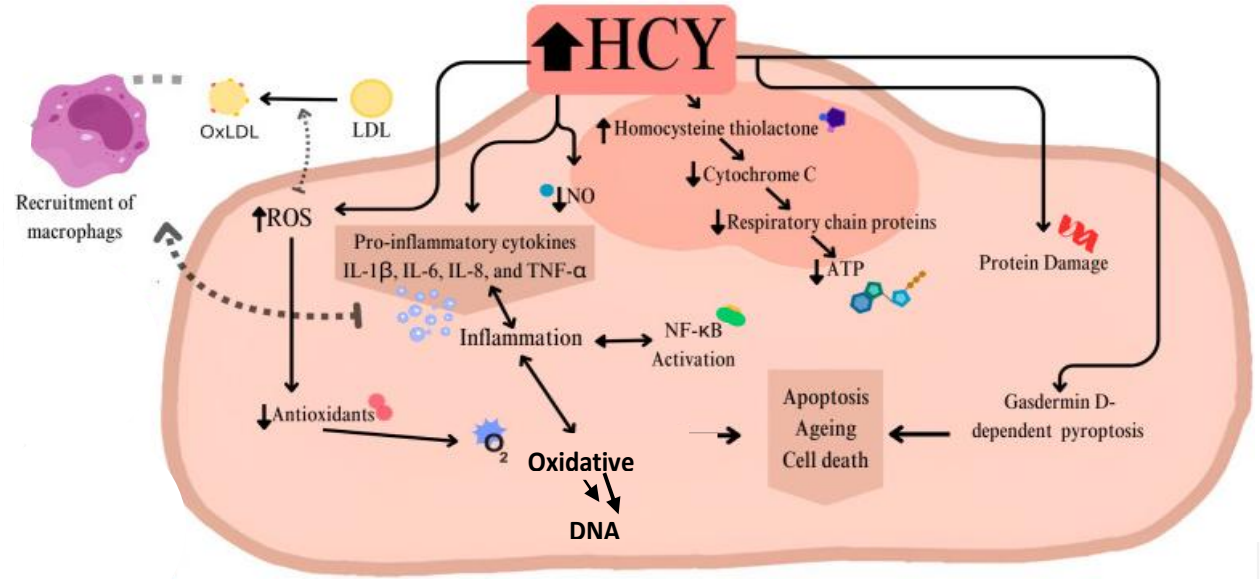


Figure 61 : Résumé des patho-mécanismes moléculaires mis en jeu par la toxicité de l'homocystéine (Araszkiewicz et al., 2025). *La figure illustre le mécanisme pathologique évoqué de la lésion épithéliale et son rôle dans la formation de la plaque athéroscléreuse en cas d'hyperhomocystéinémie.*

3- MMC, HHCY et intégrité génomique

Les perturbations du MMC et l'HHCY ont été associées à une instabilité génétique, des dommages à l'ADN et une perte d'intégrité du génome. Les mécanismes de génotoxicité sont résumés dans la **Figure 62** (Mellor et al. 2025). Le stress oxydant détaillé précédemment est un des premier facteur mis en cause, par oxydation des bases nucléotidiques. Cependant, la déficience en folate et en B12 a été associée à un déséquilibre du pool de nucléotides avec une diminution en dTMP, synthétisés à partir du 5,10-methyleneTHF, et une augmentation de dUTP. L'augmentation du ration dUMP/ dTMP va d'une part, limiter la synthèse de nucléotides nécessaire pour soutenir la réplication et la réparation de l'ADN et d'autre part générer des défauts d'incorporation génomique en uracile et de la genotoxicité. Ces mêmes modifications seront retrouvées au niveau de l'ADN mitochondrial.

Il existe des mécanismes de réparation de l'ADN pour éliminer l'uracile grâce à l'activité d'une famille de glycosylases UDGs (Uracil-DNA glycosylase) en coordination avec le système de réparation BER (base excision repair). Dans des conditions expérimentales de déficiences en folate, il a été montré une altération des systèmes de réparation de l'ADN, en particulier de la fonction UDG qui entraîne un stress réplicatif accru et des cassures chromosomiques (Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025).

De plus, l'hypométhylation de l'ADN en lien avec la diminution de production de la SAM (S-adenosyl-méthionine) va participer à l'instabilité chromosomique mais également à des perturbations dans les processus épigénétiques de régulation de l'expression des gènes. L'instabilité génomique en lien avec une perturbation du MMC a été associée aux anomalies de fermetures du tube neural au cours du développement mais également dans les mécanismes sous-jacents des pathologies neurodégénératives (Fenech 2010a; Guéant et al. 2013; Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025).

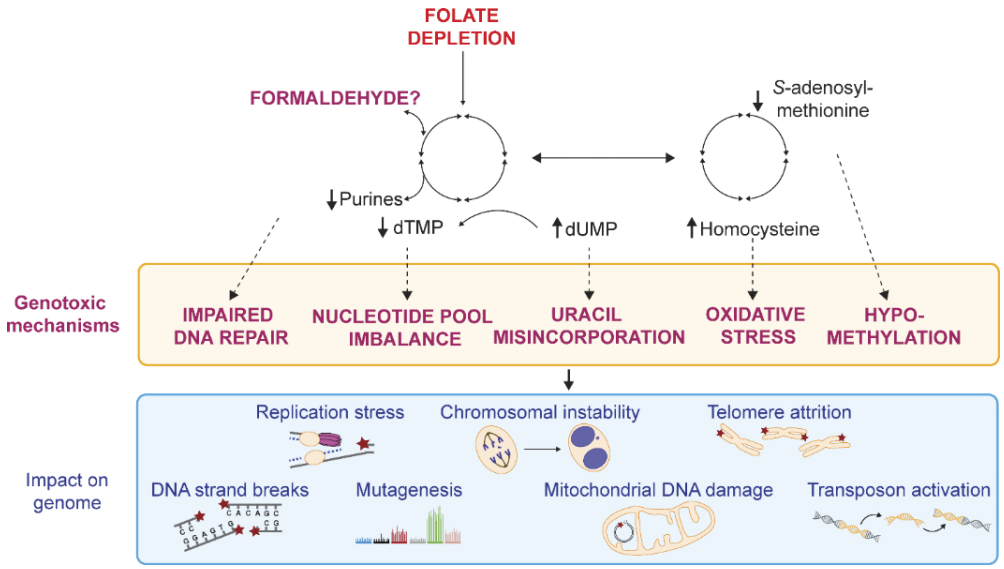


Figure 62 : Mécanismes de génotoxicité et impact sur le génome découlant d'une perturbation du MMC (Mellor et al. 2025). *La perturbation du MMC modifie l'abondance des nucléotides (purines, dTMP et dUMP) et des métabolites nécessaires pour catalyser les réactions de méthylation (SAM, homocystéine). Cela déclenche différents mécanismes de dommages à l'ADN qui impactent la biologie du génome nucléaire et mitochondrial pour induire une instabilité génomique. dUMP, deoxyuridine monophosphate ; dTMP, deoxythimidine monophosphate.*

4- MMC, HHCY et homéostasie mitochondriale

Comme décrit précédemment, une perturbation du MMC s'accompagne d'une diminution de l'expression et de l'activité de SIRT1 et de PGC1α (Guéant et al. 2022; Matmat et al. 2023). Le rôle majeur de PGC1α dans l'homéostasie mitochondriale a déjà été décrit et concerne notamment la biogenèse mitochondriale, la respiration oxydative, les défenses antioxydantes, le métabolisme des acides gras et du glucose (**Homéostasie mitochondriale et métabolisme redox**) (A. P. Kumar et Puthussery 2025). Outre le rôle majeur de PGC1 α et les dommages à l'ADN mitochondrial (ADNmt) évoqués précédemment, les erreurs innées du métabolisme, la carence alimentaire ou la malabsorption de folates et/ou de B12 affectent directement le métabolisme énergétique et la phosphorylation oxydative (Castillo et al. 2025).

Les gènes codant pour plusieurs protéines qui composent les complexes de la chaîne de transport d'électrons mitochondrial se trouve au niveau de l'ADNmt, et leur expression est cruciale pour la phosphorylation oxydative (OXPHOS). Les fibroblastes des patients avec des erreurs innées du métabolisme présentent une morphologie mitochondriale altérée, une perte de potentiel membranaire, une diminution de la consommation en oxygène, une diminution de la production d'ATP et une production augmentée de lactate (Guéant et al. 2013, 2022; Castillo et al. 2025). Les patients CblC et mut présentent une diminution de la conversion de l'acide méthylmalonique en succinyl-CoA qui alimente le cycle de Krebs (Castillo et al. 2025) (**Figure 63**). Il a également été montré dans les cellules endothéliales que la perte d'expression de la CBS (première enzyme de la voie de la transsulfuration) augmentait la production de ROS, diminuait la phosphorylation oxydative, réduisait l'expression de la mitofusine 2, entraînait un découplage des contacts entre le RE et les mitochondries, une fission accrue des mitochondries, et une augmentation de la mort cellulaire (Rao et al. 2020).

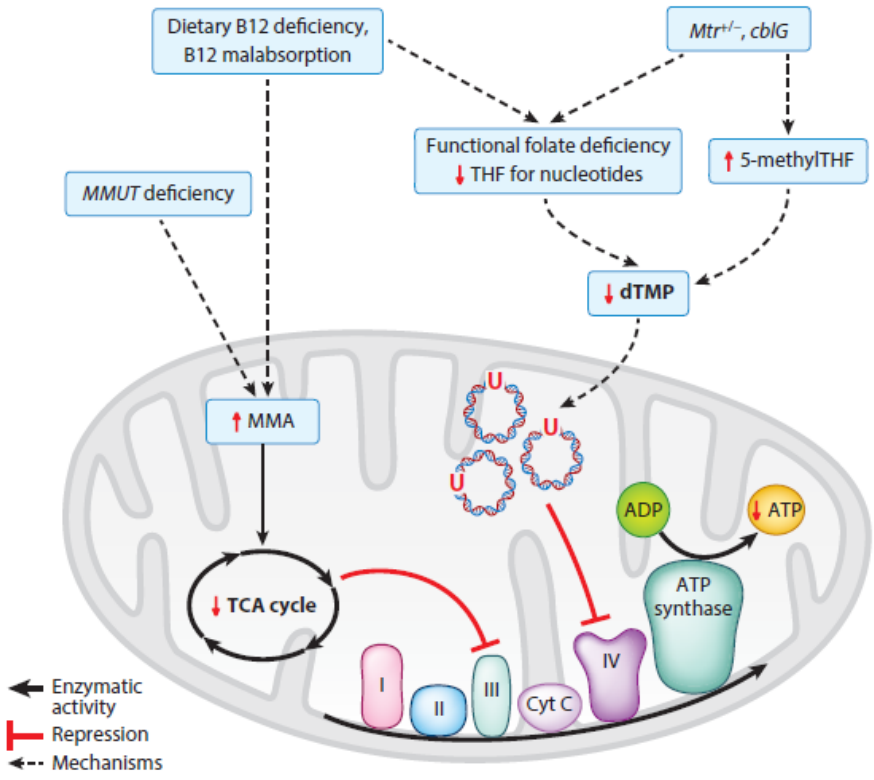


Figure 63 : MMC et altération de la fonction mitochondriale (Castillo et al., 2025). *Mécanismes par lesquels les erreurs innées du métabolisme, la carence alimentaire ou la malabsorption de folates et de B12 affectent le métabolisme énergétique et la phosphorylation oxydative. Abbreviations: ADP, adenosine diphosphate ; ATP, adenosine triphosphate ; B12, vitamin B12 ; cyt C, cytochrome C ; dTMP, deoxythymidine monophosphate or thymidylate; 5-methylTHF,5-methyltetrahydrofolate ; MMA, methylmalonic acid; MMUT, methylmalonyl-coenzyme A mutase ; MTR, methionine synthase ; TCA, tricarboxylic acid; THF, tetrahydrofolate; U, uracil base.*

De plus, des niveaux élevés d'HCY impactent directement les protéines de la chaîne respiratoire. Des études ont montré que l'HCY diminue l'activité des complexes II et III dans les cellules myocardiques du rat, diminuant l'efficacité du métabolisme de la chaîne respiratoire. Le métabolite réactif de l'HCY, la thiolactone, peut se lier par N-homocystéinylation (N-HCY) au complexe cytochrome c, qui est impliqué dans le transfert d'électrons du complexe III au complexe IV ce qui entraîne une production réduite d'ATP et une altération de la fonction mitochondriale (Araszkiewicz et al. 2025; Kaplan et al. 2020).

5- La N-Homocystéinylation des protéines

Du fait de sa toxicité l'HCY n'est jamais disponible sous sa forme libre, lorsqu'elle n'est pas impliquée dans le MMC, elle est liée aux protéines via deux mécanismes la S-homocystéinylation (S-HCY) et la N-homocystéinylation (N-HCY) (Silla et al. 2019; Hieronim Jakubowski 2019)(Silla et al. 2019, Jakubowski et al., 2019) (**Figure 64**).

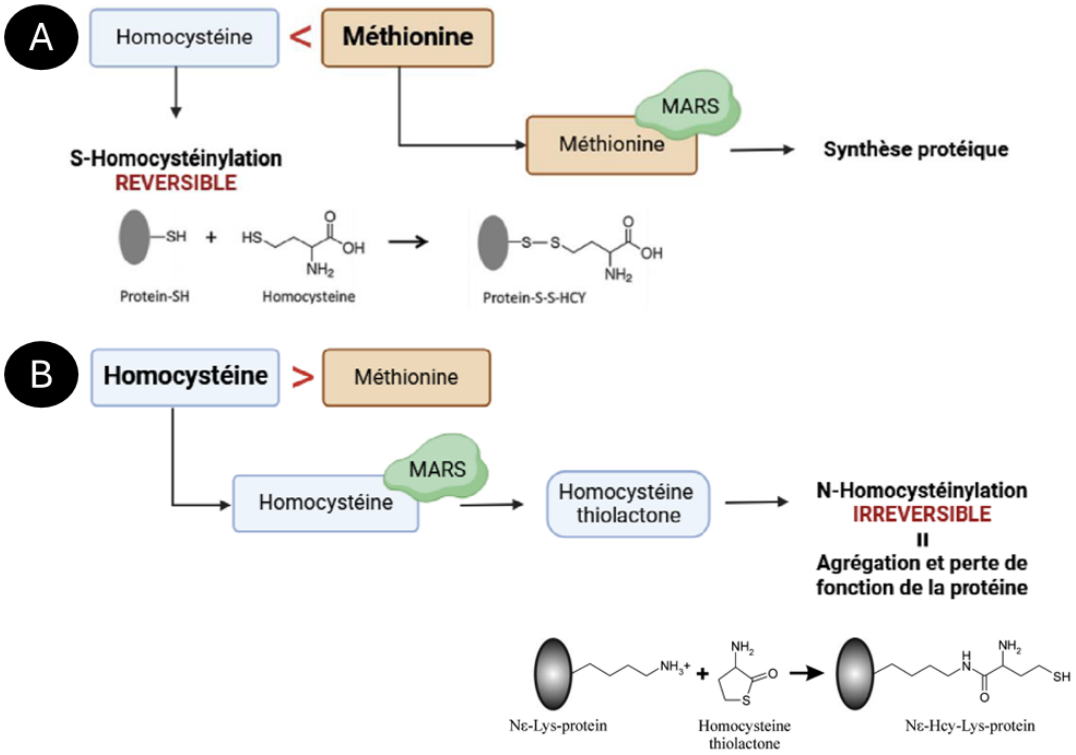


Figure 64 : L'homocystéinylation des protéines (Perła-Kaján et al. 2007 et Jakubowski 2019). *Il existe 2 types de réaction : la N-homocystéinylation et la S-homocystéinylation. (A) Lorsque la concentration d'homocystéine est faible, l'enzyme MARS se lie à la méthionine qui sera utilisée dans la synthèse protéique et l'homocystéine se lie aux protéines par le mécanisme de S-homocystéinylation. L'interaction de l'homocystéine avec les résidus cystéine des protéines induit la formation de ponts disulfure (S-S). Cette réaction est réversible. (B) Lorsque la concentration d'homocystéine est importante, l'enzyme MARS prend en charge l'homocystéine à la place de la méthionine et produit de l'homocystéine thiolactone qui va interagir avec les protéines par le mécanisme de N-homocystéinylation. La N-homocystéinylation est irréversible et entraîne l'agrégation des protéines et leur perte de fonction. Dans ce cas, l'homocystéine thiolactone, métabolite de l'homocystéine, réagit avec les résidus lysine des protéines. La protéine N-homocystéinylée est un homocystamide, une molécules pro-oxydante. MARS : méthionyl-ARNt-synthase.*

En contexte physiologique, c'est-à-dire lorsque la concentration en méthionine est supérieure à la concentration d'homocystéine, la S-HCY prédomine. L'HCY forme alors des ponts disulfures avec les résidus lysine des protéines, ce phénomène est complètement réversible et n'affecte en rien la structure ou la fonction des protéines impliquées (**Figure 64**).

La N-HCY se produit lorsque l'équilibre des concentrations en HCY et méthionine est inversé. L'HCY qui ne diffère de la méthionine que par un groupement CH3 est pris en charge par l'enzyme MARS (méthionyl-ARNt-synthétase) pour former de l'HCY thiolactone, cette réaction empêche l'intégration de l'homocystéine dans la synthèse protéique (**Figure 64**).

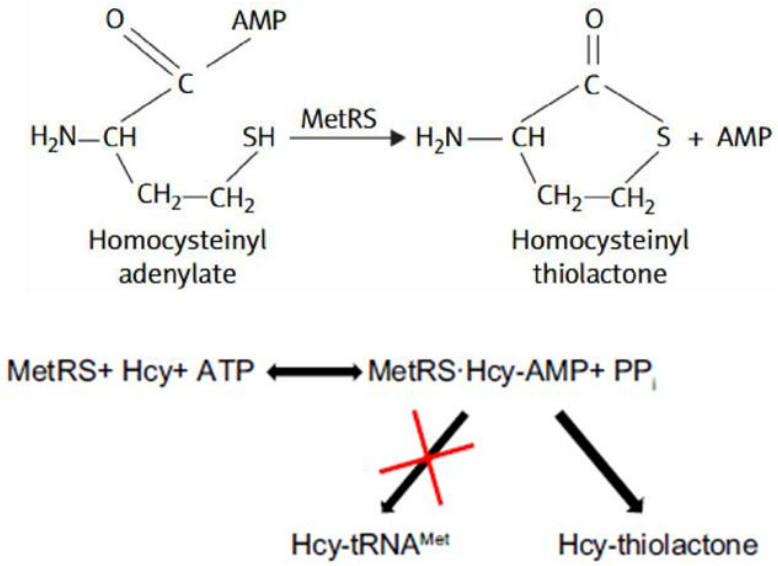


Figure 65 : Formation d'homocystéine thiolactone à partir d'homocystéine (Jakubowski, 2019). *L'homocystéine thiolactone se forme par cyclisation du groupe thiol de l'homocystéine avec son groupe carboxyle par une erreur d'édition de la méthionyl-ARNt-synthase (MetRS : aussi appelée MARS), cette réaction empêche l'intégration de l'homocystéine dans la synthèse protéique.*

L'HCY thiolactone (HTL) va ensuite réagir avec la fonction amines des résidus lysine des protéines pour former des N-homocystamides, pro-oxydants et neurotoxiques (**Figure 65**). En effet, l'incorporation de l'HTL engendre des altérations structurelles au sein des protéines les rendant plus vulnérables à l'oxydation. Ce processus est irréversible et provoque un changement conformationnel, l'agrégation et la perte de fonction des protéines impliquées (Sibrian-Vazquez et al. 2010; Silla et al. 2019; Hieronim Jakubowski 2019). De plus, la N-HCY provoque une cytotoxicité par divers mécanismes qui incluent l'activation de la réponse UPR, l'inactivation des enzymes, le stress du RE, la dénaturation des protéines et la formation de peptide amyloïdes (Guéant et al. 2022).

Les protéines N-homocystéinylées ont été liées à des maladies cardiovasculaires, certaines maladie neurodégénératives, le diabète, les maladies rénales, les anomalies du tube neural et l'infertilité masculine (Hieronim Jakubowski 2024a). Les enzymes détoxifiant l'HTL, la paraoxonase sérique (PON1) liée aux HDL dans la circulation sanguine, la bléomycine hydrolase cytoplasmique (BLMH), et éventuellement l'enzyme mitochondriale biphénol hydrolase (BPLH), protègent les protéines de la N-HCY en réduisant les taux d'HTL. (Jakubowski 2019, 2024) (**Figure 66**).

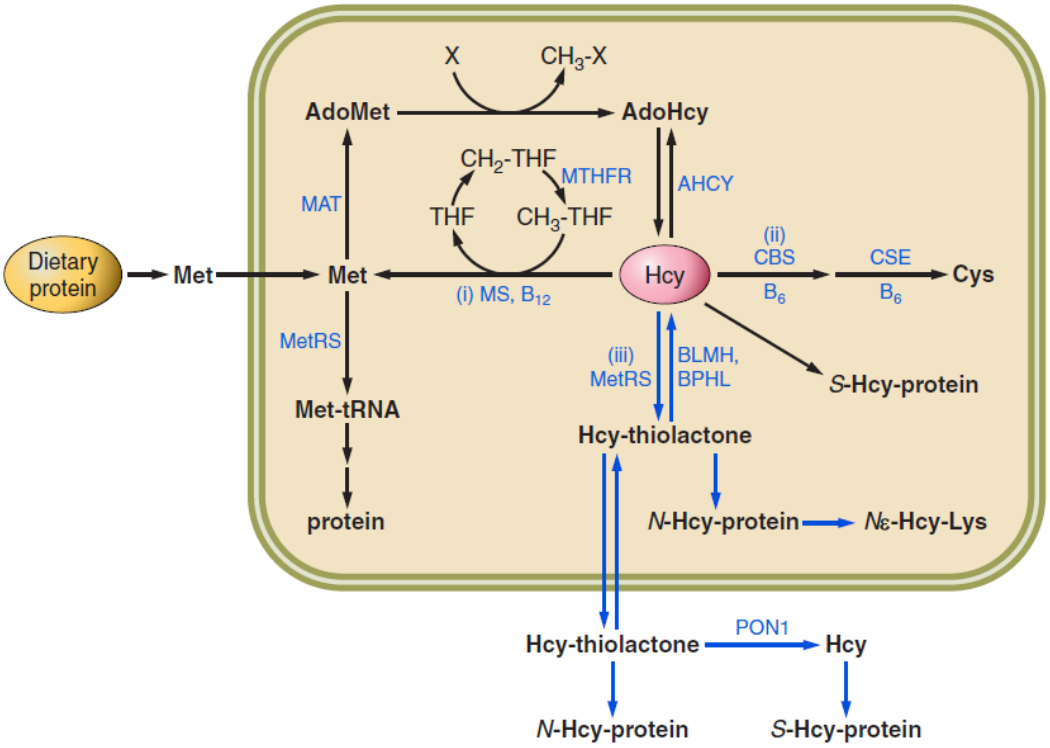


Figure 66 : Métabolisme de l'homocystéine humaine (Jakubowski, 2019 ; 2024). *Voie de reméthylation de la méthionine (i), voie de la transsulfuration (ii) et formation de l'homocystéine (*HCY*)-thiolactone (iii). Les enzymes intervenant dans le métabolisme de l'*HCY *(flèches et couleur bleue). AdoMet, adenosylmethionine; BPHL, biphenol hydrolaselike; CBS, cystathionine -synthase; MAT, Met S-adenosyltransferase; Met, methionine; MetRS, methionyl-tRNA syntHETase; MS, Met synthase; MTHFR, methylenetetrahydrofolate reductase; THF, tetrahydrofolate.*

Les protéines riches en lysine comme les apolipoprotéines, le fibrinogène, l'albumine, l'hémoglobine, le cytochrome c et la lysine oxydase sont très susceptibles à la N-HCY. Plus récemment, il a également été montré que la réactivité des résidus lysine à l'HTL pourrait dépendre du point isoélectrique des protéines. En effet, il a été constaté que les protéines acides étaient sujettes aux altérations structurelles et fonctionnelles induites par l'HTL, à l'inverse des protéines basiques ne présentaient aucune altération structurelle ou fonctionnelle détectable (G. S. Sharma et al. 2014; Hieronim Jakubowski 2024a). Il est important de souligner que la plupart des protéines du cytosquelette sont de nature acide et qu'il est ainsi possible qu'elles soient plus sensibles à la N-HCY.

A l'appui de cette hypothèse, il a été montré au laboratoire NGERE la N-HCY de l'actine, de la E-Cadherine, de la vinculine, des protéines motrices dynéines et kinésine, des protéines associées au microtubules MAP1, MAP4, MAP5 et Tau dans des conditions HHCY dans les cellules H9-7, le modèle de rat MDD et sur des tissus post-mortem du cortex et de l'hippocampe de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Akchiche et al. 2012; Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a) (**Tableau VIII**).

L'HHCY est un facteur de risque dans les pathologies neurodégénératives et la N-HCY des protéines pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de ces maladies qui pour beaucoup sont des protéinopathies (Guéant et al. 2022) (**Tableau VIII**). Plusieurs études ont montré que la formation d'agrégats induits par la N-HCY jouerait un rôle clé dans l'amyloïdogenèse, clé de voûte de la plupart des maladies neurodégénératives, telle que la maladie d'Alzheimer, la MH, la maladie de Parkinson ou encore les maladies à prions (Ross et Poirier 2004; H. Jakubowski 1999; Chiellini 2021). De manière plus précise, les plaques amyloïdes sont des agrégats protéiques possédant des structures ordonnées de feuillets β (Koo et al. 1999). C'est un processus assez complexe, qui commence par la formation et l'accumulation de protéines mal repliées qui vont s'auto-associer pour former des fibrilles, en passant par différentes étapes intermédiaires en fonction du stade accumulatif (oligomère, protofibrilles, etc.) (Skovronsky et al. 2006). Or l'équipe de Jakubowski a démontré que la N-HCY entrainait la formation de feuillet β et une oligomérisation des protéines N-HCY (H. Jakubowski 1999; Stroylova et al. 2012; M. Sharma et al. 2015a; Witucki et Jakubowski 2023). Il a également été montré que la N-HCY du peptide Aβ42 augmentait sa neurotoxicité (Khodadadi et al. 2012). Pour appuyer davantage le propos, l'amyloïdogenèse de protéines N-HCY a été identifiée pour plusieurs protéines comme la bovine sérum albumine (BSA), la caséine kappa, l'insuline, la protéine Tau, MAP1 associé à la maladie d'Alzheimer notamment et la protéine prion (Paoli et al. 2010; Stroylova et al. 2012; Khazaei et al. 2012; Yousefi et al. 2012; Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a; Guéant et al. 2022); posant la question du statut en HCY et en protéines N-HCY dans le vieillissement cérébral et dans les agrégopathies neurodégénératives.

Tableau VIII : Exemple de protéines N-HCY et conséquences structurelles et fonctionnelles (Jakubowsky 2019).

Protein	*N*-Hcy Modification Site In Vivo	Effects of *N*-Homocysteinylation	References
Albumin	K525, K212, K137	Impairs redox transitions and binding properties; oxidative damage; aggregation, amyloidal transformation; inflammation and cytotoxicity in human monocytes and endothelial cells	Jakubowski (132); Glowacki and Jakubowski (79); Perna et al. (244); Sikora et al. (284); Marczak et al. (207); Paoli et al. (234); Capasso et al. (30)
Collagen 1A1	K160	Prevents pyridinoline cross-link formation	Perla-Kajan et al. (242)
Crystallin	Unknown	Aggregation	Jakubowski (127); Yousefi et al. (345); Hajjari et al. (91)
Cytochrome *c*	K8/13, K86/87, K99, K100 (in vitro)	Multimerization; impairs redox transition	Jakubowski (127, 132); Perla-Kajan et al. (239)
Dynein	Lys1218	Impairs binding to tubulin; aggregation	Akchiche et al. (5)
Fibrinogen	α-K562, β-K344, γ-K385	Forms fibrin clots with denser structure; impairs plasminogen activation and fibrin lysis	Sikora et al. (283); Sauls et al. (273)
HDL, ApoA1, PON1	Unknown	Reduces PON1 activity; enhances Trp residues fluorescence; impairs antioxidant function	Jakubowski (132); Ferretti et al. (64, 65); Miyazaki et al. (217)
Hemoglobin	α-chain: K7, K11, K16, K56, K61, K90, K99, K139; β-chain: K8, K17, K59, K61, K65, K66, K82, K95, K120, K144 (in vitro)	Oxidative damage; aggregation	Jakubowski (121, 126, 127); Zang et al. (347)
Histones	H1: K59, K69, K82, K85, K97, K 107; H2A: K5, K36, K74, K75, K95; H2B: K46, K108, K116, K120; H3.1: K5, K23*, K79; H4: K5, K12, K79 (in vitro)	Changes in gene expression	Jakubowski (127); Gurda et al. (86, 87); Xu et al. (341)*
LDL, ApoB-100	Unknown	Aggregation; increases uptake, impairs degradation by macrophages; decreases binding, internalization, and degradation by human fibroblasts; impairs calcium homeostasis, nitric oxide production; oxidative damage, cytotoxicity in human aortic endothelial cells	Vidal et al. (330); Naruszewicz et al. (229); Jakubowski (121, 125); Ferretti et al. (66); Vignini et al. (331)
E-cadherin	Unknown	Reduced interaction with β-catenin; aggregation	Bossenmeyer-Pourie et al. (24)
Actin	Unknown	Reduced interaction with vinculin; aggregation	Bossenmeyer-Pourie et al. (24)

HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PON1, paraoxonase 1.

VI- MMC et maladies neurodégénératives

A- Hyperhomocystéinémie et vieillissement cérébral

Le MMC est un régulateur central du statut métabolique cellulaire. Le cycle des folates et le cycle de la méthionine régulent la synthèse de la purine et de la thymidine, l'homéostasie des acides aminés et les mécanismes épigénétiques tandis que la voie de la transsulfuration régule l'état redox cellulaire. Le MMC joue également un rôle dans la régulation du métabolisme énergétique mitochondrial, glucidique et lipidique. De nombreuse études relèvent le rôle central du MMC dans l'homéostasie cellulaire des tissus non prolifératifs et dans la coordination des cascades de signalisation qui régulent l'homéostasie énergétique et la longévité (Lionaki et al. 2022). Comme nous l'avons décrit précédemment, le MMC intervient dans les voies de signalisation de la restriction calorique et en nutriments, via la signalisation mTOR- AMPK, la protéostasie (stres du RE, réponse UPR) et la réponse aux dommages de l'ADN.

Par conséquent, le MMC qui se trouve au cœur du métabolisme cellulaire, a été décrit comme un dénominateur commun de ces voies pouvant impacter le vieillissement normal et pathologique (**Figure 67**).

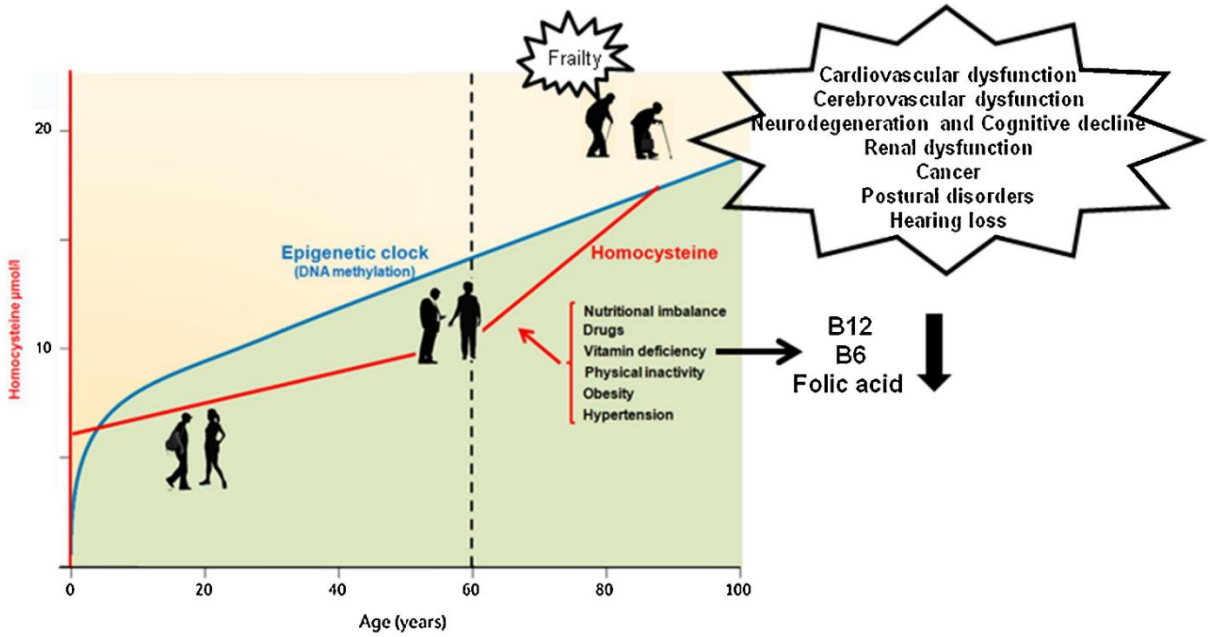


Figure 67 : Relation entre vieillissement et augmentation de l'HHCY (Ostrakhovitch et Tabibzadeh 2019). *L'homocystéinémie augmente tout au long de la vie d'un individu avec une accélération de son accumulation après 60 ans. L'augmentation de concentration plasmatique d'homocystéine est associée à de nombreux facteurs environnementaux notamment les déficiences en vitamines B6, B12 et B9 mais également l'hypertension, les régimes nutritionnels, les médicaments, l'inactivité physique et l'obésité.*

L'homocystéinémie augmente avec l'âge et atteint 16,5+0,5 µmol/l chez les personnes âgées de 65 ans, les concentrations les plus élevées étant trouvées chez les personnes âgées de 75 ans ou plus. L'augmentation de concentration plasmatique d'homocystéine s'accélère après 60 ans en lien avec de nombreux facteurs environnementaux notamment les déficiences en vitamines B6, B12 et B9 mais également l'hypertension, les régimes nutritionnels, les médicaments, l'inactivité physique et l'obésité (Ostrakhovitch et Tabibzadeh 2019).

Dans une cohorte française de 1241 personnes âgées de 61 à 73 ans, il a été montré une association entre la concentration de l'HCY plasmatique et les diminutions de la cognition globale et de l'attention sur 4 ans : plus la concentration en HCY était élevée, plus le déclin était rapide (Dufouil et al. 2003; Lionaki et al. 2022). Chez les personnes âgées la déficience en B12 et/ou l'HHCY ont été directement corrélée au déclin cognitif, à la démence vasculaire, à l'atrophie frontotemporale (Whyte et al. 2002; Lyon et al. 2020; Y. Song et al. 2022) et aux désordres psychiatriques (Scott et al. 2004). Les concentrations d'homocystéine plasmatique et de folate sérique ont également étaient directement associées avec le risque de démence et d'incidence de la maladie d'Alzheimer (MA) dans le suivi longitudinal sur 4 ans d'une cohorte de 816 individus avec un âge moyen de 74 ans (Ravaglia et al. 2005; Smith et Refsum 2016). La supplémentation en folate et en vitamine B12 permet de réduire l'HHCY et le déclin cognitif chez les personnes âgées atteintes de de MCI (Mild cognitive impairment) (Q. Chen et al. 2025; Y. Zhao et al. 2025).

A partir de l'ensemble des données humaines obtenues l'HHCY a été décrite et acceptée par un consortium international comme un facteur de risque dans le déclin cognitif accéléré, la démence vasculaire et la MA (A. D. Smith et Refsum 2016).

B- La maladie d'Alzheimer (MA)

Les données de la littérature ont plus de 20 ans et sont très nombreuses concernant l'association entre perturbation du MMC, HHCY et MA. Nous avons essayé de les regrouper sous la forme de deux tableaux (**Tableau IX**) (Smith et al. 2018; M. Sharma et al. 2015a).

Tableau IX : Méta-analyses menées depuis 2009 sur le lien entre un taux élevé d'homocystéine plasmatique et la démence ou la maladie d'Alzheimer dans le cadre d'études de cohorte prospectives MTHFR (Smith et al., 2018).

Meta-analysis	Studies/Subjects/Duration	Exposure threshold	Outcome	Pooled risk estimates (95%CI)	PAR% (95%CI) [Prev. 0.25]	PAR% (95%CI) [Prev. 0.30]
Van Dam, et al. [44]	3 prospective studies in 2,569 subjects (baseline free of AD)	tHcy >14.0, 15.0, or 15.6 μmol/L	Alzheimer's disease	RR: 2.5 (1.38–4.56)	27.3 (7.5–47.1)	31.0 (8.6–53.5)
Wald et al. [45]	8 cohorts of 8,669 subjects, median duration = 5 years. Cohort studies of individuals without cognitive impairment or dementia at the start of the study which reported serum homocysteine levels and the incidence or risk of dementia after at least 1 year of follow-up were included.	For a 5 μmol/L increase in tHcy (i.e., 10.0 ⟶ 15.0 μmol/L)	Dementia (the search criteria was mixed, memory, dementia, etc.)	Adjusted OR: 1.50 (1.13–2.0)	/	/
Beydoun et al. [17]	5 cohorts on 4,412 subjects	Elevated tHcy (variety of cut-offs: 14.0, 15.0, 15.6, 14.6 and 12.6 μmol/L)	Incident AD	RR: 1.93 (1.50–2.49)	18.9 (10.8–27.0)	21.8 (12.5–31.1)
Nie et al. [46]	14 cohorts on 15,908 subjects	Elevated tHcy (variety of cut-offs: 15.8, 15.0, 14.0, 27.5, 15.4, 15.0, 13.4, 13.0, 14.3, 21.0, 15.1, 14.5, 17.0 [?], 10.8 μmol/L)	Dementia, cognitive impairment	RR: 1.53 (1.23–1.9)	11.7 (3.8–19.6)	13.7 (6.3–21.2)
Shen et al. [47]	9 studies on 4,830 subjects (mixed study designs)	Elevated tHcy (variety of cut-offs: 14, 12.0, 13.1, 13.3, 27.4, 15.0, 13.0, 15.0 μmol/L)	AD	RR: 1.77 (1.37–2.16)	16.1 (9.1–23.1)	18.8 (10.7–26.9)
Xu et al. [15]	8 cohort studies on 5728 subjects	Elevated tHcy same as Shen et al. [47]	AD	RR: 1.15 (1.02–1.27)	3.6 (0.69–6.51)	4.3 (0.84–7.8)
Hu et al. [16]	34 cohort studies on 9,397 subjects	Mendelian randomisation of the *MTHFR* C677T as a cause for AD	AD	OR TT versus CC: 1.37 (1.15–1.63). OR CT versus CC 1.28 (1.14–1.44). OR (for each 1 SD increase in ln(tHcy)): 3.37 (1.9–5.95)		

AD, Alzheimer disease; CI, confidence intervals; tHcy, total homocysteine; MTHFR, methylentetrahydrofolate reductase; OR, odds ratio; PAR, Population Attributable Risk; Prev, prevalence of hyperhomocysteinemia (HHCY); RR, relative risk; SD, standard deviation. It should be noted that many of the meta-analyses included the same cohorts. PAR = 100 * [P(HHCY) * (RR–1)] / 1 + [P(HHCY) * (RR–1)]. 95% CI of PAR are according to Beydoun et al. [17] and the references cited there.

Au sein du MMC, l'HHCY qui est à l'intersection entre le cycle de la méthionine et la voie de la transsullfuration est le facteur le plus fortement associé avec l'incidence, la sévérité la et la vitesse de progression de la MA (Ravaglia et al. 2005; A. D. Smith et al. 2018; A. D. Smith et Refsum 2016). L'évaluation des niveaux d'homocystéine sérique en parallèle de l'atrophie cérébrale a été proposé comme biomarqueur précoce pour dépister la MA. Ce qui permettrait également de tirer avantage des supplémentation vitaminiques (folates, B12, B6) et des médicaments qui pourraient aider à réduire les niveaux d'homocystéine et freiner le déclin cognitif, la MA et l'atrophie du cortex cérébral chez la population adulte âgée (Sah et al. 2024). Les carences en vitamine B9 et B12 ont principalement été impliqués dans les déficiences cognitives et la MA par un effet direct ou indirect, via l'HHCY (M. Sharma et al. 2015a; A. D. Smith et al. 2018) (**Figure 67** et **Figure 68**).

Au sein de la voie de la reméthylation il a été mis en évidence une association avec les polymorphismes *MTHFR*, *MTR* et *MTHFD1* (Dorszewska et al. 2007). En particulier les polymorphismes *MTHFR* C677T et A1298C étaient significativement associés au risque de déclin cognitifs dans la MA (Araszkiewicz et al. 2025). Cependant, de nombreuses études ont également relié la vitamine B6 et la voie de la transsulfuration au déclin cognitif et à la MA (Mulder et al. 2007; Cao et al. 2024). Les effets majeurs générés par une altération de la voie de la transsulfuration serait en lien avec un déficit en glutathion et le stress oxydant ainsi qu'un défaut de signalisation en H2S qui favoriserait le clivage Aβ42 et l'hyperphosphorylation de Tau (Hashim et al. 2024). Il a également été montré une augmentation de l'expression d'APP et une accumulation du peptide Aβ dans le cerveau des souris $Cbs^{-/-}$ dont la voie de la transsulfuration n'est plus fonctionnelle (Witucki et Jakubowski 2023). De plus, l'HHCY dans la MA entraine la N-HCY de nombreuses protéines, comme Tau, Aβ, MAP1, MAP4, MAP5, PON1… Ainsi que la N-HCY du peptide Aβ sur la lysine 28 qui augmente sa neurotoxicité (Khodadadi et al. 2012; Hieronim Jakubowski 2024a; M. Sharma et al. 2015a; Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a).

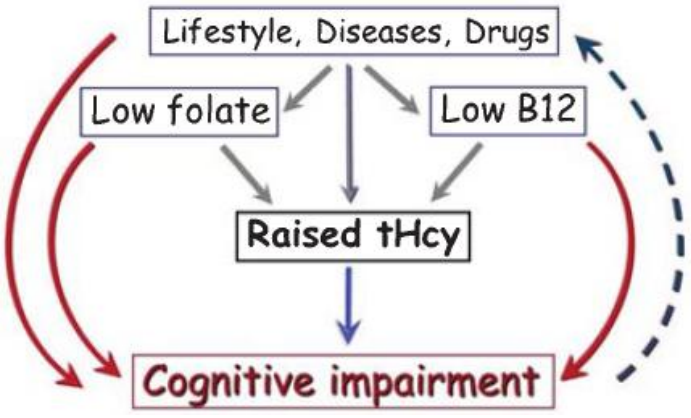


Figure 68 : Différents facteurs intervenant dans les déficiences cognitives de manière directe ou indirecte (Smith et al., 2018). *Une élévation du taux de t*HCY *peut entraîner directement des troubles cognitifs (flèche bleue). De nombreux facteurs modifiables déterminent le taux de t*HCY *[3, 11]. Certains de ces facteurs peuvent provoquer directement des troubles cognitifs (flèches rouges) ainsi qu'indirectement en augmentant le taux de t*HCY *(flèches grises). Une causalité inverse (ligne pointillée) pourrait également expliquer l'association entre l'*HCY *et les troubles cognitifs.*

C- La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson (MP) est l'une des maladies neurodégénératives les plus courantes causées par la perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire (SNpc). Pathologiquement, la MP se caractérise par la formation d'inclusions intraneuronales appelées corps de Lewy (LBs) et neurites de Lewy (LNs), qui sont principalement composés d'α-synucléine agrégée. Plusieurs études épidémiologiques et cliniques ont rapporté qu'un niveau élevé d'HCY est associé à un risque accru de MP et l'HCY a été identifiée comme un facteur de risque indépendant pour la MP. Ainsi, les niveaux d'HCY sont corrélés aux performances cognitives et aux dommages structuraux dans le cortex cérébral des patients atteint de la MP (Bakeberg et al. 2019a; Licking et al. 2017; Sampedro et al. 2022). Des études cliniques ont rapporté que les niveaux d'HCY sont également positivement corrélés avec l'âge, la durée de la maladie et la gravité de la maladie chez les patients atteints de MP (Zhong et al. 2022; Licking et al. 2017). Chez les patients non traités en phase précoce de la MP, un faible taux de B12 dans le liquide cérébro-spinal prédit une aggravation plus importante et plus rapide de la perte motrice mesurée par l'échelle UPDRS (Christine et al. 2020). Le polymorphisme *MTHFR* (C677T et A1298C), *MTR* (A2756G) et *MTHFD1* (G1958A) a également été décrit chez les patients MP (Dorszewska et al. 2007).

Il a été montré récemment la N-HCY de l'α-synucléine sur la lysine 80 (α-syn K80HCY). Les niveaux d'α-syn K80HCY augmentent de manière âge-dépendante, en corrélation avec des concentrations en HCY et HTL élevées dans le cerveau au cours du vieillissement. L'α-SynK80HCY est plus pro-aggrégante et forme des fibrilles avec une neurotoxicité accrues tant in vitro qu'in vivo (Zhou et al. 2023). DJ-1, également connue sous le nom de protéine 7 de la maladie de Parkinson (Park7), est une protéine multifonctionnelle qui régule le stress oxydatif et la fonction mitochondriale. Le dysfonctionnement de DJ-1 est impliqué dans la pathogenèse de la maladie de Parkinson. DJ-1 est N-HCY sur la lysine 182 ce qui abolit ses effets neuroprotecteurs et favorise la progression accélérée de la MP (T. Guo et al. 2024). De plus, l'inhibition de l'enzyme MARS responsable de la formation de l'HTL dans la N-HCY est associée à une diminution de la neurodégénérescence dans la MP (T. Guo et al. 2025).

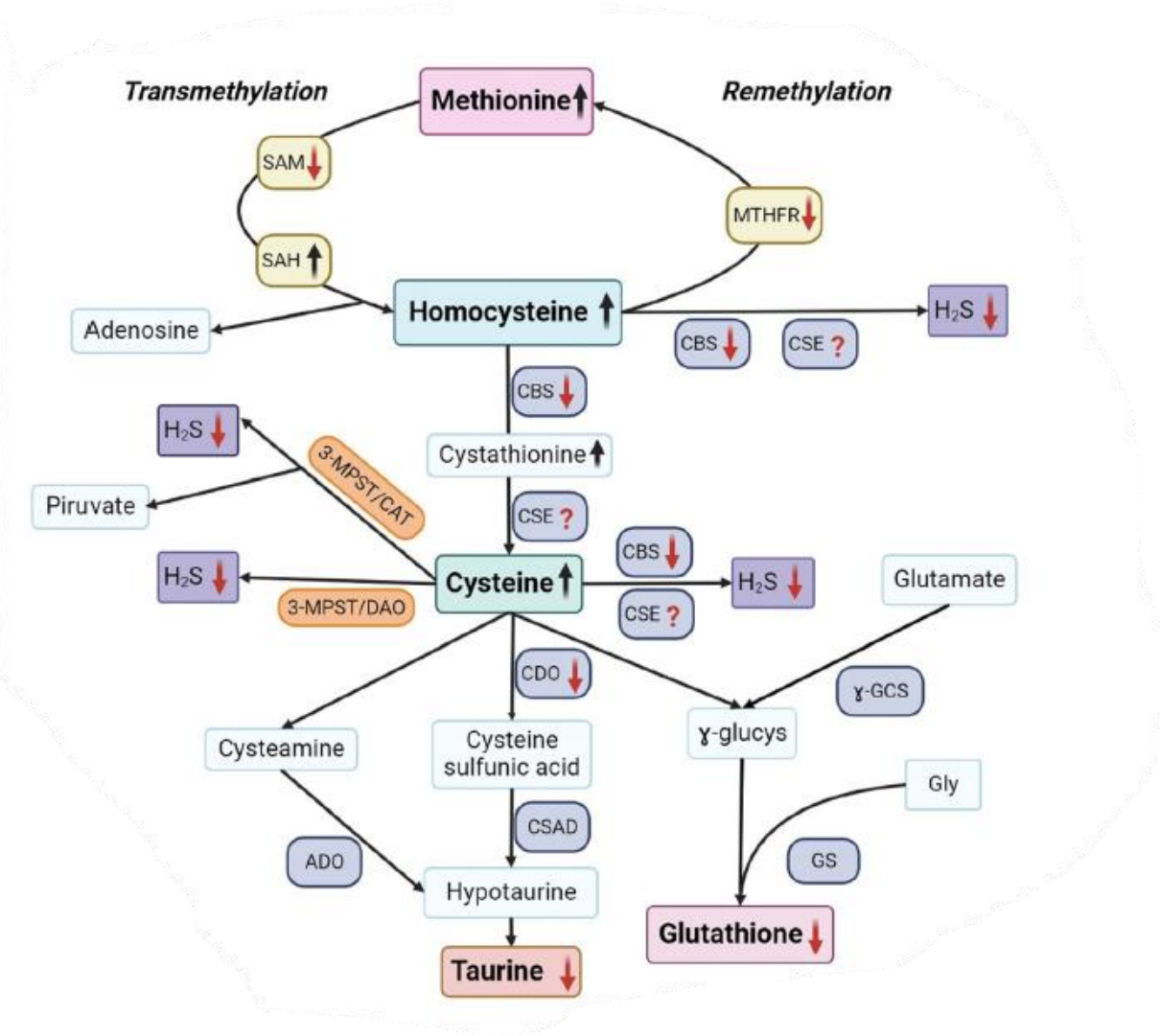


Figure 69 : la voie de la transsulfuration dans la maladie de Parkinson (Corona-Trejo et al. 2023). La figure montre un aperçu de la modulation des différentes enzymes et métabolites de la voie de transsulfuration (TSP) dans la MP. La flèche noire vers le bas ou la flèche rouge vers le haut indique respectivement la régulation vers le bas et vers le haut, dans les métabolites ou enzymes dans la MP. Il y a une association d'événements pro-inflammatoires et oxydatifs entre la maladie de Parkinson et différents composés de la voie de transsulfuration.

Selon les études de cohorte, 10 à 30% des patients atteints de la maladie de Parkinson (MP) et non traités à la L-Dopa présentent des taux important d'HCY qui seront encore accru par le traitement à la L-Dopa (M. Sharma et al. 2015a). De plus, des déficiences plasmatiques en vitamines B6 ont été retrouvées chez les patients traités à la L-Dopa avec une fréquence moyenne de 41% des patients, associés à des polyneuropathies et de l'épilepsie (Modica et al. 2023). De ce fait, la voie de la transsulfuration a été décrite comme un neuromodulateur clé dans la MP (Corona-Trejo et al. 2023) (**Tableau X**) (**Figure 69**). Les polymorphismes *MTHFR* (C677T et A1298C), *MTR* (A2756G) et *MTHFD1* (G1958A) ont également été retrouvés chez les patients MP (Dorszewska et al. 2007).

Tableau X : Modulation des métabolites et enzymes de la voie de la transsulfuration dans la maladie de Parkinson (Corona-Trejo et al., 2023).

Homocysteine			
Specie	**Sample**	**Changes in metabolites/enzyme expression or activity**	**References**
PD patients	Plasma	↑ Hcy versus healthy controls	Dorszewska et al. (2007), Fan et al. (2020), Rodriguez-Oroz et al. (2009)
	Serum	↑ Hcy versus patients with orthopedic disorders	Kuhn et al. (1998)
		↑ Hcy versus healthy controls	Bakeberg et al. (2019), dos Santos et al. (2009), Li et al. (2020), Todorovic et al. (2006)
	Cerebroespinal fluid	↑ Hcy versus healthy controls	Isobe et al. (2005)
PD patients L-DOPA treatment	Plasma	↑ Hcy versus healthy controls	(Muller et al. 1999; Religa et al. 2006)
		↑ Hcy vs non dementia PD with L-DOPA	Yasui et al. (2000)
		↑ Hcy in C677T MTHFR versus PD before L-DOPA treatment in C677T MTHFR	Ozkan et al. (2004)
		↑ Hcy versus PD with dopamine agonist and healthy controls	Zoccolella et al. (2005)
		↑ Hcy versus PD with L-DOPA + COMT-I and healthy controls	Nevrly et al. (2010)
		↑ Hcy versus PD with L-DOPA + COMT-I	Yuan et al. (2009)
		↑ Hcy versus PD without L-DOPA treatment and healthy controls	Rogers et al. (2003)
	Serum	↑ Hcy versus PD without L-DOPA treatment	Obeid et al. (2009)
	Brain frontal cortex	↑ Hcy versus PD with DA-agonist, L-DOPA, L-DOPA + DA-agonist	Kalecky et al. (2022)
PD patients treated with L-DOPA and decarboxylase inhibitors	Plasma	↑ Hcy versus PD patients with L-DOPA + decarboxylase ihibitors + COMT-I	Muller and Muhlack (2009)
PD patients with dementia	Plasma	↑ Hcy versus no dementia PD and healthy controls	Slawek et al. (2013)
		↑ Hcy versus no dementia PD and healthy controls	Song et al. (2013)
Mouse MTPT-induced PD model	SN	↑ Hcy versus sham mice	Yin et al. (2021)
Cells SH-SY5Y with MTPT		↑ Hcy versus non-treated	Yin et al. (2021)
S-adenosylmethionine and S-adenosylcysteine			
PD patient treated with L-DOPA and peripheral DOPA decarboxylase inhibitor	Blood	↓ SAM versus healthy controls	Cheng et al. (1997)
PD patients treated with L-DOPA	Plasma	↑ SAH versus non L-DOPA PD patients	Obeid et al. (2009)
PD patient with dementia	Brain frontal cortex	↑ SAH versus non dementia PD patients	Kalecky et al. (2022)
Rats treated with L-DOPA	Brain tissue	↓ SAM versus non L-DOPA treated or with L-DOPA + COMT-I	Miller et al. (1997)
		↑ SAH versus non L-DOPA treated or with L-DOPA + COMT-I	
Cysteine			
PD patients	Plasma	↑ Cys versus sham mice	Dorszewska et al. (2007)
Mouse MTPT-induced PD mode	SN	↑ Cys versus control rats	Yin et al. (2021)
Cells SH-SY5Y with MTPT		↑ Cys versus non treated cell culltures	Yin et al. (2021)
H_2S			
Rat rotenone-induced PD model	Substantia nigra	↓ H_2S versus control rats	Hu et al. (2010)
Mouse MPTP-induced PD model	Plasma and striatum	↓ H_2S versus control mice	Yuan et al. (2018)
PC12 + MPP^+		↓ H_2S versus non treated cell cultured	Tang et al. (2011)

Homocysteine			
Specie	**Sample**	**Changes in metabolites/enzyme expression or activity**	**References**
Cystathionine B-synthase and cystathionine γ-LYASE			
PC12 MPP^+		↓ CBS expression and activity	Tang et al. (2011)
PD patients	Analysis of microbiome	↓ CSE activity	Hertel et al. (2019)
Glutathione and glutathione peroxidase			
PD patient with severe damage to substantia nigra post-mortem	Substantia nigra, putamen, frontal cortex	↓ GSH versus non severe SN PD patients	Riederer et al. (1989)
Mouse 6-OHDA-induced PD model	Substantia nigra	↓ GSH versus control mice	Morroni et al. (2014)
PD patients	Plasma	↑ GPx activity versus healthy controls	Gokce Cokal et al. (2017)
Taurine			
PD patients treated with L-DOPA	Plasma	↓ Tau versus healthy controls and non L-DOPA treated PD patients	Zhang et al. (2016)
	Cerebrospinal fluid	↓ Tau versus healthy controls	Araki et al. (1986), Engelborghs et al. (2003), Molina et al. (1997)

D- La maladie de Huntington

Des études récentes ont mis en évidence des liens entre le MMC et la MH. Il y a en premier lieu le rôle que joue la HTT dans la régulation de la voie de la transsulfuration d'une part en se liant à la CBS et la CSE et d'autre part en régulant l'expression de la CSE au niveau transcriptionnel via son interaction avec SP1. La mutation de la HTT perturbe le fonctionnement de la voie de la transsulfuration. Ces différents points ont été abordés dans le chapitre 1 de l'introduction (**Le Métabolismes des acides aminés**) (Sbodio et al. 2016; Paul et al. 2018; Sbodio et al. 2019c; Paul et al. 2022b) (**Tableau XI**).

Les neurones sont très dépendants de l'activité de la voie de la transsulfuration, son dysfonctionnement serait responsable d'une diminution de la production de de cystéine, de gluthathion, de H2S et d'une augmentation des concentrations en homocystéine (Paul et al. 2022b). Les patients MH présentent tous une homocystéinémie statistiquement plus élevée que les populations contrôles mais sans être systématiquement hyperhomocystéinémiques (Brune et al. 2004a). Le stress oxydant qui en résulte provoquerait une neurodégénérescence dans les zones les plus sensibles, principalement le striatum et le cortex (Sbodio et al. 2019c). Une supplémentation en cystéine réverse ces anomalies dans certains modèles expérimentaux de la MH, *in vitro* et *in vivo* (Paul et al. 2014a) et la persulfitation de SP1 par l'H2S augmente son activité transcriptionnelle et l'activité de la voie de la transsulfuration (B. Murphy et al. 2019). De plus, un traitement avec la N-Acétylcystéine, produit de synthèse passant la barrière hématoencéphalique, et agissant comme précurseur de la cystéine, du glutathion et du glutamate, a déjà montré un effet neuroprotecteur majeur dans les pathologies neurodégénératives, y compris la MH (Chakraborty et al. 2025) (**Tableau XI**).

Tableau XI : Effet des traitements à la N-Acétylcystéine (NAC) dans des modèles in vitro et in vivo de la MH (Chakraborty et al., 2025).

Huntington's disease (HD)			
Okada et al. (2021)	STHdhQ7 and Q111 cell lines	NAC (2 mM)	• NAC prevents 3-nitropropionic acid-induced cell death and mitochondrial dysfunctions in a cellular model of HD • NAC reverses the decrease in mitochondrial membrane potential and suppresses Drp1 oligomerization induced by 3-nitropropionic acid
Wright et al. (2016)	R6/1 transgenic mouse model	NAC (500 mg/kg, i.p.) for 12 weeks	• NAC reverses depression in R6/1 mice in a glutamate transporter-dependent manner • NAC increases xCT expression and extracellular cystine levels • NAC decreases NMDAR2B expression, leading to abrogation of glutamate excitotoxicity
Wright et al. (2015)	R6/1 transgenic mouse model	NAC (500 mg/kg, i.p.) for 10 weeks	• NAC delays the onset of motor deficits, ameliorates redox imbalance and mitochondrial dysfunction
Paul et al. (2014)	R6/2 transgenic mouse model	NAC (20 mM) in drinking water with a high cysteine diet starting at 4 weeks of age	• NAC and cysteine-rich diet improves motor performance, increases life span, and attenuates striatal volume loss in R6/2 mice

Des perturbations du cycles des folates ont également été associées à la progression de la MH. Le polymorphisme *MTHFR* (homozygote *MTHFR*-1298-CC) du cycle des folates a été corrélé chez 171 patients avec une apparition plus précoces des symptômes de la MH (Brune et al. 2004a). Ces résultats ont ensuite été réfutés l'année suivante par l'étude du polymorphisme *MTHFR* par Hansen et collaborateurs chez 167 patients (Hansen et al. 2005). Cependant, récemment il a été montré que la déficience en MTHFR était parmi les 10 premières voies altérées chez les patients présymptomatiques de la MH et jouait un rôle dans la transition du statut présymptomatique à symptomatique (Khodadadi et al. 2012) (**Tableau XII**).

Tableau XII : les 15 voies le plus modifiées chez les patients présymptomatiques de la MH (Christodoulou et al., 2020)

Rank	Pathway Name	*p*-Value
1	Transforming growth factor-beta (TGF)-beta signaling	0.00235
2	Codeine and morphine metabolism	0.00878
3	Focal adhesion	0.00878
4	PI3K-Akt signaling	0.00878
5	Small cell lung cancer	0.01354
6	Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) deficiency	0.02864
7	Chromosomal and microsatellite instability in colorectal cancer	0.03138
8	Development and heterogeneity of the innate lymphoid cell (ILC) family	0.03138
9	Oligodendrocyte specification and differentiation(including remyelination), leading to myelin components for central nervous system (CNS)	0.03138
10	Pregnane X receptor pathway	0.03138
11	Ciliary landscape	0.03437
12	Ectoderm differentiation	0.03437
13	Sleep regulation	0.03667
14	22q11.2 deletion syndrome	0.03806
15	Mesodermal commitment pathway	0.03806

L'équipe de Xie a également observé une perturbation du cycle des folates dans la MH. Dans un modèle très original chez la plante, il a été montré que la surexpression de mHTTexon1 perturbait le cycle des folates en affectant l'expression de la GTPCH (GTP Cyclohydrolase) et l'expression de 38 méthyltransférases dépendantes de la SAM (SAM-MTases). Chez les plantes, la GTPCH est une enzyme limitante qui catalyse la première étape de la biosynthèse du folate, tandis que les SAM-MTases jouent un rôle crucial dans le transfert des groupes méthyle vers diverses biomolécules. Ces effets résulteraient du gain de fonction de mHTTexon1 puisque les plantes ne disposent pas d'un orthologue HTT (C.-Y. Hung et al. 2022). Ces résultats ont ensuite été validés par la même équipe dans un modèle murin de la MH, les souris R6/2.

Chez les plantes et les mammifères, la GTPCH catalyse la même réaction pour convertir la guanosine triphosphate (GTP) en dihydronéoptérine triphosphate (DHPTP). Cependant, le DHPTP produit est converti en dihydrofolate (DHF) dans les plantes pour entrer dans le c0ycle du folate, tandis que chez les animaux, il est transformé en tétrahydrobioptérine (BH4) un cofacteur essentiel pour les hydroxylases d'acides aminés aromatiques afin de produire des neurotransmetteurs monoamines. La DHFR du cycle des folates permet aussi la réduction de la dihydrobioptérine (BH2) en BH4. La surexpression de mHTTexon1 altérait significativement l'expression de GTPCH et DHFR dans les tissus cérébraux des souris R6/2 âgées de 4 semaines, avec une augmentation significative de glycine dans le cerveau et de sérine plasmatique signe d'une perturbation précoce du MMC (Xie et al. 2023; C.-Y. Hung et al. 2022) (**Figure 70**)

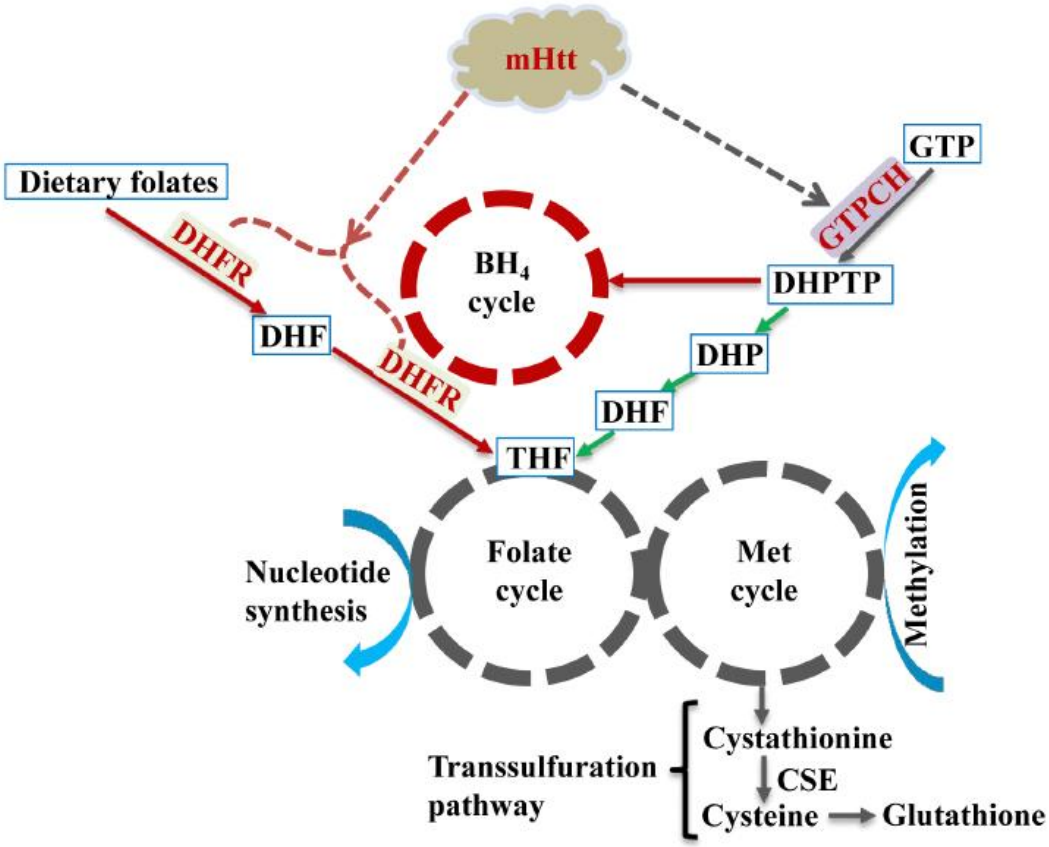


Figure 70 : Altération de l'expression de DHFR et GTPCH par mHTTexon1 (Xie et al., 2023). *L'expression de mHTTexon1 affecte à la fois le MMC murin et végétal. Les flèches rouges représentent le MMC spécifique aux mammifères, les flèches vertes représentent celui des plantes, tandis que les flèches grises représentent les deux métabolismes. DHPTP : dihydronéoptérine triphosphate ; CTPCH : GTP Cyclohydrolase ; BH4 : tétrahydrobioptérine ; DHF : dihydrofolate ; THF : Tetrahydrofolate.*

Cette altération de l'expression de la DHFR a également été mise en avant chez l'homme par une étude d'identification de variants génétiques associées à la progression de la MH dans TRACK-HD (216 patients) et REGISTRY (1773 patients). La méta-analyse de la progression dans TRACK-HD et REGISTRY a donné un signal significatif à l'échelle du génome sur le chromosome 5 couvrant trois gènes : *MSH3*, *DHFR* et *MTRNR2L2*. MSH3 intervient dans les processus de réparation de l'ADN et a été impliqué dans les expansions somatique tandis que MTRNR2L2 est une protéine mitochondriale de la famille des humanines (Moss et al. 2017).

Des supplémentations en acide folique, la forme de synthèse des folates, permettent d'améliorer les symptômes cognitif et dépressif dans un modèle murin de la MH (YAC128) (Marinina et al. 2026). Pris dans leur globalité, l'ensemble de ces études montre un rôle critique du métabolisme des monocarbones dans la physiopathologie de la MH.

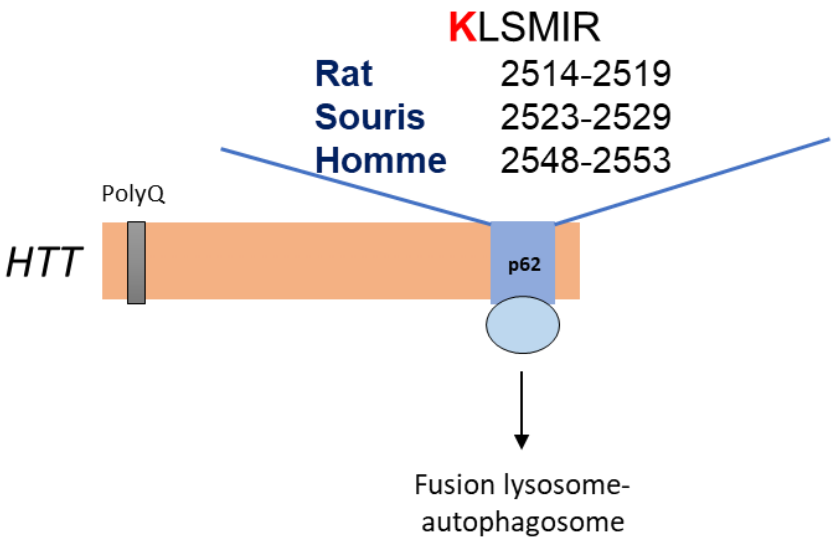
Objectif de l'étude

I- Données antérieures du laboratoire

Une très importante revue de la littérature met en avant le rôle des anomalies du MMC ou bien les apports bénéfiques des supplémentations en vitamines B (B6, B9 et B12) dans les pathologies neurodégénératives. Dans ce contexte le laboratoire NGERE a développé un très large projet visant à mettre en évidence que les déficits en vitamines B, les anomalies génétiques du MMC et l'hyperhomocystéinémie sont des facteurs de risques aggravants communs à de nombreuses protéinopathies neurodégénératives en termes de précocité et de sévérité de l'atteinte. Dans ce domaine, ces dernières années les travaux du laboratoire se sont notamment focalisés sur l'étude et le rôle de la N-homocystéinylation (N-HCY) des protéines.

Les résultats antérieurs publiés par le laboratoire montrent que l'homocystéine peut se fixer sur de nombreuses protéines du cytosquelette. Cette N-HCY des protéines est irréversible, perturbe la fonctionnalité des protéines, conduit à leur agrégation et génère du stress oxydant. Lorsque la formation d'agrégats dépasse les capacités de clairance cellulaire, ils s'accumulent dans la cellule et génèrent un déséquilibre de la protéostasie, un stress mitochondrial et du RE qui favorise la neurodégénérescence (Akchiche et al. 2012; Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a; Kosgei et al. 2020; Guéant et al. 2022). La N-HCY de protéines neuronale (Tau, MAP…) a été montré *in vitro* dans les cellules hippocampique H9-7, *in vivo* dans le modèle de rat MDD (carence nutritionnelle en vitamines B9 et B12), dans les souris CD320 (déficience du transport cérébral de la vitamine B12) et chez l'homme dans le LCR et des biopsies du cortex et de l'hippocampe de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a).

Dans le cadre de cette étude sur la maladie d'Alzheimer, l'analyse protéomique du cerveau des rats MDD, par spectrométrie de masse, a permis de mettre en évidence pour la première fois une nouvelle modification de la huntingtine : une N-HCY sur la lysine 2514 (**Figure 71**).



Espèce	Numéro d'accession	Sequence Homocystéinylée de la HTT	Homologie
		KLSMIR	
Rat	P51111	2514-2519	100%
Souris	NP034544.1	2523-2529	100%
Homme	NP_002102.4	2548-2553	100%

Figure 71 : N-Homocystéinylation de la huntingtine sur la Lysine K2514 chez le rat (Résultats non publiés). *Alignement des séquences chez l'homme et la souris par rapport à la séquence homocystéinylée identifiée chez le rat (en rouge : homocystéinylation de K2514).*

Cette séquence (KLSMIR) est conservée à 100% (identité/homologie) chez l'homme et la souris et se trouve localisée dans la région d'interaction de la huntingtine avec la protéine p62 un récepteur des protéines ubiquitinées. La perturbation de l'autophagie neuronale a été associée à la neurodégénérescence et à diverses pathologies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, la MP et la MH. En effet, la HTT joue un rôle important dans l'autophagie via son interaction avec ULK1 et p62. Il a été montré que la délétion de la queue polyQ de la HTT induisait l'autophagie neuronale alors que l'expansion pathologique du polyQ limitait l'autophagie et induisait la neurodégénérescence(S. Zheng et al. 2010).

Par la suite, le laboratoire a voulu analyser l'existence de cette N-HCY de la HTT chez l'homme et en particulier son rôle dans les déficits neurologiques des patients hyperhomocystéinémiques présentant des erreurs innées du MMC, comme une mutation de la méthionine synthase (patients CblG) (**Figure 72**).

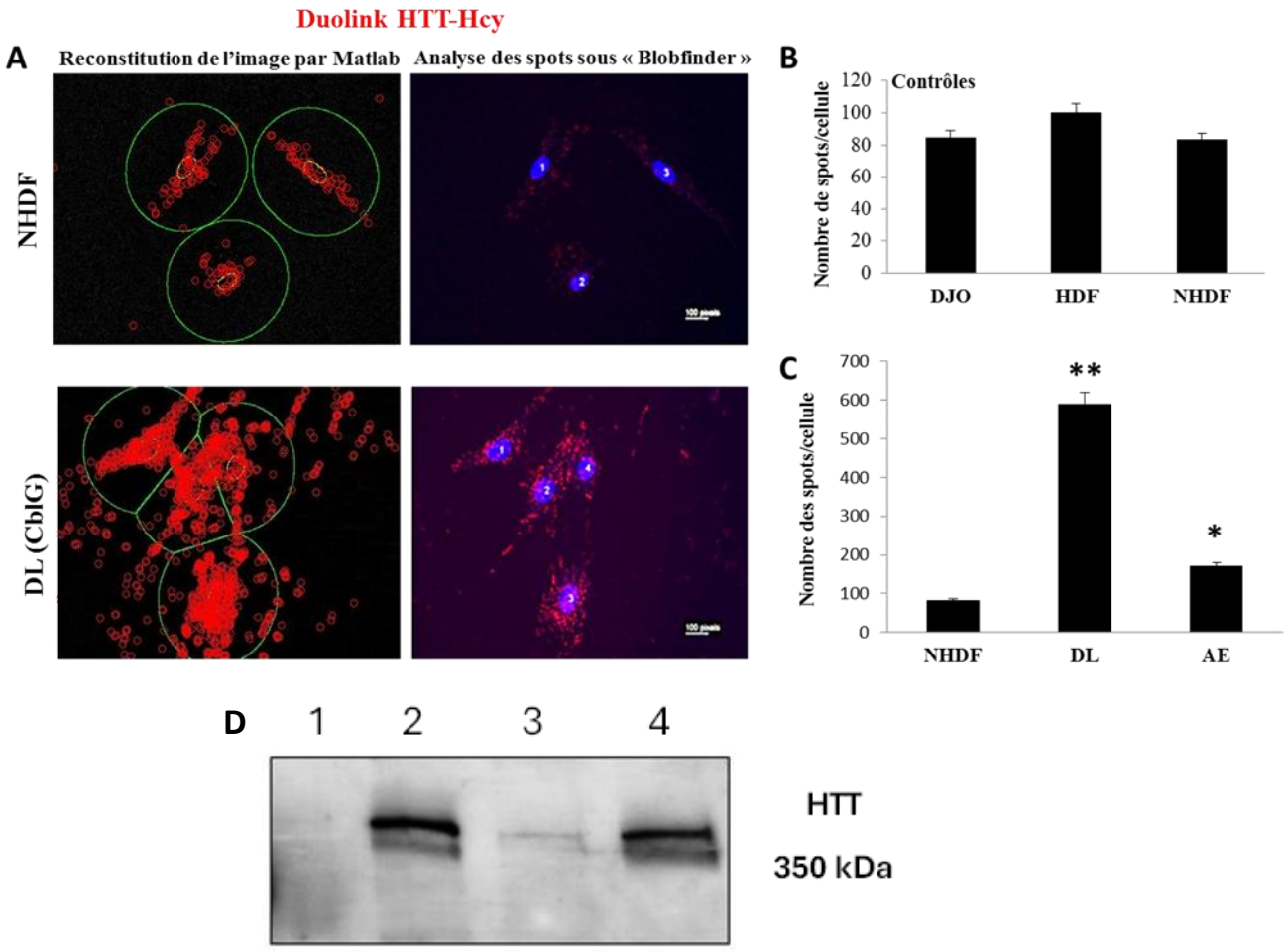


Figure 72 : Analyse de la N-HCY de la HTT dans des fibroblastes de patients CblG (Résultats non publiés). *(A) Analyse des résultats et reconstitution informatique par Blobfinder/matlab. Le panel de droite représente les images acquises au microscope confocal (grossissement x60), les noyaux sont marqués au DAPI (émission bleue sous filtre UV), le marquage Duolink de l'interaction HTT-HCY émet une fluorescence rouge, représentées sous la forme de spot ou « blob » qui seront ensuite quantifiés par le logiciel Blobfinder. Le panel de gauche représente la reconstitution informatique sous matlab qui permet le comptage des blobs par le logiciel, le corps cellulaire est représenté en vert et le noyau en jaune. (B) Quantification de l'interaction HTT-HCY dans des lignées d'individus sains et (C) dans les lignées CblG (Dl et AE) par comparaison au contrôle NHDF (lignée de fibroblaste sains, non issue de patients). Les résultats sont exprimés en nombre de blob par cellule. **p<0,01, *p<0,05. (D) Co-immunoprécipitation des protéines extraites des fibroblastes de la lignée DL (CblG) sur des colonnes fixées avec l'anticorps anti-HCY suivie d'une immunodétection par Western-blot de la HTT. (1) témoins négatif élution DL d'une colonne sans Ac-HCY, (2) : Surnageant DL sur une colonne avec Ac-HCY (protéines non retenues sur la colonne), (3) Elution DL sur une colonne avec Ac-HCY (protéines retenues par la colonne), (4) témoin négatif surnageant DL sur une colonne sans Ac-HCY.*

La technique de Duolink® est une technique de de PLA (Proximity Ligation Assay) qui permet la détection des interactions proteines-protéines ou des modifications post-traductionnelles des protéines. Elle nécessite la présence des deux cibles étudiées à une distance inférieure à 40nm. Cette technique a été utilisée afin d'évaluer et quantifier la N-HCY de la HTT chez les patients CblG par l'usage d'anticorps anti-HTT et anti-HCY (voir partie matériel et méthode et fiche N°5). Il a ainsi été non seulement confirmé que l'interaction HTT-HCY existait mais également qu'elle était statistiquement plus importante dans un contexte hyperhomocystéinémique (patient DL et AE) (**Figure 72 A-C**). Les analyses par immunoprécipitation des protéines extraites de la lignée DL (CblG) sur des colonnes fixées avec un anticorps anti-HCY ont montré que la HTT était retenue sur la colonne HCY (Puits 3 **Figure 72 D**). Les puits 1 (élution) et 4 (surnageant) servent de contrôle négatif. Ces résultats confirment que la HTT est N-HCY chez les patients atteints de maladies rares du MMC.

II- Hypothèses et objectifs de la thèse

Comme nous l'avons exposé dans la partie introductive, la MH présente une très grande variabilité phénotypique, tant sur l'âge d'apparition des symptômes que sur leur sévérité et leur vitesse d'évolution, et ce pour un nombre de triplets CAG identique, ce qui laisse supposer l'intervention de facteurs environnementaux.

Les patients MH présentent tous une homocystéinémie statistiquement plus élevée que les populations contrôles mais sans être toujours hyperhomocystéinémique (Andrich et al. 2004a), ceci est certainement lié au rôle de la HTT dans la voie de la transsulfuration (Sbodio et al. 2019c). Néanmoins, le rôle des altérations du MMC dans la MH reste sujet à controverse. Bien que Brune et collaborateurs aient montré en 2004 que les porteurs de la mutation de la HTT et du polymorphisme *MTHFR* du cycle des folates présentent une apparition de la MH beaucoup plus précoce (Brune et al. 2004a), ces résultats ont ensuite été réfutés par d'autres travaux l'année suivante (Hansen et al. 2005). La majorité des études sur le rôle de la HTT dans la voie de la transsulfuration ont été menées sur des modèles animaux ou des lignées cellulaires issues de ces modèles et non chez le patient. S'il est connu que la HTT peut interagir avec la CBS (Boutell et al. 1998) il n'existe aucune donnée sur les conséquences de la mutation de la HTT sur cette interaction, ni sur les conséquences de la N-HCY de la HTT sur sa régulation de la voie de la transsulfuration du MMC.

Par bien des aspects, les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans une perturbations du MMC recoupent ceux rencontrés dans la MH en lien avec la mutation de la HTT : stress oxydant, perturbation de métabolisme énergétique, stress de la mitochondrie et du RE, perte de la protéostasie, dommages à l'ADN et dérégulation transcriptionnelle. Outre les mécanismes, certains acteurs mis en jeu sont également communs tels que la diminution d'expression et d'activité de NRF2, SIRT 1 et PGC1α.

L'ensemble de ces données soulèvent plusieurs questions : les perturbations du MMC et l'hyperhomocystéinémie joue-t-ils un rôle dans la physiopathologie de la MH et participeraient-elles à la variabilité phénotypique de la maladie ? Quelle part prendrait alors la N-HCY de la HTT dans ce processus pathologique ? Participerait-elle à la formation des agrégats toxiques dans la MH par la N-HCY de la mHTT ? Est-ce que la N-HCY de la HTT issue de l'allèle non muté entraîne sa perte de fonction et accélère la neurodégénérescence ? Est-ce que la HTT est la seule protéine N-HCY dans la MH ?

Cette N-HCY pourrait être une nouvelle modification post-traductionnelle pathologique dans la MH et nous avons alors émis l'hypothèse que les altérations du MMC et l'accumulation de formes N-HCY de la HTT pourraient être un facteur de risque aggravant dans la maladie de Huntington en termes de précocité et de sévérité des symptômes. Nous émettons également l'hypothèse que la HTT n'est pas la seule protéine N-HCY dans la MH et que ces protéines N-HCY sous leur forme amide participent au stress oxydant et par leur perte de fonction à la physiopathologie de la MH.

Pour y répondre, nous avons développé une étude translationnelle (**Figure 73**) permettant d'étudier chez les patients MH les conséquences de l'hyperhomocystéinémie, regroupant une partie clinique et une partie expérimentale. Cette étude a fait l'objet de deux thèses, celle de Salomé Puisieux focalisée sur la partie clinique, soutenue en octobre 2024 et la présente thèse focalisée sur la partie expérimentale.

LES OBJECTIFS DE CE PROJET DE THÈSE SE PROPOSENT DE RÉPONDRE À 3 QUESTIONS :

(1) Existe-t-il un dysfonctionnement du MMC dans la maladie de Huntington susceptible de contribuer à la grande variabilité phénotypique observée chez le patient ?

(2) Quelles sont les conséquences moléculaires et cellulaires d'une altération du MMC dans la maladie de Huntington ?

(3) Existe-il un profil spécifique de protéines N-HCY pouvant être exploité pour le développement de nouveaux biomarqueurs de la MH ?

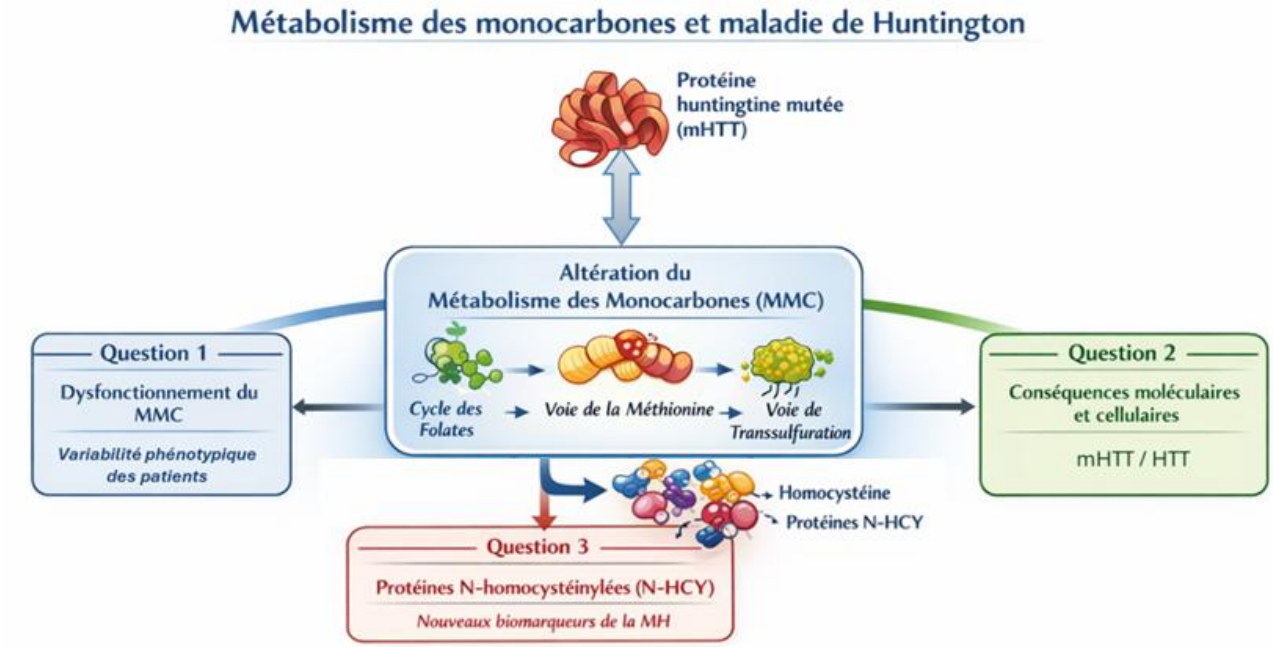


Figure 73 : Implication du métabolisme des monocarbones dans la physiopathologie de la maladie de Huntington et objectifs de l'étude. *La mutation de la huntingtine (mHTT) est associée à une altération du métabolisme des monocarbones (MMC), incluant le cycle des folates, la voie de la méthionine et la transsulfuration. Ce dysfonctionnement contribue à des processus pathologiques tels que le stress oxydant, la dysfonction mitochondriale et la neurodégénérescence.*

.

Résultats

Objectif 1 : Existe-t-il un dysfonctionnement du MMC dans la maladie de Huntington pouvant participer à sa grande variabilité phénotypique ?

Ce premier travail visait à explorer l'existence d'un dysfonctionnement du métabolisme des monocarbones dans la maladie de Huntington (MH). Plus précisément, il s'agissait d'évaluer si des anomalies biologiques telles que des carences nutritionnelles en vitamines B, des variants génétiques des enzymes du cycle des monocarbones (MMC) et/ou une hyperhomocystéinémie (HHCY) associée pouvaient être observées chez les patients atteints de la MH, et si ces anomalies étaient susceptibles d'être associées aux caractéristiques cliniques de la maladie. L'étude de ces paramètres s'inscrivait dans une démarche visant à améliorer la compréhension de la physiopathologie de la MH, notamment au regard de l'importante variabilité phénotypique observée entre les patients, tant en termes d'âge d'apparition des premiers symptômes, que de sévérité et de vitesse d'évolution de ces derniers. Le métabolisme des monocarbones, impliqué dans des processus clés tels que la méthylation, le métabolisme énergétique et le stress oxydant, constitue à ce titre une voie d'intérêt encore peu explorée dans la MH.

Nous avons mené une étude observationnelle, prospective et monocentrique au sein du centre de compétence de la maladie de Huntington du CHRU de Nancy. Les principaux objectifs étaient d'évaluer l'homocystéinémie et le statut en vitamines B chez les patients atteints de MH, puis d'étudier leurs associations potentielles avec l'âge de début de la maladie, la sévérité clinique et la progression des symptômes. Chez les patients présentant une HHCY, une analyse des polymorphismes et variants pathogènes ou probablement pathogènes des gènes impliqués dans le MMC a également été réalisée.

Ce travail a donné lieu à une première publication adossée à ce chapitre : *Hyperhomocysteinemia and vitamin B deficiency as aggravating factors in Huntington's disease: A prospective monocentric study*, actuellement en révision dans le journal Movement Disorders.

I- Évaluation du statut biochimique du MMC et de son association avec le phénotype clinique dans la maladie de Huntington

A- Résumé de l'article

PROTOCOLE

77 patients MH (CAG>39) ont été recrutés entre janvier 2020 et juin 2023, 62 symptomatiques et 15 présymptomatiques. Tous les volontaires ou leurs représentants légaux ont accepté de participer après avoir donné leur consentement éclairé et signé un formulaire non-opposition. Les critères d'exclusion étaient : patients âgés de moins de 18 ans ; patients ne pouvant être suivis dans notre centre ; femmes enceintes ; et patients présentant des troubles cognitifs empêchant la bonne compréhension du protocole d'étude. La consultation d'inclusion a permis de recueillir l'ensemble des données cliniques, de réaliser l'échelle clinique UHDRS moteur, les différentes analyses biologiques et biochimiques avec mise en banque de l'ADN. Afin d'estimer la progression des symptômes moteurs au fil du temps depuis le début déclaré des symptômes moteurs dans la population MH, nous avons calculé un ratio correspondant à la progression de l'UHDRS moteur en fonction du temps estimé en mois (ratio mUHDRS/durée des symptômes moteurs). Pour la population contrôle, nous avons utilisé les données biologiques et biochimiques provenant de 134 individus sains, exempts de signes neurologiques (groupe CMP, centre de médecine préventive de Nancy).

RESULTATS

Cette étude analyse les caractéristiques cliniques, biologiques et génétiques des porteurs de la mutation du gène *HTT*, avec un focus particulier sur l'HHCY et ses déterminants dans la MH.

- *Caractéristiques cliniques et biochimiques de la population MH*

Soixante-dix-sept porteurs de la mutation *HTT* ont été inclus, dont 15 sujets présymptomatiques et 62 patients symptomatiques. Chez ces derniers, l'âge moyen de début de la maladie était de 43,9 ± 13,6 ans et le score moteur moyen UHDRS moteur de 26,7 ± 20,6. Une HHCY était présente chez 51 % des patients, avec une concentration moyenne en homocystéine totale (t-HCY) de 18,2 ± 20,6 µmol/L (norme < 15 µmol/L).

L'analyse multivariée a mis en évidence une corrélation négative modérée (coefficient de corrélation de -0,311, p<0,05) entre la longueur de répétition CAG de l'allèle *HTT* muté et le taux d'homocystéine, ainsi qu'une forte corrélation négative entre le nombre de triplet CAG et l'âge de début de la maladie (coefficient de corrélation de -0,727, p<0,001).

Sur le plan étiologique, 29,9 % des patients présentaient une HHCY isolée et 20,8 % une HHCY associée à une carence en vitamines B, principalement en vitamine B6. Une carence vitaminique isolée sans HHCY était observée chez 11,7 % des patients. Les carences en vitamine B12 n'étaient pas associées à une anémie ni à une élévation de l'acide méthylmalonique. La fonction rénale était globalement conservée et ne semblait pas expliquer l'HHCY dans la majorité des cas. Un cas particulier associait HHCY sévère, traitement par lévodopa et variant pathogène du gène *CBS*. Comparativement à des témoins sains, les patients atteints de MH présentaient des taux significativement plus élevés d'homocystéine, quel que soit l'âge, le sexe ou le statut clinique (présymptomatique ou symptomatique) (*p<0.00*1). Les taux de folates et de vitamine B12 étaient également plus élevés chez les patients MH. Après ajustement sur l'âge et le sexe, le statut MH restait indépendamment associé à des taux plus élevés d'homocystéine (*p<0.001)* et de folates (*p<0.001)*, mais pas de vitamine B12. Une augmentation progressive de l'homocystéine avec l'âge était observée dans l'ensemble de la population étudiée.

- *Déterminants génétiques de l'hyperhomocystéinémie*

L'analyse génétique par séquençage nouvelle génération a été réalisée chez des 10 patients présentant une HHCY inexpliquée ou une carence vitaminique et a identifié des variants pertinents dans 70 % des cas. Des variants rares du MMC ont été retrouvés à une fréquence nettement supérieure (70 à 80 fois) à celle de la population générale et étaient associés à une HHCY sans carence vitaminique : MMACHC (c.617G>A (p.Arg206Gln), classe 4, à l'état hétérozygote) lié au transport intracellulaire de la vitamine B12, le gène CBS (c.833T>C (p.Ile278Thr), classe 5, à l'état hétérozygote) codant pour la première enzyme de la voie de transsulfuration et le gène MTHFR (c.1409A>T (p.Glu470Val), classe 3, à l'état hétérozygote) lié au métabolisme des folates. Des variants fréquents du gène MTHFR ont également été retrouvés chez 5 patients, les variants c.1286A>C ((p.Glu429A), classe 3, à l'état hétérozygote) chez 2 patients et le variant MTHFR c.665C>T ((p.Ala222Val), classe 4, à l'état hétérozygote) chez 3 patients ce qui est équivalent à la prévalence retrouvée en France (Guéant-Rodriguez et al. 2006). Ces 5 patients présentaient une HHCY, parmi lesquels 2 présentaient aussi une carence mineure en vitamine B6.

- *Association entre le métabolisme des monocarbones et les caractéristiques cliniques et paracliniques des patients symptomatiques et présymptomatiques*

Chez les patients symptomatiques, l'HHCY était particulièrement fréquente (48,8%) aux stades précoces de la maladie (<5 ans d'évolution). Elle était associée à une progression des symptômes moteur significativement plus rapide, indépendamment de la longueur de répétition CAG ($p<0,05$). L'analyse par régression logistique confirmait une forte association entre HHCY et progression motrice élevée. En revanche, une carence vitaminique isolée sans HHCY n'était pas associée à une aggravation significative. L'HHCY ou la carence en vitamines B étaient également associées à un mode d'entrée spécifique dans la maladie caractérisé par des symptômes dysexécutifs comportementaux ($p<0.05$). En analyse multivariée, les taux d'homocystéine étaient modérément corrélés à la vitesse de progression motrice (coefficient de corrélation de 0,420, $p<0,001$), contrairement aux taux de vitamines B et à la longueur de répétition CAG.

Enfin, chez les sujets présymptomatiques, la prévalence de l'HHCY était élevée (60 %), majoritairement sous forme isolée, et tendait à être supérieure à celle observée chez les patients symptomatiques, sans différence significative du nombre de triplet CAG.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que l'hyperhomocystéinémie est fréquente dans la maladie de Huntington, dès les stades précoces et présymptomatiques, qu'elle est partiellement liée à des déterminants génétiques spécifiques, et qu'elle constitue un marqueur biologique associé à une progression motrice plus rapide et à certaines caractéristiques cliniques de la maladie.

DISCUSSION

Cette étude prospective menée chez 77 patients est la première à explorer de façon systématique les relations entre HHCY, les carences en vitamines B et le début ainsi que la progression de la MH. Nous avons montré que les concentrations d'homocystéine totale (t-HCY) sont significativement plus élevées chez les patients MH, qu'ils soient symptomatiques ou présymptomatiques comparativement aux témoins, et ce, à tous les âges. Cette élévation est observée malgré des taux plus élevés de vitamine B12 et de folates, et indépendamment de la longueur des répétitions CAG, suggérant que l'HHCY constitue une caractéristique fréquente et jusque-là sous-estimée de la MH.

Ces résultats diffèrent partiellement de ceux d'Andrich et al., qui ne rapportaient une augmentation de la t-HCY qu'aux stades avancés de la maladie (Andrich et al., 2004). Ces divergences pourraient s'expliquer par une taille d'échantillon plus limitée et par une prise en compte insuffisante de l'âge et du sexe, deux déterminants majeurs de l'homocystéinémie. Sur le plan physiopathologique, l'élévation de la t-HCY est compatible avec une altération de la voie de transsulfuration induite par la huntingtine mutée, conduisant à une accumulation d'homocystéine et à un stress oxydatif accru (Paul et al., 2014 ; Sbodio et al., 2019 ; Paul et al., 2022).

La variabilité interindividuelle des taux de t-HCY suggère l'existence de facteurs modulateurs. Deux profils ont été identifiés : une HHCY associée à une carence en vitamines B et une HHCY isolée. Si la première s'explique principalement par des facteurs nutritionnels, la seconde semble relever d'une susceptibilité génétique. Le séquençage de nouvelle génération a en effet mis en évidence, une fréquence importante de variant rares du MMC chez les patients explorés (3/10), soutenant l'intérêt d'un dépistage ciblé dans une approche de médecine personnalisée. De plus, il a été retrouvé chez 40% d'entre eux un polymorphisme de la MTHFR du cycle des folates, ce qui représente une fréquence cohérente avec la littérature. Le gène *MTHFR* code pour l'enzyme méthylènetétrahydrofolate réductase qui catalyse la conversion du 5,10-méthylènetétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate, un co-substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Le variant c.665C>T (p.A222V) correspond au variant C677T selon l'ancienne nomenclature et entraine la substitution d'un résidu alanine par un résidu valine dans le gène *MTHFR*. Les variant c.665C>T et c.1286A>C du gène *MTHFR* sont fréquemment observé dans la population occidentale, avec une fréquence de portage comprise entre 20 et 40%. Le variant c.665C>T à l'état homozygote produit une enzyme thermolabile avec une activité réduite de 50 à 70% et le variant *MTHFR* c.1286A>C à l'état homozygote entraine une diminution de l'activité enzymatique de 30 à 50 %. Ces 2 variants à l'état homozygotes sont souvent responsable d'une augmentation de la t-HCY surtout en présence de carence associée en folate. Le portage hétérozygote de ces polymorphismes entraine une diminution de 10 à 30% de l'activité de la MTHFR sans hyperhomocystéinémie (Guéant-Rodriguez et al. 2006 ; Zappacosta et al., 2014 ; Nefic et al., 2018 ; Araszkiewicz et al., 2025). La recherche de variants *MTHFR* pourrait mener en clinique à une supplémentation en acide folique chez les patients MH, réduisant l'HHCY et ses conséquences neurologiques.

Sur le plan clinique, dans notre étude l'HHCY est associée à une progression plus rapide des symptômes moteurs et corrèle significativement avec la vitesse d'aggravation du score UHDRS moteur, indépendamment de l'âge et de la longueur des triplets CAG. Ces données suggèrent que l'HHCY pourrait constituer un facteur métabolique contribuant à la neurodégénérescence plutôt qu'un simple épiphénomène. Ces résultats sont à mettre en parallèle avec ceux obtenus dans la MP qui montre une implication de la t-HCY dans la progression des symptômes moteurs et cognitifs (Christine et al. 2018a). De plus, dans une étude réalisée au stade précoce de la MP en 2018 (Luthra et al. 2018), un taux faible en vitamine B12 prédisait une aggravation plus importante de la mobilité, tandis qu'un taux élevé d'HCY prédisait un déclin cognitif plus important à 2 ans d'évolution.

Nous avons mis en évidence que HHCY est particulièrement fréquente et marquée aux stades présymptomatiques et précoces de la maladie de MH. Ces résultats suggèrent l'existence d'une vulnérabilité métabolique précoce dans cette pathologie, pouvant participer aux mécanismes physiopathologiques initiaux conduisant à une neurodégénérescence progressivement accélérée. Dans ce contexte, l'HHCY pourrait favoriser l'instabilité génomique et l'expansion somatique des répétitions CAG via le stress oxydant, les dommages à l'ADN et des altérations des mécanismes de réparation de l'ADN (Fenech 2010b; Guéant et al. 2013; Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025).

Enfin, l'association observée entre l'HHCY et une symptomatologie initiale caractérisée par des manifestations comportementales et dysexécutives renforce l'hypothèse d'un lien entre une élévation de l'homocystéine et l'émergence précoce d'un phénotype cognitivo-comportemental précoce.

Nos résultats suggèrent l'intérêt d'un dépistage et d'une surveillance systématique de l'homocystéinémie ainsi que du statut en vitamines du groupe B chez les patients atteints de MH, afin d'identifier précocement d'éventuelles perturbations du MMC.

Ils ouvrent également des perspectives pour le développement et l'évaluation de stratégies thérapeutiques ciblant la voie de transsulfuration. Ainsi, un traitement avec la N-Acétylcystéine, qui agit comme précurseur de la cystéine, du glutathion et du glutamate a déjà montrer un effet neuroprotecteur majeur dans des modèles murins de la MH (Chakraborty et al. 2025).

Des études longitudinales, intégrant à la fois des critères cliniques composites et des biomarqueurs évalués de manière répétée, seront nécessaires afin de déterminer si l'HHCY constitue un facteur modifiable susceptible d'influencer la progression de la MH.

CONCLUSION

Cette étude est la première à montrer des niveaux de t-HCY et une prévalence de l'HHCY significativement plus élevés chez les patients atteints de la MH. Cette HHCY semble corréler avec une aggravation la progression de la MH et contribuer à sa variabilité clinique. Ces résultats soulignent l'importance d'identifier et de traiter les carences nutritionnelles et les troubles liés au MMC pour gérer l'HHCY. L'évaluation des concentrations de vitamines du groupe B et de l'homocystéinémie devrait être intégrée à la pratique clinique dans le suivi des patients atteints de la MH. Par ailleurs, le dépistage et la correction des carences en vitamines du groupe B, associés à des stratégies visant à normaliser les concentrations d'homocystéine, pourraient constituer une approche thérapeutique complémentaire dans la prise en charge de cette pathologie.

B- Article complet soumis : Hyperhomocystéinémia and vitamin B deficiency as aggravating factors in Huntington's disease : A prospective monocentric study

Salomé Puisieux, MD, PhD *1,2; Elise Pourié, MSc *2; Céline Bonnet, MD, PhD 2,3; Lucie Hopes, MD 1; Solène Frismand, MD 1; Myriam Bronner, MSc 2; Virginie Roth, PhD 2; Marion Wandzel, PharmaD 2; Natacha Sloboda, MD 4; Laetitia Lambert, MD 5; Abderrahim Oussalah, MD, PhD 2,6,7; Amélia Julien, MSc 2, Irina Rotaru, MD 2,6; Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, MD, PhD 2,6,7; Jean Louis Guéant, MD, PhD 2,6,7; Carine Bossenmeyer-Pourié, PhD +2; Mathilde Renaud, MD, PhD +1,2,5

Affiliations:

1 Department of Neurology, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.
2 University of Lorraine, INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics, and Environmental Risk Exposure (NGERE), Faculty of Medicine of Nancy, F-54000 Nancy, France.
3 Laboratory genetics, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.
4 Department of Clinical Neurogenetics, Hospital of Metz, F-57530 Ars-Laquenexy, France.
5 Department of Clinical Neurogenetics, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France
6 Medical Laboratory Reference Center for Inborn Errors of Metabolism (ORPHA67872), University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France
7 Department of Genomic Medicine, Division of Biochemistry, Molecular Biology, and Nutrition, University Hospital of Nancy, F-54000 Nan

* These authors have contributed equally.
+ These authors contributed equally.
Corresponding author: Dr Salomé PUISIEUX s.puisieux@chru-nancy.fr
Department of Neurology, University Hospital of Nancy

1- Abstract

Background: Although not confirmed, some studies have suggested that elevated homocysteine levels are common in patients with Huntington's disease (HD). Its clinical relevance remains unclear.

Objectives: We aimed to assess vitamin B and homocysteine levels in HD patients and explore the relationships among hyperhomocysteinemia, vitamin B deficiency, and motor symptom progression. As a secondary objective, we studied the associations between hyperhomocysteinemia and one-carbon metabolism (1-CM) polymorphisms.

Methods: In this monocentric case–control study, 77 HD patients were prospectively included between January 2020 and June 2023 at Nancy University Hospital. As controls, biological data were obtained from 134 healthy individuals enrolled at the Nancy Preventive Medicine Center, and from 194 non-HD patients admitted to the Department of General Neurology. HD patients underwent clinical (motor Unified Huntington Disease Rating Scale), biochemical (vitamin B and homocysteine levels), and genetic (1-CM polymorphisms) evaluations. Fisher's exact test, Wilcoxon test, or Student's t test was used, with $p<0.05$ considered significant.

Results: HD patients—both symptomatic and premanifest—had significantly higher homocysteine levels than controls did. Hyperhomocysteinemia was found in 36 patients (≈48%) and was associated with faster motor progression (*p<0.001*). Rare 1-CM metabolism polymorphisms were more common (37.5%) than in the general population.

Conclusions: Hyperhomocysteinemia is common in HD patients and may be a risk factor contributing to phenotypic variability. Systematic screening and follow-up for homocysteine status should become a general clinical practice in HD. Reversing hyperhomocysteinemia could offer a new therapeutic approach for HD, a disease that remains incurable for the time being.

2- Introduction

Huntington's disease (HD) is an autosomal-dominant neurodegenerative disorder marked by chorea, cognitive decline, and behavioral changes (Walker 2007b), caused by a toxic gain-of-function mutation in the huntingtin (HTT) protein due to expanded CAG repeats (>39) (« A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group » 1993).

Despite its single-gene origin, HD shows high phenotypic variability and unclear pathophysiology (G. P. Bates et al. 2015b).

Hyperhomocysteinemia (HHCY), linked to disrupted one-carbon metabolism (1-CM), is associated with neurodegenerative diseases such as Alzheimer's (M. Sharma et al. 2015b; Al-kuraishy et al. 2023) and Parkinson's (Al-kuraishy et al. 2023; Zhou et al. 2022; Bakeberg et al. 2019b; Christine et al. 2018b), but its role in HD remains underexplored. Homocysteine (HCY) arises from methionine demethylation in 1-CM, which includes the folate cycle, methionine cycle, and transsulfuration pathway (Myte et al. 2017) (Supplemental Fig. 1). Methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) converts folates to 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF), which remethylates HCY to methionine via vitamin B12-dependent methionine synthase (MS), or HCY enters the transsulfuration pathway, where vitamin B6-dependent CBS and CSE generate cysteine and glutathione. HTT regulates this pathway (Sbodio et al. 2019b) through interactions with CBS and specificity protein 1 (SP1) which controls CSE expression. CSE expression is also controlled by activating transcription factor 4 (ATF4). Under oxidative stress, cysteine is used for glutathione production, triggering ATF4 to upregulate CSE and restore cysteine/glutathione levels.

Any factor impairing 1-CM—including vitamin B6/B12/folate deficiency, sex, medications, kidney dysfunction, or genetic variants—can elevate HCY plasma level (t-HCY) (Levy et al. 2021).

In HD, mutant HTT (mHTT) disrupts the transsulfuration pathway by sequestering SP1 and reducing CSE expression, raising HCY and reactive oxygen species (ROS) levels (Sbodio et al. 2019b; Paul et al. 2014b). Progressive ROS accumulation also suppresses ATF4 (Sbodio et al. 2019b). Altered CBS–mHTT interactions may further impair this pathway (Paul et al. 2022a; Boutell et al. 1998). Brune et al. (Brune et al. 2004b) reported that HD patients with the homozygous *MTHFR-1298CC* polymorphism have earlier symptom onset.

Considering these data, we hypothesize that nutritional or genetic causes of HHCY may increase HD onset risk and severity. This monocentric case–control study aimed to (1) measure t-HCY in symptomatic and premanifest HD patients and (2) examine associations between vitamin B deficiency, HHCY, and motor progression, with a secondary objective of studying the association between HHCY and inherited 1-CM disorders.

3- Material and methods

Study Design and Subjects

We conducted a prospective, cross-sectional, case–control study at the HD center, University Hospital of Nancy, France. We recruited 77 HTT mutation carriers (CAG>39) from January 2020 to June 2023. Exclusion criteria were age <18, inability to follow up, pregnancy, or cognitive impairment affecting study comprehension. Patients were assessed during routine follow-up, with a single expert visit involving clinical data collection, standardized scales, and biological testing, all performed by a certified “Unified Huntington’s Disease Rating Scale” (UHDRS) examiner. Medical chart data were also used.

As healthy controls, biological data from 134 healthy individuals (Guéant-Rodriguez et al. 2006) were obtained from the database of the hospital’s Preventive Medicine Center.

Ethics

All participants or legal representatives signed non-opposition forms authorizing the use of data for research purposes. Biochemical data were retrieved from the Nancy Biochemical Database, with ethical approval and CNIL registration (No. 1763197v0). The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

Data collection

Collected data included: 1. General clinical data (patient's medical history, family medical history, current treatments, previous treatments, patient/relative-reported date of first symptoms, patient/relative-reported date of motor symptoms). 2. First symptom(s) reported by patients/relatives: a. Motor symptoms corresponding to at least one of the following: chorea, dystonia, rigidity, akinesia, gait disorders. b. Cognitive dysexecutive syndrome corresponding to at least one of the following symptoms: psychomotor slowing, attentional disorders, impairment of working memory, impairment of mental flexibility and mental strategy, or mental rigidity. c. Behavioral dysexecutive syndrome corresponding to at least one of the following symptoms: impulsivity, irritability, aggressiveness, social behavior disorders, emotional lability and apathy. d. Anxious and/or depressive symptoms. 3. The Unified Huntington Disease Rating Scale - Total Motor Score (UHDRS-TMS) (« Unified Huntington’s Disease Rating Scale » 1996b), which was used to determine the severity of motor symptoms in HD patients. The UHDRS-TMS provides a uniform clinical rating of the motor function of HD patients. It includes 15 items to assess symptoms, such as

chorea, dystonia, and rigidity, and each item is rated on a scale ranging from 0 (“normal”) to 4 (“cannot perform/severe problems”). Higher scores indicate increased motor dysfunction. We defined premanifest patients as patients with UHDRS-TMS ≤ 5 (Tabrizi et al. 2009) and symptomatic patients as patients with UHDRS-TMS > 5. 4. Cytobiochemical data (complete blood count, C-reactive protein, albumin, proalbumin, t-HCY, acid methylmalonic, vitamin B12, vitamin B6 and RBC folate levels). 5. Genetic data (CAG repeats, next-generation sequencing of 4813 genes via the TruSight One sequencing panel).

To compare motor progression between patients, we estimated each patient’s motor progression rate corresponding to the UHDRS-TMS at inclusion divided by the duration of motor symptoms (UHDRS-TMS/MD). The duration of motor symptoms was estimated on the basis of the declarative onset of motor symptoms collected from the patient and/or relatives. Because the UHDRS-TMS lose linearity beyond the early stages of Huntington’s disease (Youssov et al. 2013; Hogarth et al. 2005; Huntington Study Group 2006; Siesling et al. 1998; Tabrizi et al. 2011) due to ceiling effects, we restricted our analysis to patients with less than five years of motor progression. During this period, longitudinal studies consistently show an approximately linear increase in TMS, supporting the use of annualized progression rates. Previous works (Dorsey et al. 2013; Tabrizi et al. 2013b; Koval et al. 2022) confirmed that TMS changes are reliably linear and valid markers of disease progression in early-stage HD. Furthermore, restricting our analysis to HD patients with a disease duration of less than five years minimized recall error in onset dating.

Laboratory assays

Vitamin B12/folate measured via Immunoassay Reagent Atellica® (Siemens), B6 by high-performance liquid chromatography (HPLC) (Shimadzu), HCY and methylmalonic acid (MMA) by ultra-performance liquid chromatography (UPLC)-MS/MS via an ACQUITY UPLC BEH C18 column (1.7 µm, 2.1 × 50 mm; Waters Corporation). HHCY defined as t-HCY >15 µmol/L, B6 deficiency <20 nmol/L, RBC folate <270 nmol/L, B12 deficiency <150 pmol/L. Other labs included C-reactive protein (CRP), albumin, glomerular filtration rate (GFR) via the Chronic Kidney Disease–EPIdemiology formula (CKD-EPI), hemoglobin, and MCV (Atellica Analyser (Siemens)).

Biological results were stratified according to premanifest or symptomatic status, sex and age (20-39, 40-49, 50-59 and 60-80 years).

Genotyping of polymorphisms of genes involved in one-carbon metabolism via next-generation clinical exome sequencing

Next-generation sequencing (NGS) exome analysis was proposed for patients in whom no other cause of HHCY or vitamin B deficiency was identified. The genotyping of frequent polymorphisms of *MTHFR* (NM_005957.5: c.665C > T), (NM_005957.4: c.1286A > C), *MTRR* (NM_002454.3: c.66A > G), (NM_002454.3: c.524C > T), and *MTR* (NM_000254.2: c.2756A > G) was performed via fluorescence resonance energy transfer on a LightCycler LC480 instrument.

We performed a molecular diagnostic approach based on the NGS data of 4813 genes via the TruSight One sequencing panel. All of the details related to the panel, including the technical note and the gene list, are available at https://emea.illumina.com/products/bytype/clinical-research-products/trusight-one.html. The complete NGS procedure can be found in the supplemental data (Supplemental Data: NGS procedure).

Statistical analyses

Categorical variables are reported as counts (%), continuous as mean ± SD. Differences between controls and HD patients, and between HD patients with or without HHCY or vitamin B deficiency, were assessed using Fisher's exact test for categorical and Wilcoxon or Student's tests for continuous variables.

Linear regression (adjusted for age/sex) analyzed biomarkers; skewed data log10-transformed. Motor progression analyzed across four groups: normal, isolated HHCY, vitamin B deficiency, HHCY + vitamin B deficiency. Kaplan-Meier curves described progression; linear regression compared groups. Spearman correlation and multivariable logistic regression assessed HHCY predictors. Benjamini–Hochberg FDR corrected multiple comparisons; $p<0.05$ considered significant. Analyses performed in XLSTAT and Stata 19.5.

To assess the rate of motor progression over the time (UHDRS-TMS/MD) across the HD patients according with HCY and vitamin B status four groups were defined: i. HCY and vitamin B normal; ii isolated HHCY; iii vitamin B deficiency without HHCY; and iv HHCY and vitamin B deficiency, Kaplan-Meier curves were generated with the Y-axis inverted so that 0% is at the top and 100% at the bottom. As all patients had reached the event, these curves are descriptive only. To statistically compare progression between groups, linear regression models were performed with the score as the dependent variable and group as the independent variable, using group 1 as the reference.

Model assumptions were checked, and robust standard errors were applied when appropriate.

We performed multivariate analysis using Spearman's rank correlations on clinical, genetic, and biochemical data (global n=77; symptomatic n=62; premanifest n=15) and multivariable logistic regression to identify HHCY predictors, including age, UHDRS-TMS/MD, and CAG repeat lengths.

Multiple comparisons were controlled using the Benjamini–Hochberg false discovery rate. Two-sided p<0.05 was considered significant. Analyses were done in XLSTAT and Stata (version 19.5) (StataCorp, College Station, TX, USA).

4- RESULTS

Clinical and paraclinical features of *HTT* gene mutation carriers

Seventy-seven *HTT* mutation carriers were included (Table 1). Fifteen carriers were premanifest (UHDRS-TMS<5). Among the 62 symptomatic patients, the mean age at onset was 43.9±13.6 years, with a mean UHDRS-TMS of 26.7±20.6. HHCY was present in 39/77 patients (51%), with a mean HCY level of 18.2±20.6 µmol/L. Multivariate analysis revealed a moderate negative correlation between CAG allele 1 repeats whereas age and CAG allele 2 were not statistically significant and t-HCY (r = -0.311, *p<0.05*); and a strong negative correlation with age of onset (r = -0.727, *p<0.001*).

Nutritional, metabolic and renal causes of HHCY

Among 77 HD patients, 23 (29.9%) had isolated HHCY and 16 (20.8%) HHCY with vitamin B deficiency: 13 (16.9%) with B6 deficiency and one each (1.3%) with B12, folate+B12, and B6+B12 deficiencies. Isolated vitamin B deficiency occurred in 9 patients (11.7%). No B12 deficiency was associated with anemia or elevated MMA; one patient showed isolated MMA elevation, and none were anemic. Renal function (n=57) was normal in 77.2% (n=44), mildly impaired in 19.3% (n=11), and moderately impaired in 3.5% (n=2), with HHCY present in only one patient with moderate impairment (t-HCY 18.4 µmol/L). One patient treated with levodopa had HHCY (31.7 µmol/L) without vitamin B deficiency and carried a pathogenic CBS mutation (c.833T>C, p.Ile278Thr, class 5).

Age- and sex-related changes in homocysteine levels in HD population

Mean t-HCY levels were significantly higher in HD patients than in healthy controls (n=134) across all ages and in both symptomatic and premanifest groups (*p<0.001*; Table 2). HD patients also showed higher serum vitamin B12 and folate levels (*p<0.001*). HHCY prevalence was greater in HD men (46.9%) and women (44.5%) than in healthy men (10%) and women (0%) (all p<0.001). After age

and sex adjustment, HD status remained associated with higher HCY and folate levels (log-HCY β=0.17; log-folate β=0.17; both *p<0.001*, FDR-adjusted), whereas vitamin B12 levels did not differ. Linear regression models with log-transformed biomarkers and robust standard errors were used. Age-related trends are shown in Fig. 1 and Supplemental Table 1, with t-HCY increasing with age. Compared with healthy patients (n=134), t-HCY was significantly higher in HD in all age groups.

Genetic determinants of HHCY

NGS was performed in 10/77 patients (13%) with unexplained HHCY or vitamin B deficiency, identifying relevant variants in 7/10 (70%) (Table 4). Three patients (37.5%) carried rare variants (AAF<0.05) affecting 1-CM or B12 metabolism— *MMACHC* (c.617G>A (p.Arg206Gln), class 4), which affects B12 absorption; *CBS* (c.833T>C (p.Ile278Thr), class 5), which is part of the transsulfuration pathway; and *MTHFR* (c.1409A>T (p.Glu470Val), class 3—all associated with HHCY without vitamin B deficiency. These variants seemed to be 70–80 times more common than in the general population (Weber Hoss et al. 2020; C. Wang et al. 2019). Common MTHFR polymorphisms c.1286A>C (20%) and c.665C>T (37.5%) were also identified at expected population frequencies (Guéant-Rodriguez et al. 2006). Five patients had HHCY, and two had mild B6 deficiency.

Association of HHCY with clinical and paraclinical features in symptomatic HD

Among 62 symptomatic patients, 30 (48.8%) had HCY (Supplemental Table 2), including 15 (24.2%) isolated HHCY. HHCY was predominantly observed in patients with disease duration <5 years (n=39), accounting for 83% (25/30) of all HHCY and 73% (11/15) of isolated HHCY cases; in this subgroup, HHCY and isolated HHCY prevalences were 64% (25/39) and 28% (11/39), respectively. Beyond 5 years, prevalences declined to 22% and 17%. CAG repeat length did not differ between groups, but patients with HHCY and/or vitamin B deficiency showed significantly faster motor progression (higher UHDRS-TMS/MD; *p<0.001*; Table 3). Logistic regression confirmed a strong association between HHCY and high motor progression rate (OR=13.66, 95% CI 2.82–66.17, *p=0.001*), despite the limited sample size of the study population, which was reflected by the large 95% CI.

In early-stage HD (<5 years; n=39), patients were divided into four groups: isolated HHCY, HHCY with vitamin B deficiency, isolated vitamin B deficiency, and those without HHCY or vitamin B deficiency. Isolated HHCY (n=8) or HHCY with vitamin B deficiency (n=11) was associated with significantly faster motor progression compared with patients without HHCY or vitamin B deficiency (*p<0.001*), whereas isolated vitamin B deficiency (n=5) was not (*p=0.1*).

Kaplan–Meier curves (Fig. 2) illustrating the progression of UHDRS-TMS scale under time according to groups defined by HCY and vitamin B12 status in patients at the early stage (motor progression <5 years). All patients had a motor progression, so curves are descriptive representations of the timing and rate of progression. Patients with HHCY showed faster progression compared with HCY and vitamin B normal. Y-axis is displayed inverted (0% at the top, 100% at the bottom) to facilitate interpretation.

HHCY or vitamin B deficiency was also associated with behavioral-dysexecutive onset (*p=0.031*) (Table 3).

In multivariate analysis, homocysteine levels correlated moderately with motor symptom progression (r = 0.420, *p<0.001*) (Fig. 3A), whereas vitamin B levels and CAG repeat length (longer allele) were not significantly correlated (Fig. 3B–E).

Association of HHCY with premanifest HD

Among 15 premanifest patients, CAG repeat length did not differ by HHCY or vitamin B status (Supplemental Table 3). HHCY was present in 9/15 patients (60%), including 8/15 (53.3%) isolated HHCY (Supplemental Table 4)— constituting a higher prevalence than in symptomatic patients, though not statistically significant (*p=0.57*).

5- DISCUSSION

This prospective study of 77 patients is the first to examine the associations between HHCY, vitamin B deficiency, and HD onset and progression. We show that t-HCY levels are significantly higher in both symptomatic and premanifest HD patients than in controls across all ages, despite higher B12 and folate levels, and independently of CAG repeat length. Elevated t-HCY therefore appears to be a frequent and previously underrecognized feature of HD.

These findings partially contrast with Andrich et al. (Andrich et al. 2004), who reported elevated t-HCY only in advanced, treated HD patients (n=34; including antidepressants, neuroleptics, benzodiazepines, tetrabenazine, and anticholinergics). Their negative findings in mildly affected patients may reflect limited sample size and insufficient adjustment for age and sex, two major determinants of HHCY (age: 44±12 vs. 55±13 yo ; sex ratio M/F: 8/11 vs. 40/34).

At the cellular level, increased t-HCY in HD is consistent with impaired transsulfuration due to mutant HTT–mediated dysregulation of SP1, ATF4, CBS, and CSE, leading to homocysteine accumulation and oxidative stress (Sbodio et al. 2019b; Paul et al. 2014b, 2022a; Boutell et al. 1998; Paul et Snyder 2014).

Marked interindividual variability in t-HCY levels suggests additional modifiers. Two profiles emerged: HHCY with vitamin B deficiency (20.8%) and isolated HHCY (29.9%). While nutritional deficiency explains the former, isolated HHCY may reflect genetic susceptibility. Indeed, NGS identified 1-CM–related variants in 70% of tested patients, including rare variants markedly enriched compared with the general population (37.5%) (C. Wang et al. 2019; Weber Hoss et al. 2020). This supports the value of screening for such polymorphisms in HD patients with HHCY, to provide more personalized care. Although no prior study has examined these variants in HD, earlier reports on *MTHFR-1298CC* polymorphism yielded conflicting results, underscoring the need for further investigation (W. Hansen et al. 2005b; Brune et al. 2004b).

Clinically, HHCY was associated with faster motor progression and correlated with UHDRS-TMS/MD ($p<0.001$), independent of age and CAG repeats, supporting a role for HHCY as a metabolic contributor to neurodegeneration rather than a mere epiphenomenon. This aligns with prior work suggesting t-HCY as a biomarker of ongoing neurodegeneration in HD, supported by the positive correlation between t-HCY levels and UHDRS scores reported by Andrich et al. in mildly affected untreated patients (Andrich et al. 2004b).

Importantly, similar associations have been reported in other neurodegenerative disorders, notably Parkinson’s disease (PD), supporting a broader cross-disease relevance of HHCY. Bakeberg et al. (Bakeberg et al. 2019b) reported a positive correlation between t-HCY and MDS-UPDRS III motor (Movement Disorder Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale-part III) scores in men, and a negative correlation between t-HCY and ACE-R cognitive scores (Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised) in women with PD and HHCY, compared with PD controls without elevated t-HCY. Moreover, in an early-stage PD cohort (Christine et al. 2018b), low vitamin B12 levels at diagnosis predicted greater motor deterioration, while elevated t-HCY levels predicted greater cognitive deterioration over two years.

Together, these converging findings across HD and PD strengthen the hypothesis that HHCY is not disease-specific but may represent a shared metabolic mechanism contributing to neurodegeneration and clinical progression in multiple neurodegenerative diseases.

HHCY was particularly prevalent in premanifest and early symptomatic stages, consistent with models proposing early neurodevelopmental vulnerability followed by accelerated neurodegeneration (Estevez-Fraga et al. 2023; Mangin et al. 2020; Barnat et al. 2020). HHCY could be one of the pathological mechanisms leading to neurodegeneration. By inducing oxidative stress, HHCY may promote somatic CAG expansion through impaired DNA repair (Pradhan et al. 2022), facilitating attainment of the pathogenic repeat threshold— beyond which cells become vulnerable — and triggering neurodegeneration (Handsaker et al. 2025b). This mechanism may also explain the lower prevalence of HHCY in patients with longer disease duration, as faster progression could lead to earlier advanced disease, institutionalization, or death, reducing their likelihood of follow-up.

We also observed an association between HHCY and behavioral-dysexecutive onset, consistent with data from AD linking elevated t-HCY to behavioral symptoms (Luzzi et al. 2022; Z. Zheng et al. 2014). These results support our finding that behavioral symptoms are more frequent as an initial sign in HD patients with HHCY.

These findings support routine monitoring of homocysteine and vitamin B levels in HD patients, early correction of deficiencies, and attention to behavioral symptoms as potential markers of HHCY and early disease activity. Therapeutic strategies targeting the transsulfuration pathway —through cysteine supplementation (Paul et al. 2014b) or CSE induction (Sbodio et al. 2018)— have shown benefit in HD models and warrant clinical consideration.

Pathophysiologically, HHCY is a risk factor for several neurodegenerative diseases (Bossenmeyer-Pourié et al. 2019b; M. Sharma et al. 2015b) and has harmful effects, such as N-homocysteinylation (Padovani 2017; J. Perła-Kaján et al. 2007b; Joanna Perła-Kaján et Jakubowski 2019). Over 80% of circulating HCY is protein-bound. HCY binds proteins via reversible S-homocysteinylation at normal t-HCY or irreversible N-homocysteinylation in the case of HHCY, which leads to protein aggregation and dysfunction (Hieronim Jakubowski et Głowacki 2011; Hieronim Jakubowski 2019; Silla et al. 2019). (Bossenmeyer-Pourié et al. 2019b) reported increased N-homocysteinylation of tau and other MAPs (microtubule-associated proteins) in the brain of those

affected by AD, disrupting their protein interactions and aggravating their aggregation. We hypothesize that HHCY in HD may similarly promote protein aggregation via N-homocysteinylation, contributing to age-related neurodegeneration.

The strengths of this study include its prospective design, sample size, and inclusion of premanifest patients. A limitation of our study is that the motor progression rate was calculated using the patient-reported age at onset. However, this information was collected independently of participants' clinical or biological status, thereby minimizing potential bias. Another concern that could be raised is that the UHDRS-TMS score does not remain linear beyond the early stages of HD. Indeed, after the first few years of motor progression, score saturation reduces the linearity of UHDRS-TMS changes (Youssov et al. 2013; Hogarth et al. 2005; Huntington Study Group 2006; Siesling et al. 1998; Tabrizi et al. 2011). To address this limitation, we conducted an additional analysis restricted to participants with a motor disease duration of less than five years, in order to minimize the potential bias introduced by ceiling effects of the UHDRS-TMS and inaccuracies in the reported age at onset. Another significant limitation of our study is the absence of cognitive and functional assessments, which are now recommended in HD clinical research (Tabrizi et al. 2022b).

Future longitudinal studies should integrate composite clinical outcomes with repeated biomarker assessments to validate HHCY as a modifiable contributor to HD progression and to evaluate HHCY-lowering interventions.

6- CONCLUSION

This study is the first to demonstrate markedly elevated t-HCY levels and a high HHCY prevalence (51%) in HD patients, alongside a notable frequency of rare 1-CM–related polymorphisms (37.5%). HHCY may exacerbate HD and contribute to its clinical variability, highlighting the critical need to identify and correct nutritional deficiencies and 1-CM disorders. Routine monitoring of vitamin B and homocysteine should become standard in HD care. If validated, such monitoring and targeted interventions could represent a novel therapeutic strategy for this currently incurable disease.

Acknowledgments

The authors thank the families for their participation in this project.

Authors' Roles

Concept, design, material preparation, data analysis, writing, and editing of the final version of the manuscript: S.P. Statistical analyses S.P. and R.M.G.R Concept and design: S.P., E.P., C.B.P., M.R., J.L.G. and R.M.G.R. Review and critique: C.B.P., M.R., J.L.G., R.M.G.R., C.B., L.H., S.F., M.B., V.R., M.W., N.S., L.L., A.O., A.J. and I.R.

Data availability

The data analyzed in this study can be accessed upon reasonable request to the corresponding author.

Financial disclosures

No author has any financial disclosures to report.

Conflicts of interest

None to report.

7- BIBLIOGRAPHY

1. Walker FO. Huntington's disease. *The Lancet*. 2007;369(9557):218-228. doi:10.1016/S0140-6736(07)60111-1
2. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell*. 1993;72(6):971-983. doi:10.1016/0092-8674(93)90585-e
3. Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, et al. Huntington disease. *Nat Rev Dis Primer*. 2015;1:15005. doi:10.1038/nrdp.2015.5
4. Sharma M, Tiwari M, Tiwari RK. Hyperhomocysteinemia: Impact on Neurodegenerative Diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2015;117(5):287-296. doi:10.1111/bcpt.12424
5. Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Elewa YHA, et al. Parkinson's Disease Risk and Hyperhomocysteinemia: The Possible Link. *Cell Mol Neurobiol*. 2023;43(6):2743-2759. doi:10.1007/s10571-023-01350-8
6. Zhou L, Guo T, Meng L, et al. N-homocysteinylation of α-synuclein promotes its aggregation and neurotoxicity. *Aging Cell*. 2022;22(3):e13745. doi:10.1111/acel.13745
7. Bakeberg MC, Jefferson A, Riley M, et al. Elevated Serum Homocysteine Levels Have Differential Gender-Specific Associations with Motor and Cognitive States in Parkinson's Disease. *Park Dis*. 2019;2019:3124295. doi:10.1155/2019/3124295
8. Christine CW, Auinger P, Joslin A, Yelpaala Y, Green R, Parkinson Study Group-DATATOP Investigators. Vitamin B12 and Homocysteine Levels Predict Different Outcomes in Early Parkinson's Disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 2018;33(5):762-770. doi:10.1002/mds.27301
9. Myte R, Gylling B, Häggström J, et al. Untangling the role of one-carbon metabolism in colorectal cancer risk: a comprehensive Bayesian network analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):43434. doi:10.1038/srep43434
10. Sbodio JI, Snyder SH, Paul BD. Regulators of the transsulfuration pathway. *Br J Pharmacol*. 2019;176(4):583-593. doi:10.1111/bph.14446
11. Levy J, Rodriguez-Guéant RM, Oussalah A, et al. Cardiovascular manifestations of intermediate and major hyperhomocysteinemia due to vitamin B12 and folate deficiency and/or inherited disorders of one-carbon metabolism: a 3.5-year retrospective cross-sectional study of consecutive patients. *Am J Clin Nutr*. 2021;113(5):1157-1167. doi:10.1093/ajcn/nqaa432

12. Paul BD, Sbodio JI, Xu R, et al. Cystathionine γ-lyase deficiency mediates neurodegeneration in Huntington's disease. *Nature*. 2014;509(7498):96-100. doi:10.1038/nature13136
13. Paul BD, Sbodio JI, Snyder SH. Mutant Huntingtin Derails Cysteine Metabolism in Huntington's Disease at Both Transcriptional and Post-Translational Levels. *Antioxidants*. 2022;11(8):1470. doi:10.3390/antiox11081470
14. Boutell JM, Wood JD, Harper PS, Jones AL. Huntingtin interacts with cystathionine beta-synthase. *Hum Mol Genet*. 1998;7(3):371-378. doi:10.1093/hmg/7.3.371
15. Brune N, Andrich J, Gencik M, et al. Methyltetrahydrofolate reductase polymorphism influences onset of Huntington's disease. *J Neural Transm Suppl*. 2004;(68):105-110. doi:10.1007/978-3-7091-0579-5_12
16. Guéant-Rodriguez RM, Guéant JL, Debard R, et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase *677T* and *1298C* alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations2. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(3):701-707. doi:10.1093/ajcn.83.3.701
17. Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Huntington Study Group. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 1996;11(2):136-142. doi:10.1002/mds.870110204
18. Tabrizi SJ, Langbehn DR, Leavitt BR, et al. Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data. *Lancet Neurol*. 2009;8(9):791-801. doi:10.1016/S1474-4422(09)70170-X
19. Youssov K, Dolbeau G, Maison P, et al. Unified Huntington's disease rating scale for advanced patients: Validation and follow-up study. *Mov Disord*. 2013;28(12):1717-1723. doi:10.1002/mds.25654
20. Hogarth P, Kayson E, Kieburtz K, et al. Interrater agreement in the assessment of motor manifestations of Huntington's disease. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 2005;20(3):293-297. doi:10.1002/mds.20332
21. Huntington Study Group. Tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington disease: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2006;66(3):366-372. doi:10.1212/01.wnl.0000198586.85250.13
22. Siesling S, van Vugt JP, Zwinderman KA, Kieburtz K, Roos RA. Unified Huntington's disease rating scale: a follow up. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 1998;13(6):915-919. doi:10.1002/mds.870130609
23. Tabrizi SJ, Scahill RI, Durr A, 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*. 2011;10(1):31-42. doi:10.1016/S1474-4422(10)70276-3
24. Dorsey ER, Beck CA, Darwin K, et al. Natural History of Huntington Disease. *JAMA Neurol*. 2013;70(12):1520-1530. doi:10.1001/jamaneurol.2013.4408
25. Tabrizi SJ, Scahill RI, Owen G, 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*. 2013;12(7):637-649. doi:10.1016/S1474-4422(13)70088-7
26. Koval I, Dighiero-Brecht T, Tobin AJ, et al. Forecasting individual progression trajectories in Huntington disease enables more powered clinical trials. *Sci Rep*. 2022;12(1):18928. doi:10.1038/s41598-022-18848-8
27. Weber Hoss GR, Sperb-Ludwig F, Schwartz IVD, Blom HJ. Classical homocystinuria: A common inborn error of metabolism? An epidemiological study based on genetic databases. *Mol Genet Genomic Med*. 2020;8(6):e1214. doi:10.1002/mgg3.1214
28. Wang C, Li D, Cai F, et al. Mutation spectrum of MMACHC in Chinese pediatric patients with cobalamin C disease: A case series and literature review. *Eur J Med Genet*. 2019;62(10):103713. doi:10.1016/j.ejmg.2019.103713
29. Andrich J, Saft C, Arz A, et al. Hyperhomocysteinaemia in treated patients with Huntington's disease homocysteine in HD. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 2004;19(2):226-228. doi:10.1002/mds.10629
30. Paul BD, Snyder SH. Neurodegeneration in Huntington's disease involves loss of cystathionine γ-lyase. *Cell Cycle Georget Tex*. 2014;13(16):2491-2493. doi:10.4161/15384101.2014.950538
31. Hansen W, Saft C, Andrich J, et al. Failure to confirm influence of methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms on age at onset of Huntington disease. *J Negat Results Biomed*. 2005;4:12. doi:10.1186/1477-5751-4-12

32. Estevez-Fraga C, Altmann A, Parker CS, et al. Genetic topography and cortical cell loss in Huntington's disease link development and neurodegeneration. *Brain*. Published online August 17, 2023:awad275. doi:10.1093/brain/awad275
33. Mangin JF, Rivière D, Duchesnay E, et al. Neocortical morphometry in Huntington's disease: Indication of the coexistence of abnormal neurodevelopmental and neurodegenerative processes. *NeuroImage Clin*. 2020;26:102211. doi:10.1016/j.nicl.2020.102211
34. Barnat M, Capizzi M, Aparicio E, et al. Huntington's disease alters human neurodevelopment. *Science*. 2020;369(6505):787-793. doi:10.1126/science.aax3338
35. Pradhan S, Gao R, Bush K, Zhang N, Wairkar YP, Sarkar PS. Polyglutamine Expansion in Huntingtin and Mechanism of DNA Damage Repair Defects in Huntington's Disease. *Front Cell Neurosci*. 2022;16. doi:10.3389/fncel.2022.837576
36. Handsaker RE, Kashin S, Reed NM, et al. Long somatic DNA-repeat expansion drives neurodegeneration in Huntington's disease. *Cell*. 2025;188(3):623-639.e19. doi:10.1016/j.cell.2024.11.038
37. Luzzi S, Cherubini V, Falsetti L, Viticchi G, Silvestrini M, Toraldo A. Homocysteine, Cognitive Functions, and Degenerative Dementias: State of the Art. *Biomedicines*. 2022;10(11):2741. doi:10.3390/biomedicines10112741
38. Zheng Z, Wang J, Yi L, et al. Correlation between Behavioural and Psychological Symptoms of Alzheimer Type Dementia and Plasma Homocysteine Concentration. *BioMed Res Int*. 2014;2014:383494. doi:10.1155/2014/383494
39. Sbodio JI, Snyder SH, Paul BD. Golgi stress response reprograms cysteine metabolism to confer cytoprotection in Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(4):780-785. doi:10.1073/pnas.1717877115
40. Bossenmeyer-Pourié C, Smith AD, Lehmann S, et al. N-homocysteinylation of tau and MAP1 is increased in autopsy specimens of Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Pathol*. 2019;248(3):291-303. doi:10.1002/path.5254
41. Padovani D. Un nouveau lien entre des taux élevés d'homocystéine, les cancers et les maladies neurodégénératives. *médecine/sciences*. 2017;33:494-497. doi:10.1051/medsci/20173305012
42. Perła-Kaján J, Twardowski T, Jakubowski H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. *Amino Acids*. 2007;32(4):561-572. doi:10.1007/s00726-006-0432-9
43. Perła-Kaján J, Jakubowski H. Dysregulation of Epigenetic Mechanisms of Gene Expression in the Pathologies of Hyperhomocysteinemia. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13):3140. doi:10.3390/ijms20133140
44. Jakubowski H, Głowacki R. Chemical biology of homocysteine thiolactone and related metabolites. *Adv Clin Chem*. 2011;55:81-103. doi:10.1016/b978-0-12-387042-1.00005-8
45. Jakubowski H. Homocysteine Modification in Protein Structure/Function and Human Disease. *Physiol Rev*. 2019;99(1):555-604. doi:10.1152/physrev.00003.2018
46. Silla Y, Varshney S, Ray A, et al. Hydrolysis of homocysteine thiolactone results in the formation of Protein-Cys-S-S-homocysteinylation. *Proteins*. 2019;87(8):625-634. doi:10.1002/prot.25681
47. Tabrizi SJ, Schobel S, Gantman EC, et al. A biological classification of Huntington's disease: the Integrated Staging System. *Lancet Neurol*. 2022;21(7):632-644. doi:10.1016/S1474-4422(22)00120-X

8- FIGURES AND TABLES

Table 1: Characteristics of the 77 HD patients included in the study

Demographic data	n	mean ± SD
Age at onset of HD, years, mean ± SD	71/77	43.9 ± 13.5
Age at onset of motor symptoms, years, mean ± SD	62/77	46.9 ± 12.6
CAG repeat, longer allele, mean ± SD	77/77	43.5 ± 4.1
CAG repeat, shorter allele , mean ± SD	66/77	18.9 ± 4.0
HD duration, years, mean ± SD	71/77	6.5 ± 5.7
UHDRS-TMS, mean ± SD	77/77	26.7 ± 20.6
Treatments		% (n)
Methotrexate	77/77	0
Phenytoin	77/77	0
Carbamazepine	77/77	0
Phenobarbital	77/77	0
Metformin	77/77	0
Fibrates	77/77	0
Hydrochlorothiazide	77/77	0
Levodopa	77/77	1.3 (1)
Vitamin B-6 level, > 20 nmol/L, mean ± SD	75/77	36 ± 29.4
RBC folate level, > 270 nmol/L, mean ± SD	77/77	918 ± 262
Folates, serum level, > 7 nmol/L, mean ± SD	63/77	19.8 ± 10.3
Vitamin B-12 level, > 150 pmol/L, mean ± SD	77/77	340 ± 137
Homocysteine level, < 15 µmol/L, mean ± SD	77/77	18.2 ± 20.6
Methylmalonic acid, µmol/L, mean ± SD	76/77	0.36 ± 1.24
		% (n)
Anormal Methylmalonic acid		1.3 (1)
Hemoglobin, g/dL, mean ± SD	76/77	13.5 ± 3.3
MCV, fL, mean ± SD	76/77	89.8 ± 7.5
		% (n)
Macrocytosis		3.9 (3)
Microcytosis		3.9 (3)
Glomerular filtration rate, mL/min, mean ± SD	57/77	87.7 ± 6.8
		% (n)
No renal failure, >89 mL/min, mean ± SD		77.2 (44)
Mild renal failure, 60-89 mL/min, mean ± SD		19.3 (11)
Moderate renal failure, 30-59 mL/min, mean ± SD		3.5 (2)
Albumin, g/L, mean ± SD	61/77	41.9 ± 4.4
Prealbumin, g/L, mean ± SD	73/77	0.27 ± 0.06
C-reactive protein, mg/L, mean ± SD	71/77	4.9 ± 8.15
ASAT, U/L, mean ± SD	51/77	22.1 ± 8.8
ALAT, U/L, mean ± SD	51/77	23.2 ± 14.7
Total cholesterol, g/L, mean ± SD	42/77	1.94 ± 0.59
HDL cholesterol, g/L, mean ± SD	42/77	0.53 ± 0.13
LDL cholesterol, g/L, mean ± SD	42/77	1.22 ± 0.45
Triglycerides, g/L, mean ± SD	42/77	1.29 ± 0.87
Biological abnormalities		% (n)
Isolated hyperhomocysteinemia, %(n)		29.9 (23)
Isolated vitamin B-6 deficiency, %(n)		9.1 (7)
Isolated vitamin B-9 deficiency, %(n)		0
Isolated vitamin B-12 deficiency, %(n)		2.6 (2)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 deficiency, %(n)		1.3 (1)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-6 deficiency, %(n)		16.9 (13)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 and B-6 deficiencies, %(n)		1.3 (1)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 and B-9 deficiencies, %(n)		1.3 (1)

Abbreviations: HD = Huntington Disease, MCV = Mean Cell volume, RBC = Red blood cell, SD = Standard deviation, UHDRS = Unified Huntington's Disease Rating Scale.

Table 2 (short version): Comparison between Huntington's disease population and healthy controls**

	HD population			Healthy Control population			P Value
	n	Med	Mean ± SD	n	Med	Mean ± SD	
Homocysteine level, µmol/L							
All population	77	14.0	16.6 ± 8.3	91	10.3	10.6 ± 3.3	<0.001*
Symptomatic population	62	13.8	16.1 ± 8	91	10.3	10.6 ± 3.3	<0.001*
Premanifest population	15	16.9	18.5 ± 9.4	91	10.3	10.6 ± 3.3	<0.001*

Table 3: Characteristics of symptomatic HD population

	Patients without HHcy or vitamin B deficiency n=23	Patients with HHcy or vitamin B deficiency n=39	P Value
Age at onset of HD, years, mean ± SD	44.1 ± 9.4	45.1 ± 14.5	0.68
Age at onset of motor symptoms, years, mean ± SD	45.3 ± 12.1	48.2 ± 12,9	0,38
CAG repeat, longer allele, mean ± SD	44.8 ± 2.11	43.8 ± 3.4	0.11
CAG repeat, shorter allele, mean ± SD	18.2 ± 1.67	19.4 ± 5.2	0.66
HD duration, years, mean ± SD	10,1 ± 4,6	6,2 ± 5	<0.05*
Motor symptoms duration, years, mean ± SD	8.6 ± 5,1	3.2 ± 3.5	<0.05*
Vitamin B-6, nmol/L, mean ± SD	46 ± 32.6	25.7 ± 16.4	<0.001*
RBC folate level, nmol/L, mean ± SD	1104 ± 264	791 ± 293	<0.001*
Vitamin B-12, pmol/L, mean ± SD	416 ± 164	284 ± 135	<0.001*
Homocysteine, µmol/L, mean ± SD	10.5 ± 2.7	19.9 ± 9.3	< 1e-5*
Methylmalonic acid, µmol/L, mean ± SD	0.18 ± 0.1	0.25 ± 0.2	0,36
UHDRS-TMS, mean ± SD	39.9 ± 18.8	30.7 ± 15.8	0.32
Rate of motor progression, ratio UHDRS-TMS /Motor symptoms duration, mean ± SD	0.41 ± 0.19	1.18 ± 0.95	<0.001*
First reported symptom			
Motor symptoms, %(n)	69.6 (16)	41 (16)	<0.05*
Cognitive dysexecutive syndrome, %(n)	4.3 (1)	5.1 (2)	0.84
Behavioral dysexecutive syndrome, %(n)	8.7 (2)	35.9 (14)	<0.05*
Anxious and depressive symptoms, %(n)	17.4 (4)	17.9 (7)	1

*Considered significant

Abbreviations: HD = Huntington's disease, HHcy = Hyperhomocysteinemia, RBC = Red blood cell, SD = Standard deviation, UHDRS = Unified Huntington's Disease Rating Scale, UHDRS-TMS = Unified Huntington's Disease Rating Scale – Total Motor Score.

Fig 1

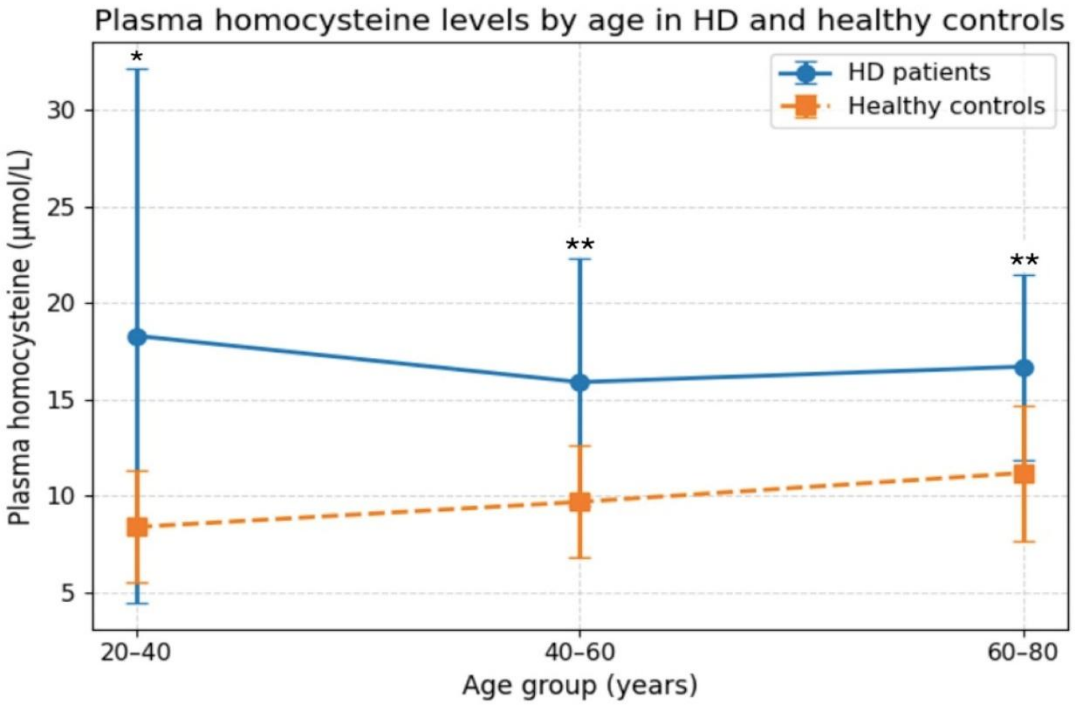

Plasma homocysteine levels by age in HD and healthy controls
HD patients
Healthy controls
Plasma homocysteine (µmol/L)
30
25
20
15
10
5
*
**
**
20-40
40-60
60-80
Age group (years)

Fig 2

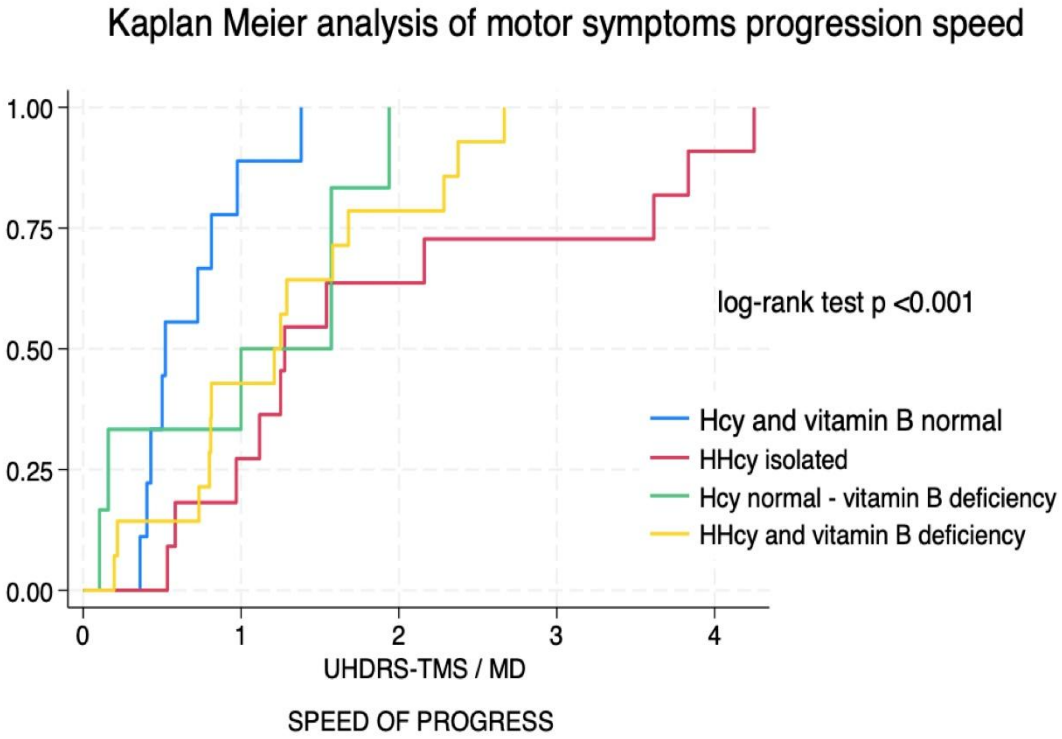

Kaplan Meier analysis of motor symptoms progression speed
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
1
2
3
4
UHDRS-TMS / MD
SPEED OF PROGRESS
log-rank test p <0.001
Hcy and vitamin B normal
HHcy isolated
Hcy normal - vitamin B deficiency
HHcy and vitamin B deficiency

Fig 3

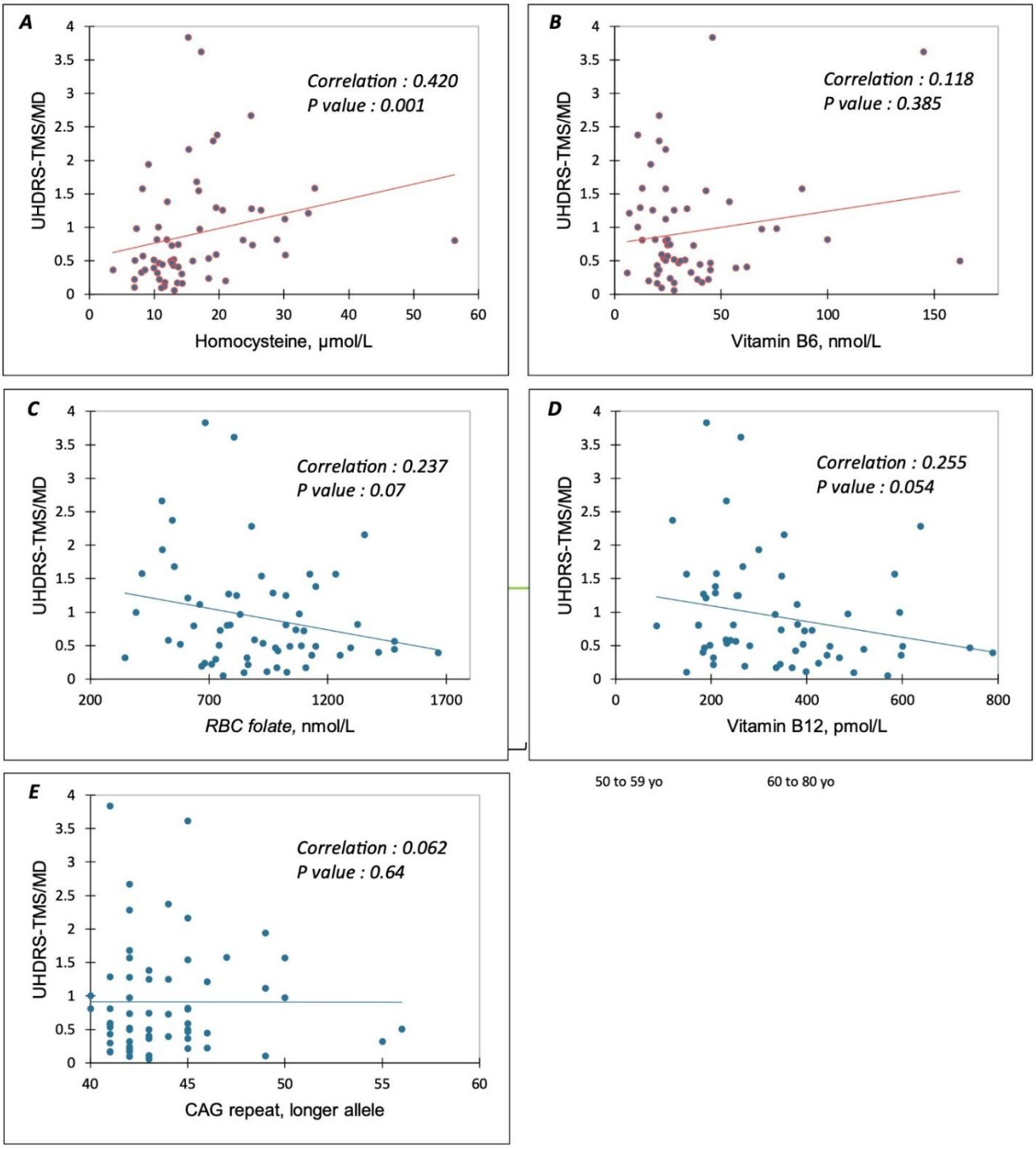

A
UHDRS-TMS/MD
Correlation : 0.420
P value : 0.001
Homocysteine, µmol/L
B
UHDRS-TMS/MD
Correlation : 0.118
P value : 0.385
Vitamin B6, nmol/L
C
UHDRS-TMS/MD
Correlation : 0.237
P value : 0.07
RBC folate, nmol/L
D
UHDRS-TMS/MD
Correlation : 0.255
P value : 0.054
Vitamin B12, pmol/L
50 to 59 yo
60 to 80 yo
E
UHDRS-TMS/MD
Correlation : 0.062
P value : 0.64
CAG repeat, longer allele

Figure Legends

Fig. 1: Box plot of age-related changes in homocysteine concentrations between healthy controls and HD patients. The middle line in the box represents the median; the red cross represents the mean value; the lower box bounds the first quartile; and the upper box bounds the 3rd quartile. Whiskers represent the 95% confidence interval of the mean. Open circles are outliers from the 95% confidence interval. *P value <0.05 was considered significant. Abbreviation: yo = years old.

Fig. 2: Kaplan–Meier curves illustrating the progression of UHDRS-TMS scale under time according to groups defined by homocysteine and vitamin B12 status. All patients had a motor progression, so curves are descriptive representations of the timing and rate of progression. Patients with HHCY showed faster progression compared with HCY and vitamin B normal, while patients with vitamin B deficiency without HHCY did not significantly differ. Y-axis is displayed inverted (0% at the top, 100% at the bottom) to facilitate interpretation.
Abbreviations: HD = Huntington's disease, HHCY = hyperhomocysteinemia, UHDRS-TMS = Unified Huntington's Disease Rating Scale – Total Motor Score.

Fig. 3: Scatter plots demonstrating the correlation between motor symptom progression (ratio) according to hyperhomocysteinemia and vitamin B deficiency via Spearman's rank correlation coefficient. A P value <0.05 was considered significant. Progression of motor symptoms estimated for each patient, corresponding to the ratio of the motor UHDRS score to the duration of motor symptoms in months (UHDRS-TMS/MD). Scatter plot showing the relationships between (3A) homocysteine levels, (3B) vitamin B6 levels, (3C) RBC folate levels, (3D) vitamin B12 levels, (3E) CAG repeats (longer allele), and motor symptom progression. Abbreviations: MD = Motor symptom duration in months, UHDRS-TMS = Unified Huntington's Disease Rating Scale - Total Motor Score.

9- Supplementary Data: Figures

Fig. 1

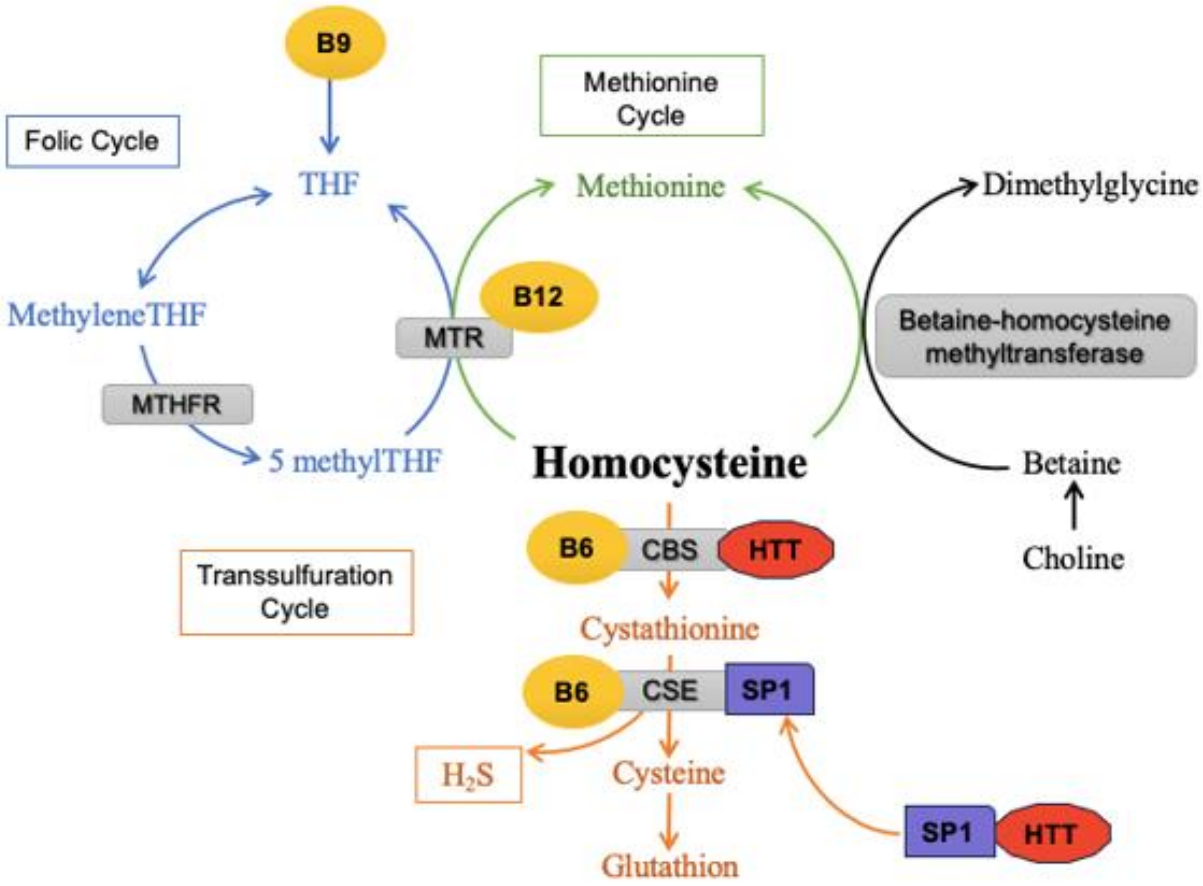


Fig. 1 : Metabolism of homocysteine. Homocysteine is formed following the use of methionine as a methyl-group donor. Homocysteine is disposed of through remethylation to methionine (using methionine synthase) or by transsulfuration to cystathionine (using cystathionine β-synthase; CBS). Methionine synthase requires the folic acid derivative 5-methyl tetrahydrofolate (THF) as a substrate. The rate sensitive enzyme in the formation of 5-methyl THF is 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Methionine synthase requires vitamin B12 as a cofactor; CBS and CSE require vitamin B6 as a cofactor (adapted from Willekens 2017).

10- Supplementary Data: Tables

Table 1: Comparison of homocysteine level according to sex between HD patients and non-HD patients

	HD patients					Non-HD patients					P Value
		Min	Med	Mean ± SD	Max		Min	Med	Mean ± SD	Max	
All population											
Men	n=32	8.0	13.7	17.8 ± 10.5	56.3	n=108	1.58	11.3	11.2 ± 2.8	16.3	<0.001*
Women	n=45	3.6	14.0	15.7 ± 6.2	33.7	n=86	4.9	10.8	10.9 ± 2.7	18.5	<0.001*
20-40-year-old											
Men	n=10	8.0	12.2	21.0 ± 17.4	56.3	n=22	1.58	10.4	10.2 ± 2.9	15.9	<0.05*
Women	n=7	6.9	15.8	14.5 ± 4.6	20.8	n=25	5.6	9.8	9.5 ± 1.7	12.3	<0.05*
40-50-year-old											
Men	n=4	13.4	20.4	19.5 ± 4.6	23.8	n=20	4.9	11.2	11.0 ± 2.7	15.1	<0.05*
Women	n=13	7.6	13.4	16.6 ± 7.9	33.7	n=19	4.8	9.8	10.1 ± 2.6	14.6	<0.05*
50-60-year-old											
Men	n=11	10.2	13.4	15.3 ± 5.7	21.0	n=35	6.3	10.9	10.9 ± 2.5	15.0	<0.05*
Women	n=15	3.59	14.0	15.4 ± 6.6	30.7	n=14	7.8	10.6	10.9 ± 2.5	16.4	<0.05*
60-80-year-old											
Men	n=7	13.7	16.2	16 ± 3.6	28.9	n=31	6.1	13.3	12.3 ± 3.0	16.3	<0.05*
Women	n=10	10.9	14.4	15.8 ± 4.3	23.7	n=28	7.9	12.4	12.7 ± 2.5	18.5	0.053

*Considered significant

Abbreviations: HD = Huntington's disease, Max = maximum, Med = median, Min = minimum, SD = Standard deviation.

Table 2: One-carbon metabolism disorders of symptomatic HD population

	n=62
	% (n)
Hyperhomocysteinemia	48.4 (30)
Isolated hyperhomocysteinemia	24.2 (15)
Isolated vitamin B-6 deficiency	11.3 (7)
Isolated folate deficiency	0
Isolated vitamin B-12 deficiency	3.2 (2)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 deficiency	1.6 (1)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-6 deficiency	19.4 (12)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 and B-6 deficiencies	1.6 (1)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 and folate deficiencies	1.6 (1)

Abbreviations: HD = Huntington's disease.

Table 3: Characteristics of premanifest HD population

	Patients without HHcy or vitamin B deficiency n=6	Patients with HHcy or vitamin B deficiency n=9	P Value
	Mean ± SD	Mean ± SD	
CAG repeat, longer allele	43.3 ± 5.1	42.6 ± 2.27	0.6
CAG repeat, shorter allele	19.5 ± 2.62	18 ± 2.9	0.5
Age, years	42.8 ± 11.9	36 ± 6	0.31
Vitamin B-6 level, nmol/L	38 ± 19	46 ± 47	0.95
RBC folate level, nmol/L	338 ± 68	330 ± 115	0.39
Vitamin B-12 level, pmol/L	864 ± 166	985 ± 159	0.46
Homocysteine level, µmol/L	11.6 ± 2.15	23.1 ± 9.6	<0.001*

*Considered significant

Abbreviations: HD = Huntington's disease, OMD = One-carbon metabolism disorder, SD = Standard deviation.

Table 4: One-carbon metabolism disorders of premanifest HD population

	n=15
	%(n)
Hyperhomocysteinemia	60 (9)
Isolated hyperhomocysteinemia	53.3 (8)
Hyperhomocysteinemia and vitamin B-6 deficiency	6.7 (1)

Abbreviations: HD = Huntington's disease

Table 5 (short version*): Results of NGS exome analysis in 10 patients

Patient	Hcy (< 15 µmol/L)	B12 (> 150 pmol/L)	B6 (> 20 nmol/L)	Gene	Variant (HGVS, c.)	Alternative allele frequency	Class
No polymorphism							
P1	6.4	**148**	240	None	None		
P2	**24.9**	232	21	None	None		
P5	14.3	174	**18**	None	None		
Frequent polymorphism							
P6	**19.5**	20 9	**12**	*MTHFR*	c.665C>T	0.308	4
P7	**31.7**	380	24	*MTHFR*	c.665C>T	0.308	4
P8	**25**	184	34	*MTHFR*	c.665C>T	0.308	4
P9	**23**	258	20	*MTHFR*	c.1286A>C	0.286	3
P10	**28.9**	174	**19**	*MTHFR*	c.1286A>C	0.286	3
Rare polymorphism							
P3	**15.2**	190	46	*MTHFR*	c.1409A>T	$1.56x10^{-3}$	3
P4	**47**	227	39	*MMACHC*	c.617G>A	$1.68x10^{-4}$	4
				MTHFR	c.1409A>T	$1.56x10^{-3}$	3
P7	**31.7**	380	24	*CBS*	c.833T>C	$8.33x10^{-4}$	5

*Full version available as supplemental material

II- Analyse métabolomique du MMC à partir de fibroblastes de patients

Dans notre cohorte de 77 patients, 61 % présentaient un trouble du métabolisme des monocarbones (MMC). Plusieurs profils biochimiques ont été observés, incluant notamment des carences en vitamines B6 ou B12, ainsi qu'une hyperhomocystéinémie (HHCY) associée à une carence en vitamine B6 ou B12. L'anomalie la plus fréquente restait toutefois l'HHCY, observée chez 48 % des patients. Ces résultats ont été mises en parallèle avec un mode d'entrée particulier dans la pathologie, caractérisé par l'apparition initiale de symptômes dysexécutifs et comportementaux, suivis secondairement de manifestations motrices, ainsi qu'avec une progression plus rapide des symptômes moteurs chez ces patients.

Afin d'étudier les éventuelles atteintes fonctionnelles du MMC susceptibles d'expliquer ces observations et de permettre la réalisation d'approches expérimentales plus mécanistiques, trente-deux biopsies de peau ont été réalisées chez les patients MH. Les fibroblastes dérivés de ces biopsies ont ensuite fait l'objet d'une analyse métabolomique approfondie (**Figure 74**).

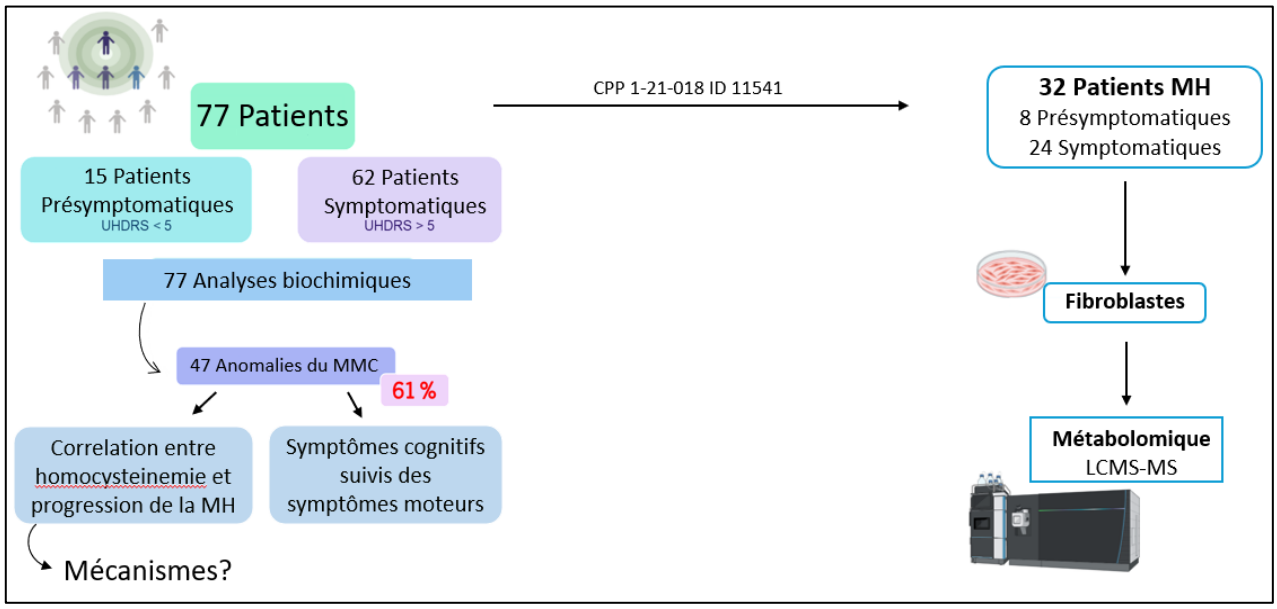


Figure 74* : *Cohorte HO-HD et étude métabolomique sur les fibroblastes de patients. Schématisation de la construction de notre cohorte et des résultats préliminaires qui nous ont amené à monter la cohorte HO-HD afin d'étudier plus en détail le métabolisme des patients via l'utilisation de leurs fibroblastes.
Abréviations : MH : Maladie de Huntington. Réalisé à l'aide de BioRender.

A- Résultats

Quinze métabolites du MMC ont été analysés, la majorité d'entre eux n'a pas montré de différences significatives, chez les patients présymptomatiques comme chez les patients symptomatiques par rapport aux contrôles. Cette comparaison, a été étudié en prenant en compte les différents statuts biochimiques des patients mais une fois encore, seuls quelques métabolites ont montré une différence significative. La principale explication réside dans la variabilité inter-patients notamment chez les contrôles ainsi que des effectifs réduits lorsqu'on classe les patients selon leur statut pathologique/biochimique (**Figure 75**)

Trois métabolites ont montré des différences significatives, la cystathionine, la sérine et l'acide folique.

La cystathionine est le produit de la CBS première enzyme de la voie de la transsulfuration, elle est significativement augmentée chez les patients symptomatiques (p-value<0.01). L'accumulation de ce métabolite est plus importante chez les patients HHCY et encore davantage chez les patients présentant deux facteurs d'anomalie biochimique cumulés (HHCY + carence en vitamine B9 ou B12) (p-value<0.01).

La sérine était, quant à elle, diminuée chez les patients présymptomatiques (p-value<0.05) et symptomatiques par rapport aux contrôles, indépendamment de leur statut biochimique.

Finalement, les folates libres (acide folique) montraient une diminution significative chez les patients présymptomatiques (p-value<0.01) et symptomatiques (p-value<0.01). Cette tendance était retrouvée chez les patients présymptomatiques hyperhomocystéinémiques (p-value=0.056) et une consommation significative est également observée chez les patients symptomatiques ne présentant aucune anomalie biochimique (p-value<0.05).

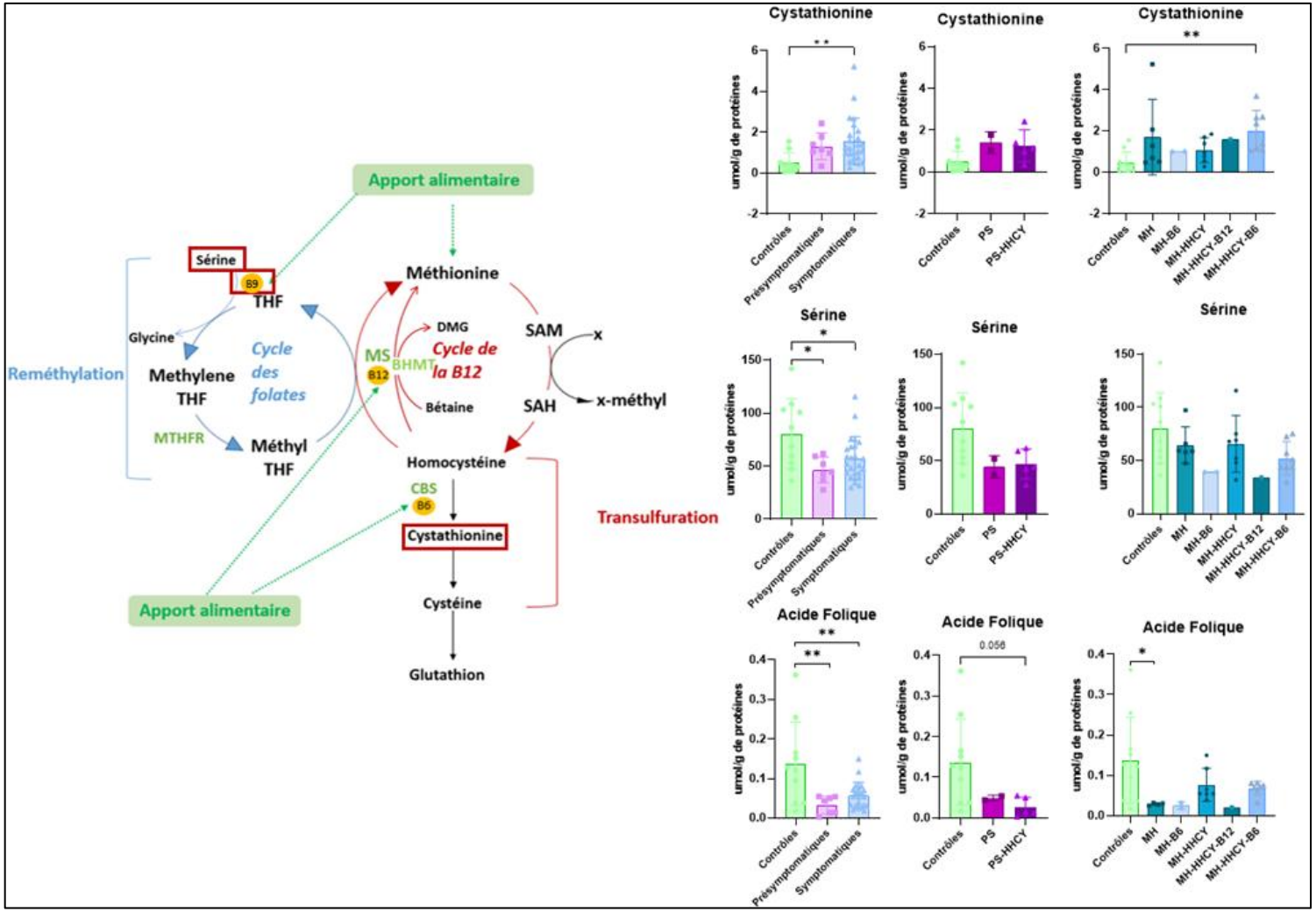


Figure 75 : Altération du cycle des monocarbones dans les fibroblastes des patients. *Représentation schématique du cycle des monocarbones (à gauche), les métabolites mesurés présentant des altérations significatives dans les fibroblastes de patients sont indiqués en rouge (sérine, cystathionine et acide folique). Les graphiques (à droite) montrent les quantifications de ces métabolites exprimées en µmol/g de protéines dans les fibroblastes de témoins et des patients. Les graphiques de la première colonne représentent les variations entre les contrôles, les patients présymptomatiques et les patients présymptomatiques. Les graphiques de la deuxième colonne représentent les variations entre les contrôles et les patients présymptomatique en fonction de leur statut biochimique. Les graphiques de la troisième colonne représentent les variations entre les contrôles et les patients symptomatiques en fonction de leur statut biochimique. Les graphiques ont été réalisé sur GraphPad et les données sont présentées en moyenne ± écart-type. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de GraphPad (One way Anova ou Kriskal-Wallis, *p-value < 0,05 ; **p-value < 0,01).*

Une importante variabilité a été observée au sein de la population contrôle, ce qui a directement impacté l'analyse métabolomique. Afin d'obtenir une vision globale du MMC, des « profils patients » ont été établis en prenant en compte les différents statuts biochimiques identifiés. Pour ce faire, un sujet contrôle dont l'âge (68 ans) était le plus proche de la moyenne d'âge des patients de la cohorte a été sélectionné. Il est en effet bien établi que l'âge et les processus de vieillissement influencent le MMC. Il a été vérifié que son profil métabolique correspondait au profil attendu pour un individu sain de 68 ans, conformément aux standards du service de biochimie du CHRU de Nancy. Des pourcentages de variation ont ensuite été calculés par rapport à ce profil de référence pour les données métabolomiques d'un patient atteint de maladie de la MH issu de chacun des sous-groupes biochimiques (**Figure 76**).

Ainsi, chez les patients présymptomatiques, la glycine, la sérine et les folates libres étaient réduits, suggérant une consommation accrue de ces deniers. En parallèle, une augmentation du méthyltétrahydrofolate est observée, traduisant son accumulation, surtout chez les patients présymptomatiques hyperhomocystéinémiques. Une diminution de la méthionine est également observée, qui est plus marquée chez les patients présymptomatiques hyperhomocystéinémiques. En revanche, le taux de cystathionine est très clairement augmenté alors que l'HCY, elle, reste inchangée, par rapport aux contrôles. Malgré une accumulation de cystathionine, la production de cystéine et de glutathion est réduite.

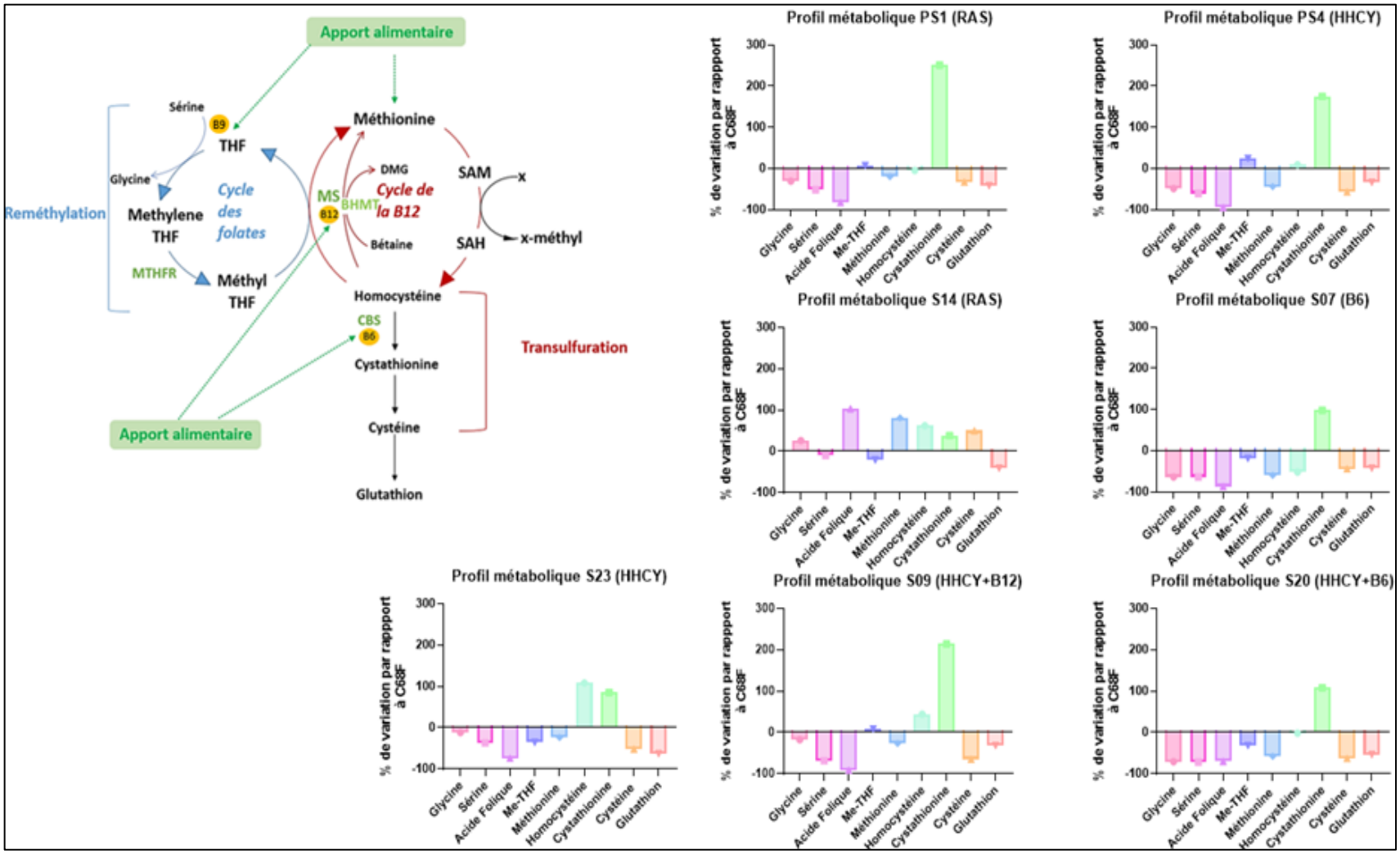


Figure 76 : Profils métaboliques individuels des patients en fonction de leur statut biochimique. *Représentation schématique du cycle des folates et de la méthionine, incluant les voies de reméthylation et de transsulfuration (à gauche). Les graphiques (à droite et en bas) illustrent les profils métaboliques individuels obtenus à partir des fibroblastes de patients classés selon leur statut biochimique (RAS, HyperHomocYstéinémiques (*HHCY*), Carencé en vitamine B6 (B6), HyperHomocYstéinémique et carencé en vitamine B12 (*HHCY*+B12), HyperHomocYstéinémique et carencé en vitamine B12 (*HHCY*+B6). Les variations métaboliques sont exprimées en pourcentage par rapport au contrôle de 68 ans, sélectionné pour sa proximité d'âge avec la moyenne des patients, afin de minimiser l'effet de l'âge sur le métabolisme des monocarbones. Les barres représentent la déviation relative des principaux métabolites du cycle des monocarbones (glycine, sérine, acide folique, méthyltétrahydrofolate (MeTHF), méthionine, homocystéine, cystathionine et glutathion) par rapport au contrôle. Les graphiques ont été réalisés sur GraphPad.*

Les profils des patients symptomatiques ressemblent à ceux des patients présymptomatiques avec cependant des anomalies plus marquées, sauf pour le patient ne présentant pas d'anomalie biochimique. Le patients S14, sans anomalies biochimiques (RAS), se distingue par un métabolisme moins actif que les autres patients. En effet, les métabolites du cycle de la méthionine et de la voie de la transsulfuration sont augmentés. Les autres patients symptomatiques présentent une réduction globale des métabolites, leurs différences résident cependant au niveau de l'HCY et de la cystéine. En effet, les patients symptomatiques et HHCY montre une HCY élevée par rapport au contrôle, mettant en avant son accumulation. Cependant, on peut voir que selon les anomalies biochimiques, cette HCY est plus ou moins augmentée, ainsi chez les patients uniquement HHCY cette dernière atteint quasiment 100% d'augmentation par rapport aux contrôles, alors que chez les patients HHCY et carencé en vitamine B12, elle n'est augmentée que de 50%. Chez ces derniers, les concentrations de cystathionine sont supérieures d'environ 200% à celle des contrôles, montrant une accumulation importante de ce métabolite. Cette augmentation suggère une orientation accrue de l'HCY vers la voie de la transsulfuration via l'activité de la CBS. Ce phénomène pourrait refléter un mécanisme compensatoire en réponse à une carence en vitamine B12, susceptible d'entraîner une diminution de la reméthylation de l'homocystéine par la méthionine synthase (MS) dans le cycle de la méthionine. Chez le patient uniquement carencé en vitamine B6, l'HCY est quant à elle diminuée d'environ 50% par rapport au contrôle, mettant en évidence une consommation accrue de ce métabolite. De plus, une accumulation de cystathionine est, à nouveau, observée (+100% par rapport aux contrôles).

Pris dans leur ensemble, les résultats montrent un profil métabolique du MMC altéré chez les patients présymptomatiques et symptomatiques, avec une suractivation globale du cycle des folates et de la méthionine mais également un dysfonctionnement au niveau de la voie de la transsulfuration. L'accumulation d'HCY se retrouve principalement chez les patients symptomatiques hyperhomocystéinémiques.

B- Discussion

Il a été difficile d'obtenir des résultats significatifs en raison de la grande variabilité biologique des patients mais aussi surtout des contrôles. Cependant, 3 métabolites présentent des résultats significatifs dans la cohorte HO-HD : la sérine, l'acide folique et la cystathionine. La diminution parallèle de sérine et des folates libres chez les patients présymptomatiques et symptomatiques mettent en avant une activation du cycle des folates chez ces derniers dans une tentative de reméthylation de l'HCY par la méthionine synthase. Cette consommation de la sérine est en lien avec l'activité du cycle des folates mais surtout, elle est cohérente avec celle de la CBS, qui condense la sérine avec l'HCY pour faire de la cystathionine. La cystathionine est significativement augmentée uniquement chez les patients symptomatiques et encore plus chez ceux présentant une double anomalie biochimique.

Ces résultats montrent une augmentation de l'activité de la CBS en particulier en condition hyperhomocystéinémique (HHCY). Cependant, la cystathionine produite ne semble pas être utilisée par la CSE, 2ème enzyme de la voie de la transsulfuration, pour être transformée en cystéine puis en glutathion, car aucune augmentation de ces métabolites n'est observée. Ainsi, tous les profils métaboliques des patients montrent une diminution de la cystéine et du glutathion. Bien qu'il ne puisse être exclu que cette diminution soit liée à une consommation accrue de cystéine et de glutathion afin de faire face au stress oxydant observé dans la MH et en condition d'HHCY, l'augmentation marquée de la cystathionine suggère plutôt l'existence d'un blocage au niveau de la deuxième enzyme de la voie de la transsulfuration, la CSE.

La CBS est l'enzyme limitante régulant l'entrée dans la voie de la transsulfuration. Le stress oxydant, la SAM et la teneur en homocystéine sont les facteurs les plus importants modulant son activité et son expression (Zuhra et al. 2020). Cependant, elle peut aussi être inhibée par le NO, le CO et par sumoylation (B. Murphy et al. 2019; Sbodio et al. 2019c; Zuhra et al. 2020).

Alors que les concentrations en homocystéine et en SAM n'influencent que l'activité, le stress oxydant module l'expression et l'activité. Ainsi, le facteur de transcription ATF6 se lie au promoteur de la CBS pour activer sa transcription en cas de déficit en H2S (Dong et al. 2023) et le couple STAT1/STAT6 seraient des protéines sensibles au statut redox capable de moduler l'expression de la CBS.

STAT6 l'active et STAT1 l'inhibe dans les cellules gliales de la maladie de Parkinson (Y. Liu et al. 2025). De plus, il a été montré que la partie hémique de la CBS était sensible au statut redox de la cellule, en particulier à l'augmentation de l'H2O2 (George et al. 2019). Dans des conditions de stress l'expression de la CBS est également induite par les facteurs de transcriptions Nrf2 et HIF1 pour la réponse anti-oxydante (Sbodio et al. 2019c; Zuhra et al. 2020).

Les patients présentent ainsi un profil métabolique altéré du MMC, particulièrement marqué chez les patients symptomatiques, avec une suractivation globale du cycle des folates et de la méthionine. Cette perturbation apparaît plus prononcée chez les patients HHCY, probablement en lien avec une augmentation du recyclage de l'HCY pro-oxydante. Ce profil s'accompagne d'un dysfonctionnement de la voie de la transsulfuration. En effet, tous les patients semblent présenter « un bouchon métabolique » au niveau de la 2ème enzyme de la voie, la CSE. Cette inhibition de la CSE se manifeste par une augmentation de la cystathionine, substrat de la CSE, une diminution de la cystéine, produit de la CSE, et du glutathion suggérant ainsi une réduction du potentiel antioxydant cellulaire. L'expression et l'activité de la CSE sont régulées par de nombreux facteurs: stress oxydant, stress du RE, stress du Golgi, inflammation, déprivation en nutriments, hormones etc… (Sbodio et al. 2019c; B. Murphy et al. 2019; Werge et al. 2021). Cependant il a également été montré que la liaison de la CSE avec la mHTT inhibait son activité enzymatique ce qui pourrait expliquer ce blocage métabolique qui semble encore accentué par l'HHCY (Paul et al. 2022b).

À la suite des résultats obtenus dans la cohorte de patients atteints de la MH, il semblait pertinent d'explorer la possibilité de développer un modèle murin de la MH associée à une hyperhomocystéinémie, permettant d'évaluer l'impact de cette perturbation métabolique sur la progression de la pathologie.

III- Impact d'une perturbation du MMC sur la progression de la maladie de Huntington : développement d'un modèle murin *HdhQ111* carencé en vitamine B9 et B12

Le développement d'un modèle murin associant MH et hyperhomocystéinémie (HHCY) permettra d'étudier si l'altération du métabolisme des monocarbones (MMC) influence la vitesse d'apparition et la sévérité des symptômes moteurs, cognitifs et comportementaux caractéristiques de la maladie. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser un modèle murin knock-in de la MH, le modèle *HdhQ111*, qui présente une progression lente et progressive du phénotype, proche de la physiopathologie humaine (Nittari et al. 2023). Afin d'induire une perturbation du MMC et d'augmenter les concentrations d'HCY, les souris ont été soumises, à l'âge adulte, à un régime alimentaire carencé en vitamines B9 (folates) et B12 (cobalamine) tels que cela avait déjà été décrits pour les modèles rats MDD du laboratoire NGERE (Kerek et al. 2013; Geoffroy et al. 2017; Hassan et al. 2019) (**Figure 77**).

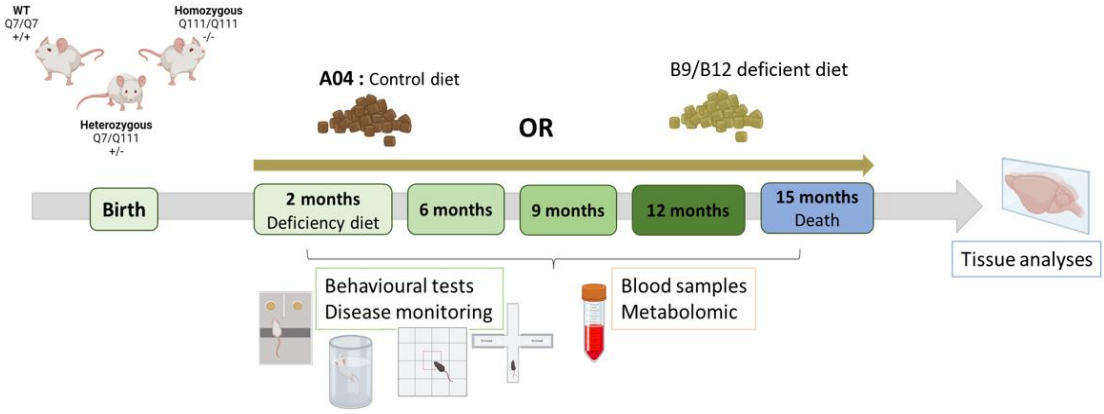


Figure 77 : Schématisation de la chronologie du protocole animal de carence vitaminique adulte. *Les souris mâles hétérozygotes (HET ; +/-) sont croisées avec des souris femelles hétérozygotes afin d'obtenir des animaux de tous les génotypes, Wild-Type (WT ; +/+), hétérozygotes (HET ; +/-) et homozygotes (Hmz ; -/-). Les petits sont séparés de la mère au sevrage (21 jours d'âge) et répartis dans des cages par sexes. A 2 mois les animaux sont répartis, en respectant leur sexe dans des cages pour suivre soit un régime contrôle soit un régime carencé en vitamine B9/B12, régime qu'il suivront jusqu'à leur mise à mort. Au cours des 15 mois de protocole, les animaux suivront une batterie de tests comportementaux afin de caractériser la mise en place des symptômes de la maladie de Huntington. Suite à leur mise à mort, le plasma et les cerveaux des animaux seront prélevés. Le plasma servira de matrice aux analyses de LCMS-MS et le cerveau sera divisé en deux selon la suture médiane, une moitié sera dédiée aux études immunohistochimiques, l'autre moitié sera microdisséquée afin de réaliser les différentes analyses moléculaires (protéomique, LCMS-MS, RT-qPCR et Co-IP). Schéma réalisé sur BioRender.*

Par souci de cohérence clinique, seuls les animaux Wild-Type (WT) et hétérozygotes (HET), mâles comme femelles ont été retenus pour cette études, en effet, les formes homozygotes mutées de la MH sont relativement rares.

A- Résultats

1- Etude de l'atteinte métabolomique des souris *HdhQ111*

Dans un premier temps, le plasma des animaux été analysé par LCMS-MS afin de valider le modèle de carence chez les souris *HdhQ111* et d'évaluer les atteintes métabolomiques qui en découlent dans un contexte de mutation de la HTT. Quinze métabolites intervenants dans le MMC ont été mesurés. Cependant, seuls les métabolites ayant montré une différence significative entre les populations wild-type (WT) et hétérozygotes (HET) seront présentés.

Etude métabolomique des souris *HdhQ111* à 9 mois :

A 9 mois d'âge, soit après 7 mois de carence en vitamines B, un nombre non négligeable de métabolites est affecté (**Figure 78-A**). Un effet régime est rapporté pour la glycine (cycle des folates), l'homocystéine (cycle de la méthionine) ainsi que la cystathionine et la cystéine (voie de la transsulfuration). La glycine montre une diminution significative indépendamment du génotype mais plus marquée chez les hétérozygotes mettant en avant une utilisation accrue de ce métabolite et donc une suractivation du cycle des folates.

L'homocystéine montre une augmentation significative indépendamment du génotype mais toujours plus marquée chez les hétérozygotes mettant en avant une accumulation de ce métabolite et donc une altération de son recyclage. L'HCY étant un métabolite neurotoxique, plusieurs voies métaboliques permettent son recyclage, notamment la voie de la transsulfuration au sein de laquelle intervient la cystathionine. Or, cette dernière montre également une augmentation significative traduisant, une accumulation de ce métabolite et donc une altération de sa métabolisation au sein de la voie de la transsulfuration. Cette observation est concordante avec la diminution significative de la cystéine observée uniquement chez les animaux hétérozygotes, suggérant une utilisation non renouvelée de ce métabolite.

Ainsi, les animaux hétérozygotes montrent une sensibilité plus importante que les WT à la carence et plus particulièrement au niveau voie de la transsulfuration qui apparaît comme la plus affectée au sein du MMC, trois de ses principaux métabolites étant significativement altérés.

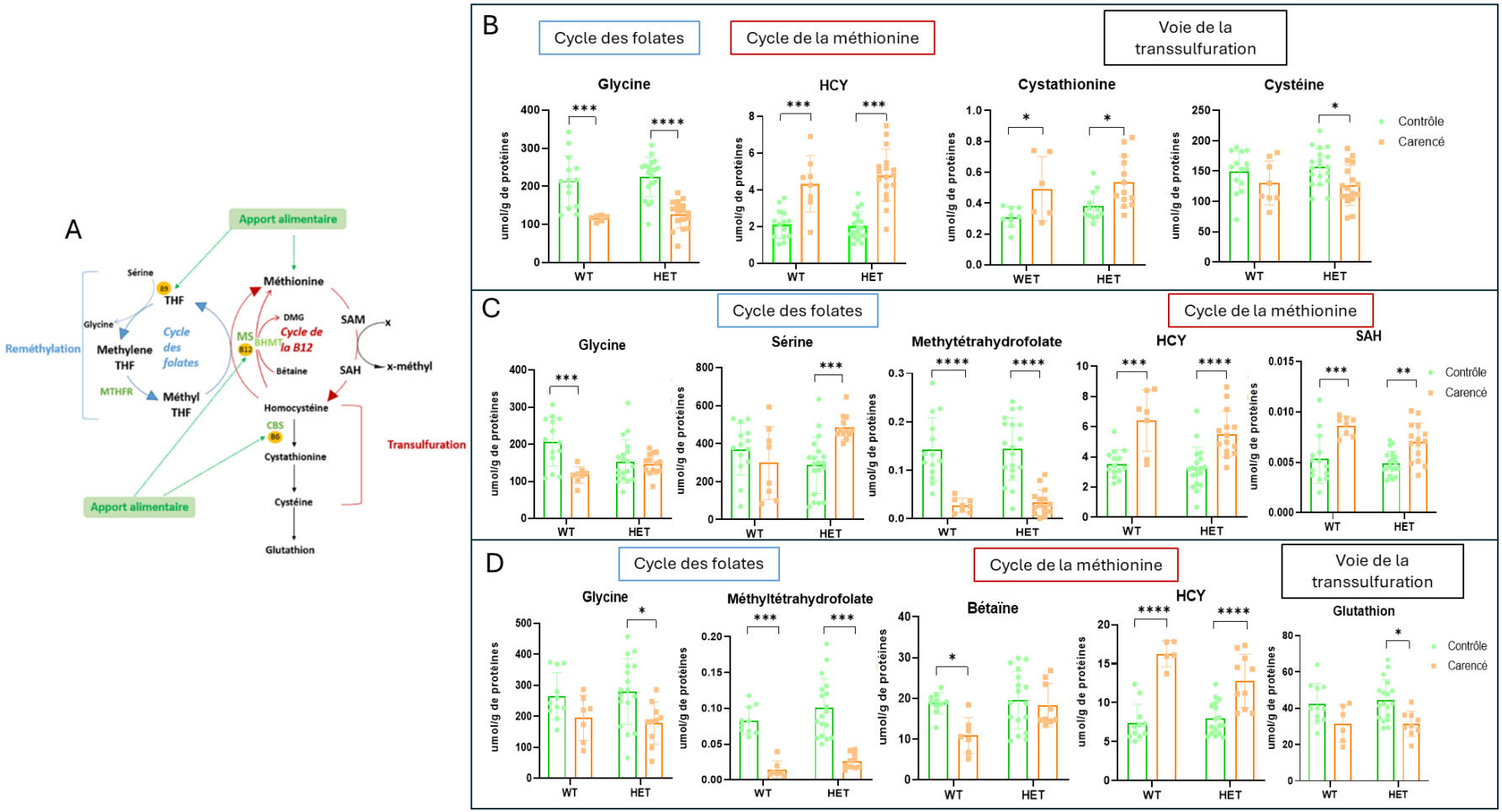


Figure 78 : Perturbation globale du MMC par bilan métabolomique sur le plasma des souris HdhQ111 à 9 mois, 12 mois et 15 mois. *(A) Schéma du cycle des monocarbones.(B) À 9 mois, la carence altère précocement la voie de la transsulfuration, avec une hyperhomocystéinémie marquée chez les WT et HET. WT contrôles n=14, WT carencés n=9, HET contrôles n=19, HET carencés n=17. (C) À 12 mois, l'atteinte du cycle des folates s'accentue, avec une diminution du méthyltétrahydrofolate et une accumulation de SAH et d'homocystéine, traduisant une aggravation de l'hyperhomocystéinémie. WT contrôles n=14, WT carencés n=8, HET contrôles n=19, HET carencés n=16. (D) À 15 mois, ces altérations persistent. Chez les WT, une activation de la reméthylation via la voie bétaïne est observée, tandis que chez les HET, la diminution du glutathion suggère une atteinte durable de la transsulfuration. Données exprimées en moyenne ± écart-type. WT contrôles n=11, WT carencés n=7, HET contrôles n=18, HET carencés n=10. Les analyses statistiques et les graphiques ont été faites sur GraphPad Prism de tests Two-way ANOVA ou Kruskal-Wallis selon les cas (*p-value < 0,05 ; **p-value < 0,01 ; ***p-value < 0,001 ; ****p-value < 0,0001).*

Etude métabolomique des souris *HdhQ111* à 12 mois :

A 12 mois d'âge, soit après 10 mois de carence, à nouveau un effet régime est observé chez les WT et les HET, puisque trois métabolites du cycle des folates sont affectés, la glycine, la sérine et le méthyltétrahydrofolate (Me-THF) et deux métabolites du cycle de la méthionine, l'homocystéine et la S-adénosylhomocystéine (SAH) (**Figure 78-B**). La glycine montre une diminution significative chez les WT uniquement (p-value<0.001) alors que la sérine montre une augmentation significative uniquement chez les hétérozygotes (p-value<0.001). Ces deux métabolites étant des acides aminés impliqués dans d'autres métabolismes, il paraît compliqué de quantifier leur implication spécifique au MMC.

Cependant, il est certain que leur fluctuation impacte directement le cycle des folates. Cela est largement vérifié par l'atteinte du Me-THF qui est significativement réduit chez les WT ainsi que chez les hétérozygotes, mettant en avant une consommation accrue de ce métabolite sans renouvellement. Cette hypothèse est confortée par l'augmentation significative de la SAH, précurseur de l'HCY, qui, elle aussi, est significativement augmentée, servant de cosubstrat de pair avec le Me-THF. Or, en l'absence de ce dernier, la méthionine synthase ne peut prendre en charge l'HCY qui s'accumule. L'HCY étant neurotoxique, elle se trouve très rarement sous forme libre et plusieurs voies existent pour limiter son accumulation. Il est à noter que le test d'ANOVA a également montré un effet du génotype pour la SAH, ce qui indique statistiquement que le génotype représente un facteur de modulation de ce métabolite SAH. En revanche, en comparaison avec le stade 9 mois, aucun métabolite de la voie de la transsulfuration n'a montré de différence significative au sein des populations carencées ou non.

Etude métabolomique des souris *HdhQ111* à 15 mois :

A 15 mois d'âge, soit après plus d'un an de carence, l'atteinte du MMC s'étend à l'ensemble des voies. Deux des trois métabolites du cycle des folates déjà affectés à 12 mois, sont retrouvés également modifiés à 15 mois : la glycine et le méthyltétrahydrofolate (Me-THF). Au sein du cycle de la méthionine, l'homocystéine et la bétaïne sont atteintes, enfin, le glutathion produit par la voie de la transsulfuration montre lui aussi une diminution significative (**Figure 78-C**). Cependant ces métabolites ne varient pas de la même manière selon le génotype. La glycine est diminuée de manière significative que chez les hétérozygotes (p-value<0.05) alors que le Me-THF est lui toujours significativement diminué dans nos deux populations confirmant que l'atteinte du cycle des folates observé à 12 mois persiste à 15 mois.

Particularité, chez les WT, on observe une diminution significative de la bétaïne en condition carencé. La bétaïne est, entre autres, utilisée comme donneur de méthyles dans une voie de reméthylation de l'HCY normalement spécifique au foie. Or, le taux d'homocystéine n'a jamais été aussi élevé qu'à 15 mois (2 fois plus quasiment), ce qui pourrait expliquer l'activation d'une voie parallèle pour son recyclage, il faut également noter que cette voie de secours ne s'active pas chez les HET. D'autre part, une diminution significative (p-value<0.05) du glutathion chez les hétérozygotes carencés montre une perturbation de la voie de transsulfuration chez ce groupe d'animaux. Ce marqueur indique un déficit de prise en charge métabolique de l'HCY, qui peut s'accumuler, se trouver rarement libre et propice à la fixation protéique, et au final neurotoxique. Soulignons que l'ANOVA globale indique que les facteurs génotype et régime montrent conjointement un effet statistique pour l'HCY, ce qui est prépondérant pour ce modèle *Htt* sous carence. En ce qui concerne l'HCY, le test ANOVA a également montré un effet croisé du génotype et du régime.

2- Etude des atteintes comportementales des souris *HdhQ111*

Pour un souci de volume de données, nous ne présenterons ici que les résultats des tests comportementaux directement liés au suivi des symptômes de la maladie de Huntington :

- Aspects Moteurs globaux, avec le test du Champ Ouvert dit « Open Field » (Fiche 7 du matériel et méthode).
- Aspects Cognitifs, atteintes observées chez les patients notamment des troubles dysexécutifs avec, pour les animaux le test du Labyrinthe Aquatique (Fiche 7 du matériel et méthode).
- Aspects Psychiatriques observées aussi chez les patients avec, pour les animaux le test de Nage Forcée dit « Portsolt » (Fiche 7 du matériel et méthode).

Profil comportemental des souris *HdhQ111* à 9 mois :

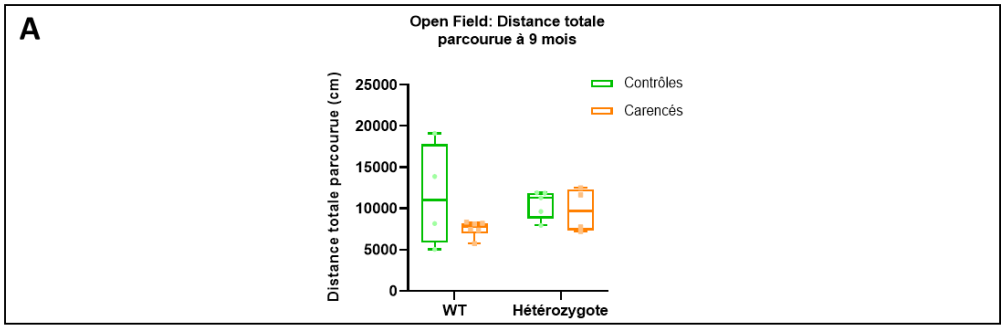
Atteintes motrices : Le principe du test de l'open-field est d'évaluer la motricité des animaux, la distance totale parcourue permet d'attester de l'activité globale et du niveau de difficulté de locomotion des souris. D'autres tests évaluant la motricité plus précise n'ont pas été réalisé, car ces aspects sont connus dans la pathologie, ceci pour nous focaliser sur les aspects cognitifs et psychiatriques. A 9 mois aucune différence significative n'a été observé dans la motricité globale et ce, indépendamment du génotype ou du régime suivi pour les trois paramètres étudiés (**Figure 79, Données Supplémentaires Figure 98-A et B**) traduisant une absence d'atteinte locomotrice à ce stade.

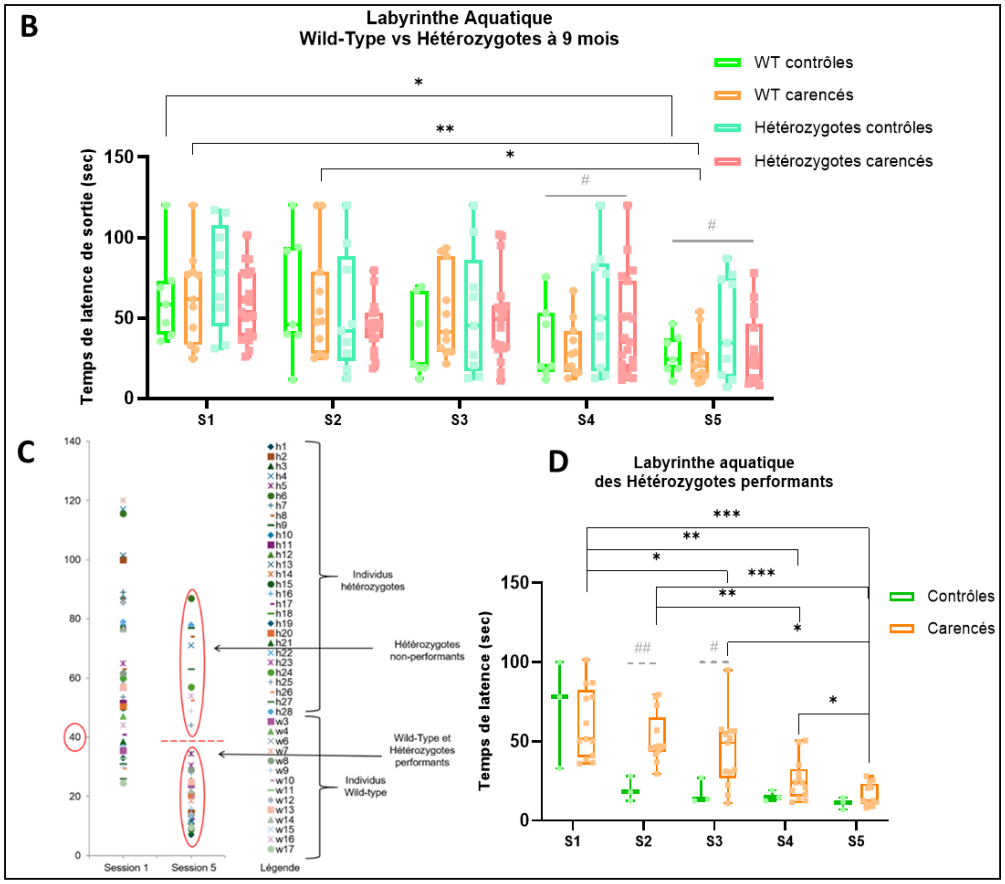
Atteintes cognitives : Le principe du test du labyrinthe aquatique est d'évaluer la capacité d'apprentissage-mémorisation des animaux pendant l'exécution d'une tâche (trouver la sortie), avec la diminution du temps de latence au fur et à mesure des sessions.

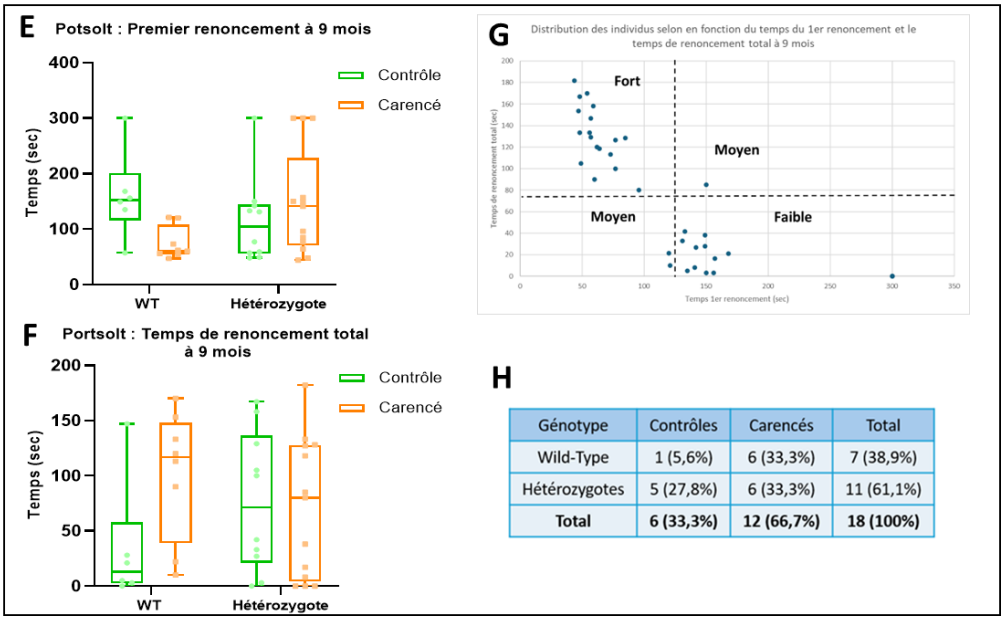
A 9 mois d'âge, le paramètre « latence de sortie » du labyrinthe aquatique montre une diminution significative au cours des sessions d'apprentissage de S1 à S5 pour les Wild-Type (WT) et ce, indépendamment du régime suivi, (**Figure 79-B, Graphique du haut,** $p<0.0001$), mettant en avant un apprentissage effectif. Si l'on considère la même session et que l'on compare les WT ou les HET en fonction de leur régime, aucune différence significative n'est observée, mettant en avant l'absence d'effet du régime indépendamment du génotype à ce stade. En revanche si on considère la session 4 (S4) et 5 (S5), on remarque une différence significative (Figure 56, S4 : p-value=0.04 et S5 : p-value=0.03) du temps de latence de sortie entre les WT et les HET, concluant à un effet génotype, avec des HET moins performants que les WT (sorties du labyrinthe plus tardive pour les HET vs. les WT).

L'absence d'efficacité du processus d'apprentissage/mémorisation pour certains hétérozygotes et l'hétérogénéité des résultats présentés par ce groupe d'animaux nous a amené à étudier ce groupe de manière plus fine. En effet ces animaux se répartissent en deux sous-groupes en termes de performances d'apprentissage, avec des souris dites performantes dont la latence de sortie diminue de session en session, et des souris non-performantes dont la latence de sortie reste très élevée jusqu'à la dernière session (**Figure 79-B**, **Graphique de droite et Données supplémentaires Figure 98-C et D**). Ce phénomène apparaît chez les Hétérozygotes uniquement et il n'y a, significativement pas, plus de performants que de non-performants. En revanche, pour les performants, on observe qu'il y a significativement plus de carencés que de contrôles (Chi-deux, p-value=0.012).

Les HET performants montrent, sans surprise, une diminution significative globale (p-value<0.0001) au cours des sessions d'apprentissage de S1 à S5 indépendamment du régime suivi, mettant en avant, à nouveau, un processus d'apprentissage/mémorisation effectif. En revanche, comme nous pouvons le voir sur le graphique de droite de la **Figure 79 (Graphique de droite)**, aux sessions 2 (S2) et 3 (S3), les souris hétérozygotes carencés, bien qu'identifiées comme performantes montrent une latence de sortie supérieure aux souris performantes contrôles avec une p-value=0.0087 à S2 et p-value=0.0392 à S3. Cette analyse statistique plus précise montre un effet délétère du régime carencé en vitamines B qui handicape le processus d'apprentissage/mémorisation à ce stade chez les Hétérozygotes.







H

Génotype	Contrôles	Carencés	Total
Wild-Type	1 (5,6%)	6 (33,3%)	7 (38,9%)
Hétérozygotes	5 (27,8%)	6 (33,3%)	11 (61,1%)
Total	**6 (33,3%)**	**12 (66,7%)**	**18 (100%)**

Figure 79 : Bilan comportemental des souris HdhQ111 à 9 mois d'âge. *(A) Open Field : Aucune différence significative de distance totale parcourue, ni selon le génotype ni selon le régime Effectifs : WT contrôles : n=4, WT carencés : n=6, HET contrôles : n=5 et HET carencés : n=4. Analyses statistiques et graphique réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA). (B) Labyrinthe aquatique : Apprentissage global : Diminution significative de la latence de sortie chez les WT au fil des sessions, indépendamment du régime, traduisant un apprentissage efficace, contrairement aux HET. Un effet génotype est observé aux sessions S4 et S5, sans effet régime. Effectifs : WT contrôles : n=7, WT carencés : n=11, HET contrôles : n=9 et HET carencés : n=19. Analyses statistiques et graphique réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA, *p-value<0.05, **<0.01 (noir) et #p-value<0.05 (gris).(C) Sous-groupe HET performants : Définis par (i) une diminution de la latence entre S1 et S5 et (ii) une latence < 40 s (seuil basé sur les WT). (D) HET performants : Diminution significative de la latence au cours des sessions, indépendamment du régime (apprentissage préservé). Un effet régime est observé aux sessions S2–S3, avec une latence plus élevée chez les HET carencés Effectifs : Hétérozygotes performants contrôles : n=3 et Hétérozygotes performants carencés : n=13. Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA, *p-value<0.05, **p-value<0.01 et ***p-value<0.001). (E) Test de Porsolt : Aucune différence significative pour la latence du premier renoncement ni pour (F) le temps total de renoncement, indépendamment du génotype et du régime. (G) Une analyse en sous-groupes (seuils : 120 s pour la latence, 72 s pour le temps total) ne met en évidence (H) aucun effet génotype, régime ou interaction (test du χ^2). Effectif : WT contrôles : n=6, WT carencés : n=8, HET contrôles : n=10 et HET carencés : n=13. .*

Atteintes comportementales de type dépressif: Le test de la nage forcée dit « Porsolt » permet de révéler de façon globale la sensibilité au renoncement comportemental chez les modèles rongeurs, correspondant à la dépression chez l'Homme. Il n'est pas indiqué par ce type de test que les souris peuvent développer une dépression ; syndrome propre à l'Homme, mais une sensibilité à développer des symptômes d'humeurs liés à une pseudo-depression.

A 9 mois, les résultats ne montrent aucune différence significative pour les deux paramètres principaux, le temps de premier renoncement et le temps total de renoncement (**Figure 79-C, graphiques de gauche**). Cependant, d'après l'analyse statistique globale,un effet cumulatif du génotype et du régime apparait pour la latence du premier renoncement (p-value=0.04). Nous avons représenté les WT et les HET indépendamment de leur régime, en fonction du temps de latence du premier renoncement et le temps total de renoncement. Cela permet de déterminer trois catégories de sensibilité au renoncement comportemental en fonction de leur position par rapport à la moyenne des deux paramètres. La population graphiquement représentée « forte sensibilité » permet une analyse pertinente. Parmi les 18 individus, 7 (38.9%) WT et 11 (61.1%) HET font partis de cette population. Les 7 WT sont composés de 6 (33.3%) individus carencés et 1 (5.6) individu contrôle. Les 11 HET sont composés de 6 (33.3%) individus carencés et 5 (27.8%) individus contrôles (**Figure 79**, **tableau de droite**). Aucun effet du génotype, du régime ou encore d'effet cumulé de ces deux facteurs n'est à noter d'après l'analyse statistique globale, mais on note que la proportion d'individus fortement sensibles au renoncement semble différentielle en fonction du génotype et du régime, ce qui pourrait être un indicateur d'initiation temporelle du phénomène.

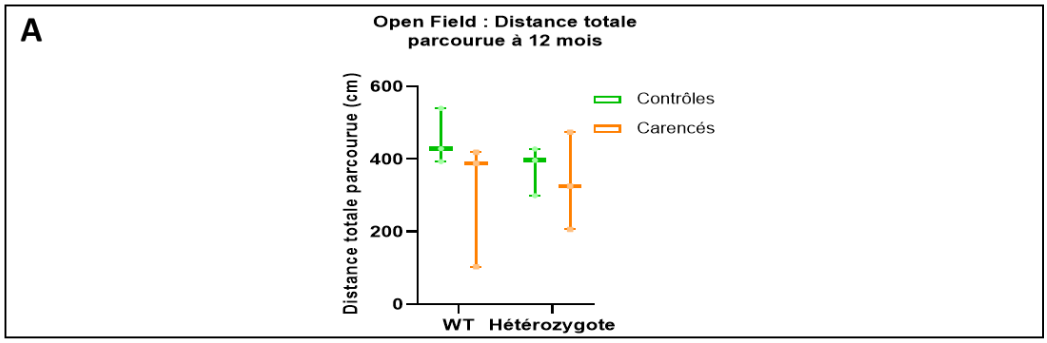
Profil comportemental des souris *HdhQ111* à 12 mois :

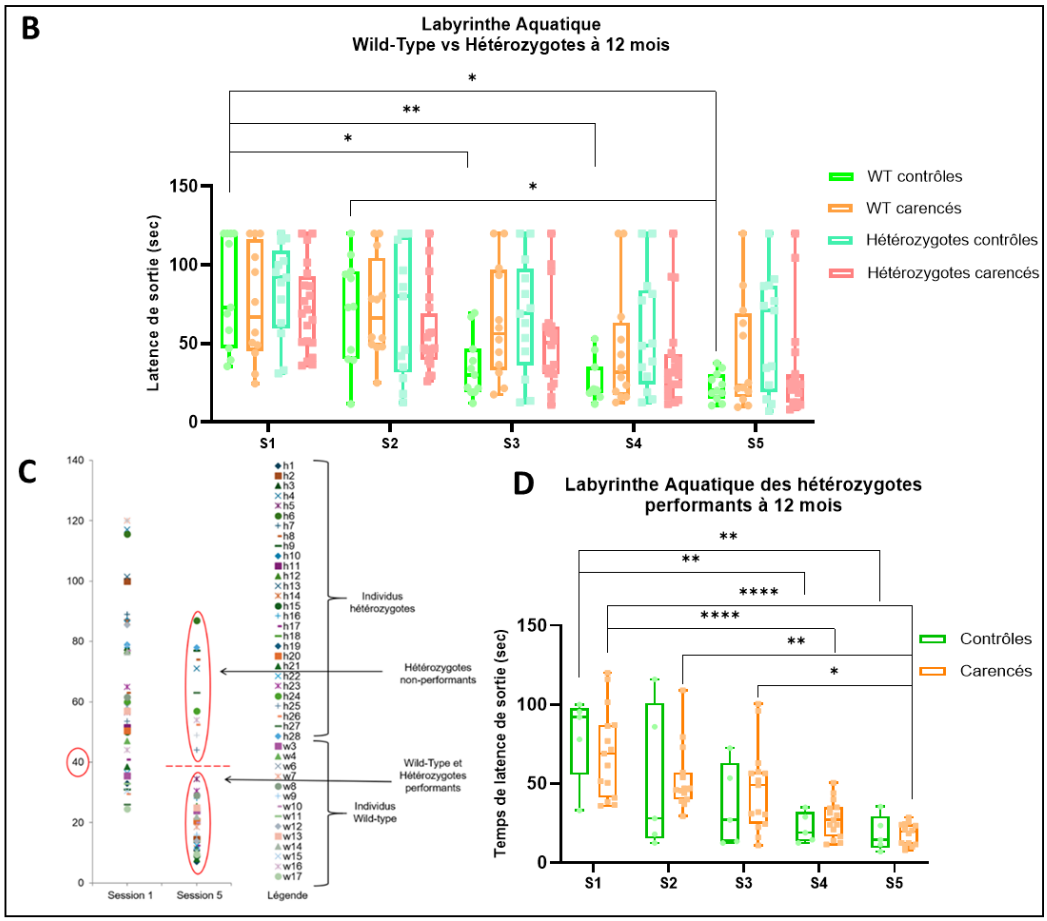
Atteintes motrices : A 12 mois d'âge, le paramètre distance totale parcourue ne montre pas de différence significative que ce soit en fonction du régime ou du génotype (**Figure 80-A et Données Supplémentaires Figure 99-A et B**). A ce stade ni le génotype, ni le régime, ni une éventuelle interaction entre les deux facteurs n'impactent l'activité locomotrice globale des animaux.

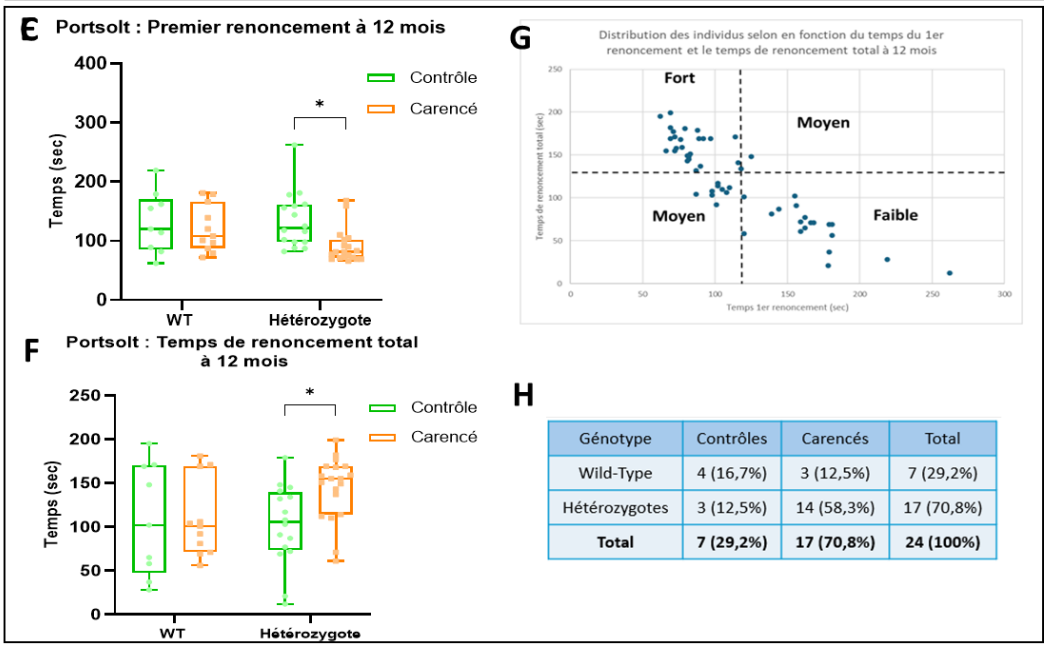
Atteintes cognitives : A 12 mois d'âge, le paramètre « latence de sortie » du labyrinthe aquatique montre chez les souris WT une diminution significative (p-value<0.05 pour toutes les sessions sauf de la session 1 à la session 4 p-value<0.01) en fonction des sessions d'apprentissage de S1 à S5, mais uniquement pour les souris nourries avec le régime contrôle. Cet aspect atteste d'un processus d'apprentissage/mémorisation effectif chez ces animaux (**Figure 80-B, Graphique du haut**). Il n'y pas d'effet génotype seul, en revanche il existe un effet cumulé(génotype/régime) à S3, S4 et S5 (p-value<0.01, 0.03 et 0.01 respectivement), ce qui indique que le régime agit sur le génotype, mais qu'il n'y a pas encore d'effet ponctuel ni du génotype, ni de la carence seuls pris indépendamment. Ce résultat statistique suggère de poursuivre le suivi des individus, et qu'un effet est potentiellement débutant à cet âge.

A 12 mois d'âge, Les souris Hétérozygotes présentent une nouvelle fois, comme à 9 mois d'âge un « split intra-groupe », avec des souris dites performantes et d'autres dites non-performantes (en considérant les mêmes paramètres dichotomiques que précédemment (**Figure 80-B, graphique de gauche et Données Supplémentaires Figure 99-C et D**). Il n'y a pas significativement plus de performants que de non-performants (Chi-2, p-value=0.22) et le régime n'en est pas la cause. En effet, les hétérozygotes non-performants sont composés à 62% d'animaux ayant suivi un régime contrôle et 38% ayant suivi un régime carencé (chi-deux, p-value=0.40). Pour les performants, on observe qu'il y a significativement plus de carencés que de contrôles (Chi-deux, p-value=0.012) ; effet probablement dû à un effectif non-homogène entre les groupes et/ou un effectif réduit en raison de la répartition intra-groupe performants/non-performants que l'on ne pouvait anticiper.

Les HET performants montrent sans surprise une diminution significative globale (p-value<0.0001) au cours des sessions d'apprentissage de S1 à S5 indépendamment du régime suivi, mettant en avant, à nouveau, un processus d'apprentissage/mémorisation effectif. En revanche aucun effet régime n'est observé (**Figure 80-B, graphique en bas à droite)**.







Génotype	Contrôles	Carencés	Total
Wild-Type	4 (16,7%)	3 (12,5%)	7 (29,2%)
Hétérozygotes	3 (12,5%)	14 (58,3%)	17 (70,8%)
Total	**7 (29,2%)**	**17 (70,8%)**	**24 (100%)**

Figure 80 : Bilan comportemental des souris HdhQ111 à 12 mois d'âge. *(A) Open Field : Aucune différence significative de distance totale parcourue, quel que soit le génotype ou le régime. Effectifs : WT contrôles : n=3, WT carencés : n=3, HET contrôles : n=3 et HET carencés : n=3. Analyses statistiques et graphique réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA). Labyrinthe aquatique : (B) Apprentissage global : Diminution significative de la latence de sortie chez les WT au fil des sessions, indépendamment du régime, traduisant un apprentissage efficace, contrairement aux HET. Aucun effet régime observé. Effectifs : WT contrôles : n=11, WT carencés : n=12, HET contrôles : n=13 et HET carencés : n=20. Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA, *p-value<0.05, **p-value<0.01). (C) Sous-groupes HET : Définis par (i) une diminution de la latence entre S1 et S5 et (ii) une latence < 40 s (seuil basé sur les WT). (D) HET performants : Diminution significative de la latence au cours des sessions, indépendamment du régime, avec une amélioration marquée chez les HET carencés (apprentissage préservé). Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA, *p-value<0.05, **p-value<0.01, ***p-value<0.001 et ****p-value<0.0001). Test de Porsolt : Pas d'effet génotype sur (E) la latence du premier renoncement ni sur (F) le temps total de renoncement, mais un effet régime observé chez les HET pour ces deux paramètres. (G) Une analyse en sous-groupes (seuils : 116 s pour la latence, 119 s pour le temps total) met en évidence (H) un effet génotype, avec une surreprésentation des HET dans la population sensible (χ^2, p = 0,041). Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA : *p-value<0.05, chi-deux). Effectif : WT contrôles : n=9, WT carencés : n=11, HET contrôles : n=16 et HET carencés : n=19.*

Atteintes comportementales de type dépressif : A 12 mois, les résultats ne montrent aucun effet de génotype, pour les deux paramètres principaux, (**Figure 80-C, graphiques de gauche**). Cependant un effet régime est observé pour les hétérozygotes. Alors que le régime n'influence pas les résultats chez les WT, elle provoque, au sein du groupe hétérozygote une diminution significative de la latence du premier renoncement (p-value=0.01), et une augmentation des renoncement totaux (p-value=0.04). La même analyse de sensibilité que précédemment a été réalisée. Parmi les 24 individus, 7 (29.2%) WT et 17 (70.8%) HET font partis de cette population (**Figure 80-C, graphique et tableau de droite**). Un test de chi-deux a permis de mettre en évidence qu'il y avait significativement plus (p-value=0.041) d'hétérozygotes que de WT, mettant en avant un effet génotype, se traduisant par une plus grande sensibilité au renoncement comportemental des animaux portant la mutation de la pathologie. A cela, s'ajoute un effet régime car parmi ces hétérozygotes, il y a significativement plus d'individus carencés que d'individus contrôles qui sont plus sensibles, ce qui veut dire que la carence aggrave la sensibilité des hétérozygotes à ces aspects pseudo-dépressifs.

Profil comportemental des souris *HdhQ111* à 15 mois :

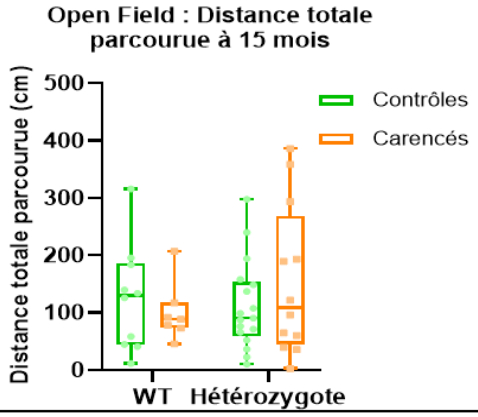
Atteintes motrices : Nous avons étudié les mêmes paramètres à 15 mois, mais aucune différence significative n'a été observée et ce, indépendamment du génotype ou du régime suivi (**Figure 81-A et Données Supplémentaires Figure 100**), probablement dû au vieillissement des souris WT, qui minimiserait d'éventuelles différences entre les groupes d'animaux.

Atteintes cognitives : A 15 mois d'âge, seules les souris WT nourries avec une alimentation non-carencées standard présentent un apprentissage global significatif de sessions en sessions avec p-value=0.0048 (**Figure 81-B**). Ce résultat montre que, malgré leur âge le processus d'apprentissage/mémorisation est toujours efficient. Malgré des performances apparemment moindres pour les WT carencés, aucune significativité n'apparaît en fonction du régime chez les WT (p>0.11). Les souris Hétérozygotes ne présentent pas d'apprentissage significatif, au contraire des souris WT. Il n'y a pas d'effet de l'alimentation ou du génotype (p-value>0.058 et p-value>0.13 respectivement) ; ces souris sont toutes non-performantes à l'âge de 15 mois (**Figure 81-B**).

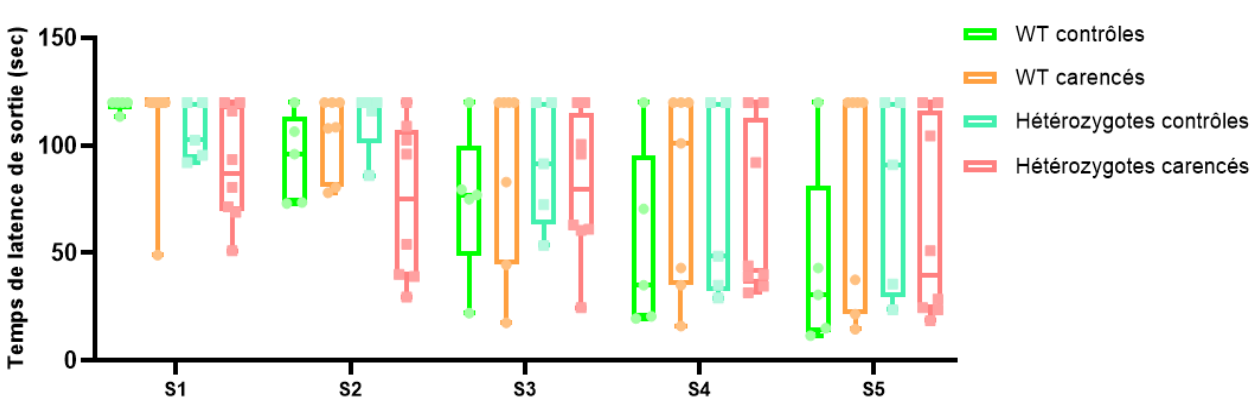
La séparation entre deux populations (performants et non performants) n'est plus visible. L'implication du vieillissement des animaux peut expliquer l'absence de différence significative. Pour cet âge il n'y a donc pas d'effet génotype ni d'effet régime. A noter que les effectifs de chaque sous-groupe ont été fortement impactés par la mort ou l'atteinte de point limite de nos animaux.

Atteintes comportementales de type dépressive : A 15 mois, les résultats ne montrent aucun effet de génotype, pour les deux paramètres principaux, (**Figure 81-C, Graphique de gauche**). Cependant un effet régime est observé pour les HET. Alors que la carence n'influence pas les résultats chez les WT, elle provoque, au sein du groupe hétérozygote une diminution significative des renoncement totaux (p-value=0.04), ce qui d'après nos observations pendant les tests pourrait être soit un effet de l'effectif assez réduit, soit le fait que ces individus reprennent souvent une nage faible et courte qui stoppe le comptage cumulatif du renoncement. La même analyse de sensibilité que précédemment a été réalisé. Parmi les 13 individus « très sensibles », 6 (46.2%) WT et 7 (53.8%) HET font partis de cette population (**Figure 81-C, Graphique et Tableau de droite**). Un test de chi-deux a permis de mettre en évidence qu'aucun effet génotype ni de régime n'apparaissent dans cette sous-population sensible.

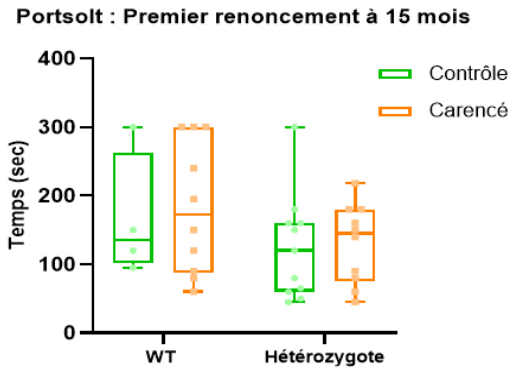
A

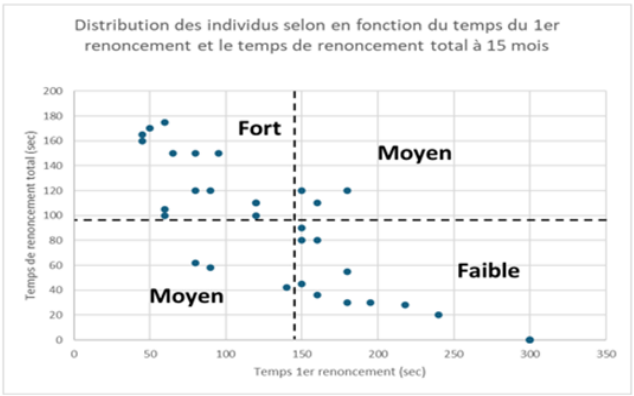


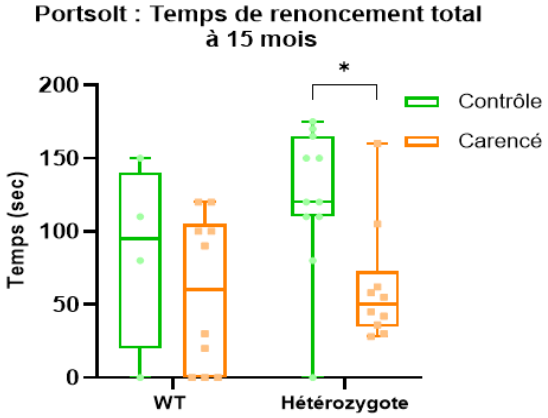
B



C







Génotype	Contrôles	Carencés	Total
Wild-Type	1 (7,7%)	5 (38,5%)	6 (46,2%)
Hétérozygotes	5 (38,5%)	2 (15,4%)	7 (53,8%)
Total	**6 (46,2%)**	**7 (53,8%)**	**13 (100%)**

Figure 81 : Bilan comportemental des souris HdhQ111 à 15 mois d'âge. *(A) Open Field : Aucune différence significative de distance totale parcourue selon le génotype ou le régime. Effectifs : WT contrôles : n=10, WT carencés : n=7, HET contrôles : n=17, HET carencés : n=12. Analyses et graphiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA). (B) Labyrinthe aquatique : Les WT non-carencés montrent une diminution globale significative de la latence au fil des sessions (Two-way ANOVA, p-value=0,0003), témoignant d'un apprentissage effectif, contrairement aux HET, indépendamment du régime. Effectifs : WT contrôles : n=5, WT carencés : n=7, HET contrôles : n=5, HET carencés : n=8. Analyses et graphiques réalisés sur GraphPad. Test de Porsolt : (C) Pas d'effet génotype sur la latence du premier renoncement. (D) Un effet régime est observé chez les HET pour le temps total de renoncement. (E-F) Une analyse en sous-groupes (seuils : latence = 148 s, temps total = 83 s ; lignes pointillée) ne révèle aucun effet du génotype ni du régime dans cette population sensible. Effectifs : WT contrôles : n=4, WT carencés : n=10, HET contrôles : n=11, HET carencés : n=10. Analyses et graphiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA et chi-deux).*

Résumé du profil des souris *HdhQ111*

Pris dans leur ensemble, les résultats montrent à 9 mois une absence de déficit moteur. En revanche, un trouble cognitif est observé, avec un effet génotype et un effet régime délétèrent sur le processus d'apprentissage pour les hétérozygotes. Et finalement un léger déficit psychiatrique est suggéré, puisqu'un effet croisé du régime et du génotype est mentionné par l'analyse statistique globale. Ces déficits sont couplés à des troubles du MMC, aboutissant à une hyperhomocystéinémie légère, qui est cependant plus marqué chez les hétérozygotes par rapport aux wild-type (**Tableau XIII**).

A 12 mois, un déficit moteur est observé, avec un effet régime pour les souris WT ainsi que les souris hétérozygotes. En revanche, par rapport à 9 mois, un déficit cognitif léger est observé, car seul un effet croisé du génotype et du régime est relevé par l'analyse statistique globale. A ce profil s'ajoute, un déficit psychiatrique plus marqué avec, un effet génotype négatif sur le comportement « depressive-like » ainsi qu'un effet régime délétère pour les hétérozygotes. Ces déficits sont à mettre en parallèles des troubles du MMC, aboutissant à une hyperhomocystéinémie modérée, toujours plus marquée chez les hétérozygotes (**Tableau XIII**).

Enfin à 15 mois aucun effet génotype ni d'effet régime ne sont relevés sur l'ensemble des paramètres comportementaux évalués. Ce phénomène s'explique probablement par l'impact du vieillissement de tous les individus quel que soit le groupe, notamment des WT, qui ne permet plus d'observer de différences de comportement significatives. A ces déficits, s'ajoute une atteinte de l'ensemble des voies du MMC avec une altération plus marquée de la voie de la transsulfuration chez les HET, se traduisant par une hyperhomocystéinémie sévère (**Tableau XIII**).

Tableau XIII : Bilan du profil métabolique et comportemental des souris HdhQ111. *Tableau récapitulatif des troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques avec un parallèle sur le statut métabolique observés chez les souris HdhQ111 en fonction de l'âge étudié.*

Âge	Symptômes	Effet	Métabolisme
9 mois	Moteur : -	/	Légère altération du cycle des folates et de la voie de la transulfuration entrainant une HHCY légère Plus marqué chez les hétérozygotes
	Cognitif : +	**Effet Génotype** **Effet Régime** pour les hétérozygotes	
	Psychiatrique : +/-	**Effet Croisé** génotype et régime	
12 mois	Moteur : +	**Effet Régime globale**	Altération plus marquée du cycle des folates et du cycle de la méthionine HHCY intermédiaire
	Cognitif : +/-	**Effet Croisé** génotype et régime	
	Psychiatrique : +	**Effet Génotype** **Effet Régime** pour les hétérozygotes	
15 mois	Moteur : -	/	Altération relative du cycle des folates et de la méthionine et Altération plus marquée de la voie de la transulfuration HHCY sévère
	Cognitif : -	/	
	Psychiatrique : -	/	

B- Discussion

Notre approche de la physiopathologie de la maladie de Huntington avec un modèle animal nous a permis d'évaluer notre hypothèse que la dérégulation du métabolisme des monocarbones (MMC), induisant une hyperhomocystéinémie (HHCY), pouvait impacter la survenue et/ou la gravité des symptômes de la MH. Nous avons focalisé nos investigations comportementales sur deux aspects neuro-fonctionnels caractéristiques de la maladie, à savoir les troubles locomoteurs et les troubles cognitifs, avec deux catégories cognitives que sont l'apprentissage-mémorisation et les aspects psychiatriques. Ces deux aspects peuvent s'analyser selon diverses modalités neuro-fonctionnelles, chacune indiquant une composante de la locomotion, d'une part, et de la cognition, d'autre part, globalement. Nous avons étudié l'activité générale locomotrice, ainsi que la qualité de la coordination des mouvements, d'une part ; puis pour la cognition, les capacités d'apprentissage/mémorisation, le niveau d'anxiété et la sensibilité au renoncement comportemental révélateur chez les rongeurs de la dépression chez l'Homme (Ciamei et Morton 2009; Björkqvist et al. 2008; Kraeuter et al. 2019; Nebuka et al. 2020).

Le suivi comportemental des souris *HdhQ111* a montré dans un premier temps que la motricité globale ne fait apparaître aucune différence significative à 9 mois, mais que l'effet du régime apparaît au point de mesure 12 mois. Quel que soit le génotype, la carence est associée à une réduction significative de la motricité globale des souris, avant d'observer une réduction pour tous les groupes avec l'âge, à 15 mois. Cet effet de réduction de l'activité locomotrice aurait pu représenter un biais pour l'analyse des aspects anxieux et cognitifs, car la plupart des tests sont basés sur le déplacement des souris. Cependant, l'évaluation de l'anxiété avec, dans un premier temps l'Open-field, puis par le labyrinthe en croix surélevé avec des quantifications non-significatives, nous indique que les aspects locomoteurs au sein de l'activité générale ne semblent pas neuro-moteurs, mais plus certainement liés à une réduction de la motivation des souris à réaliser les tests (Kulesskaya et Voikar 2014). En effet, le test plus spécifique pour mesurer l'anxiété, le labyrinthe en croix surélevé, n'a donné que très peu de résultats significatifs, indiquant que le niveau d'anxiété réel de ce modèle de souris ne semble pas être affecté ni par le génotype, ni par la carence. Il en est de même pour le test de coordination des mouvements de l'échelle linéaire qui n'a pas non plus donné de significativités notables selon le génotype ou le régime alimentaire.

L'analyse des performances d'apprentissage/mémorisation en labyrinthe aquatique doit ainsi être réalisé en tenant compte d'un effet léger mais notable sur l'activité locomotrice. Le fait que ce labyrinthe soit en condition aquatique a justement pour but de motiver les souris à activement rechercher la sortie du labyrinthe. Ainsi, les effets mesurés avec le test du labyrinthe aquatique peuvent être considérés comme pertinents pour discuter des capacités cognitives en termes d'apprentissage-mémorisation. Le premier passage des souris à 9 mois montre que les animaux WT manifestent un apprentissage par la diminution de la latence de sortie de session en session, et ceci quel que soit le régime alimentaire. De plus, à cet âge, aucun effet du régime n'apparaît. Par ailleurs, ce résultat permet de bien valider le test vis à vis de l'évaluation d'apprentissage visuo-spatial (contrôle positif interne à l'expérimentation). Le génotype et le régime montrent des effets chez les souris hétérozygotes. Une séparation intra-groupe fait apparaître des souris non-performantes avec des pourcentages élevés au sein des groupes. Il est également important de noter que, même les souris les plus performantes hétérozygotes sont significativement moins performantes que les souris WT, ce qui correspond à d'autres résultats sur d'autres modèles murins de la MH en des temps relativement précoces pour la maladie (Koch et al. 2024; Badreddine et al. 2025). A 12 et 15 mois d'âge, les effets du génotype et du régime alimentaire observés à 9 mois sont confirmés, avec notamment la même séparation intra-groupe entre des souris performantes et non-performantes chez les hétérozygotes de 12 mois. A 15 mois, l'effet du régime alimentaire semble s'estomper, alors que l'effet génotype est majeur, puisque par rapport aux souris WT, les hétérozygotes présentent des performances significativement inférieures comme précédemment publié dans ce modèle en lien avec la signalisation des récepteurs glutamatergiques AMPA/NMDA et le facteur de transcription CREB dans l'hippocampe (Giralt et al. 2012).

Pris dans leur globalité, ces résultats de 9 à 15 mois montrent que l'impact de la MH et la synergie délétère de l'HHCY sur les processus d'apprentissage/mémorisation serait relativement précoce dans la physiopathologie de la maladie (Dargaei et al. 2019). De plus, l'effet de la carence en vitamines du groupe B présenterait un facteur aggravant ; ce qui apparaît à la fois lors des comparaisons âges par âges indépendamment les uns des autres, mais aussi lors du suivi longitudinal au cours de l'âge, génotype par génotype.

Enfin, l'autre aspect cognitif étudié par le test de la nage forcée, qui renseigne sur la sensibilité au renoncement comportemental, montre également des effets du génotype et du régime en fonction de l'âge. Alors que seul un effet croisé du génotype et du régime apparaît à l'âge de 9 mois, indiquant potentiellement un début de mécanisme, sans effet strict de l'une ou de l'autre des caractéristiques génotype ou alimentation, c'est à l'âge de 12 mois que sont révélés des effets du génotype et du régime. Le principal résultat apparaît chez les hétérozygotes, avec un impact significatif de la carence dans le sens d'une aggravation des conséquences comportementales en matière de renoncement. La répartition des individus au sein des sous-populations de niveau de sensibilité au renoncement confirme également cet aspect. A 15 mois d'âge, les effets quantifiés à 12 mois n'apparaissent plus de façon significative, sauf pour la fréquence d'individus très sensibles au renoncement, indiquant une réduction de l'impact « depressive-like » chez ce modèle Huntington, liée au vieillissement.

Dans notre modèle *HdhQ111* HHCY un pic d'effets mesuré à 12 mois d'âge, mais dont les mécanismes neurologiques semblent survenir entre 9 et 12 mois d'âge serait la principale caractéristique, avec un effet régime fort, puis une diminution liée à l'âge. Cette évolution est cohérente avec les observations cliniques rapportées chez l'homme (Zadegan et al. 2025; Grogans et al. 2023), ainsi qu'avec les résultats obtenus dans certains modèles murins de la MH, caractérisés notamment par une diminution de la motivation et des interactions sociales (DiFiglia et al., s. d.; Pang et al. 2009).

En parallèle, l'analyse métabolomique du plasma des souris du modèle murin *HdhQ111* a montré chez les hétérozygotes carencés notamment de multiples atteintes du métabolisme des monocarbones avec une suractivation globale de ce métabolisme. En effet, la consommation de glycine et de méthyltétrahydrofolate est concomitante à une augmentation de la SAH et de l'HCY au sein du cycle de la méthionine. Il est reconnu que la SAH est un activateur de la CBS, la première enzyme de la voie de la transsulfuration (Froese et Gravel 2010). Ainsi son accumulation pourrait participer à la suractivation de la CBS, suggérant une réaction métabolique adaptative pour compenser l'accumulation de l'HCY neurotoxique pro-oxydante. Cependant, il semblerait que la suite de la voie soit altérée car malgré la synthèse accentuée de cystathionine, les derniers métabolites de la voie, (glutathion) sont diminués indiquant une dérégulation au niveau de la deuxième enzyme de la voie la CSE, soit en termes de niveau d'expression ou d'activité enzymatique.

On peut émettre l'hypothèse que l'augmentation de l'interaction de la CSE avec la mHTT inhibe son activité en particulier en condition hyperhomocystéinémique. Pour aller dans ce sens, il a récemment été montré que la HTT non mutée stimule l'activité de la CSE, autant en termes de production d'H_2S que de cystéine, tandis que la mHTT l'inhibe menant à une altération du métabolisme de la cystéine, et donc du glutathion (Paul et al. 2022b) . L'accumulation d'homocystéine ne peut être compensée par la seule voie de la reméthylation du MMC, en raison des altérations du cycle des folates et du cycle de la méthionine. Associée à une diminution du glutathion, cette situation expose les hétérozygotes carencés à une vulnérabilité accrue au stress oxydatif, susceptible d'entraîner une diminution de la plasticité synaptique et de favoriser des processus neurodégénératifs. Ces mécanismes pourraient contribuer, au moins en partie, aux altérations comportementales observées.

En résumé, notre étude dans le modèle *HdhQ111* HHCY permet de démontrer que l'implication d'une altération du MMC dans la physiopathologie de la MH se manifestant au niveau fonctionnel par :

- Une altération précoce des capacités d'apprentissage/mémorisation hippocampo-dépendantes
- Une sensibilité accrue au renoncement comportemental de type « depressive-like behavior »
- Une altération légère de l'activité locomotrice et postérieure aux aspects cognitifs

IV- Conclusion générale : Existe-t-il un dysfonctionnement du MMC dans la maladie de Huntington pouvant participer à sa grande variabilité phénotypique ?

Comme exposé dans la partie introductive, la MH présente une grande variabilité phénotypique, tant en ce qui concerne l'âge d'apparition des symptômes que leur sévérité et leur vitesse d'évolution, et ce pour un nombre de répétitions CAG identique. Cette observation suggère l'intervention de facteurs modulateurs supplémentaires, notamment environnementaux. La revue de la littérature met en avant un faisceau de données qui tend à montrer que le MMC pourrait faire partie de ces facteurs environnementaux (C.-Y. Hung et al. 2022; Xie et al. 2023). Les patients atteints de la MH présentent généralement une homocystéinémie élevée (Andrich et al. 2004a). Cette élévation pourrait être liée au rôle de la huntingtine (HTT) dans la régulation de la voie de la transsulfuration (Sbodio et al. 2019c; Paul et al. 2022b). Néanmoins, l'implication des altérations du MMC dans la MH demeure controversée notamment concernant le rôle du polymorphisme MTHFR du cycle des folates (Brune et al. 2004a; W. Hansen et al. 2005a).

Dans ce contexte, il apparaissait pertinent d'explorer plus précisément les interactions entre le MMC et la physiopathologie de la MH, en particulier à travers l'étude des altérations métaboliques observées chez les patients et dans les modèles expérimentaux.

L'étude chez les patients MH montre une forte prévalence des troubles du MMC estimée à 61% et parmi ces patients, 48% présentent une HHCY. La proportion d'HHCY isolée reste élevée avec une prévalence de 28,6%. Cette étude confirme également une homocystéinémie significativement plus élevée dans la population MH par rapport aux témoins. Parallèlement, l'étude a mis en évidence, une évolution significativement plus rapide des symptômes de la maladie chez les patients avec trouble du MMC qui corrèle positivement avec l'homocystéinémie. Des résultats similaires ont été obtenus dans la maladie de Parkinson avec une implication de l'homocystéinémie dans la progression des symptômes moteurs et cognitifs (Bakeberg et al. 2019a). Les analyses supplémentaires d'exome à la recherche de variants dans des gènes du MMC pouvant expliquer les HHCY isolées sont en cours. Cependant les résultats préliminaires obtenus pour 10 patients sont en faveur d'une influence des variants fréquents (polymorphisme *MTHFR*) mais également de variants rares de ces gènes sur la concentration plasmatique en homocystéine.

5 patients présentaient un polymorphisme *MTHFR*, à l'état hétérozygotes, tous associés à une HHCY. Or ces polymorphismes ne sont normalement pas responsables d'HHCY à l'état hétérozygotes (Guéant-Rodriguez et al. 2006; Zappacosta et al. 2014; Nefic et al. 2018; Araszkiewicz et al. 2025). Ces observations suggèrent que dans le contexte de la MH le portage hétérozygote d'un polymorphisme de la *MTHFR* pourrait être associé à une HHCY et à une évolution plus rapide de la maladie. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Brune et collaborateurs, mais en contradiction avec les travaux de Hansen et collaborateurs (Brune et al. 2004b; W. Hansen et al. 2005b).

Ces résultats suggèrent également que, chez les patients atteints de la MH présentant une HHCY, le dépistage de polymorphismes et de variants dans les gènes impliqués dans le MMC pourrait présenter un intérêt clinique. Par exemple, l'identification de variants du gène *MTHFR* peut conduire à proposer une supplémentation en vitamine B9, y compris en l'absence de carence biologique apparente.

La prévalence de l'HHCY isolée est davantage présente chez les patients présymptomatiques, suggérant une implication précoce de l'élévation de l'homocystéine dans l'évolution de la MH. Ainsi, L'HHCY pourrait participer, indépendamment du nombre de triplets CAG, au processus neurodégénératif qui débute parfois plus de 10 ans avant l'apparition des premiers symptômes de la maladie (Elizabeth H. Aylward et al. 2011; Papoutsi et al. 2014). Il est globalement considéré que la toxicité de l'homocystéine est principalement liée à l'induction d'un stress oxydant. Des taux élevés d'HCY induisent une peroxydation des lipides, la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une perte de la protéostasie et des dommages à l'ADN pouvant favoriser l'instabilité génomique et l'expansion somatique des répétitions CAG (Jacobsen 2000; Fenech 2010c; Guéant et al. 2013; Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025).

Le modèle murin *HdhQ111* HHCY met en évidence une chronologie d'apparition des symptômes similaire à celle observée dans notre étude clinique, caractérisée par l'émergence initiale de troubles cognitifs suivie de manifestations motrices. En effet, les animaux hétérozygotes carencés HHCY, présentent des troubles cognitifs entre 9 et 12 mois (labyrinthe aquatique), suivis ensuite de troubles moteurs (open Field) qui sont révélés statistiquement à 12 mois, cumulés à l'apparition de troubles « depressive-like » également observés chez les patients.

Ce modèle expérimental reproduit également les anomalies du MMC, en particulier ceux de la voie de la transsulfuration, observés chez le patient atteint de la MH. Ces résultats permettent de valider les observations issues de l'étude clinique, mais également la pertinence du modèle expérimental, qui pourra être utilisé dans le cadre de futurs projets visant à explorer de nouvelles pistes thérapeutiques.

Il existe donc, dans la MH, un potentiel dérèglement du MMC, se traduisant majoritairement par une HHCY, impactant la physiopathologie de la MH puisque les patients HHCY présentent une évolution significativement plus rapide de la maladie (**Figure 82**).

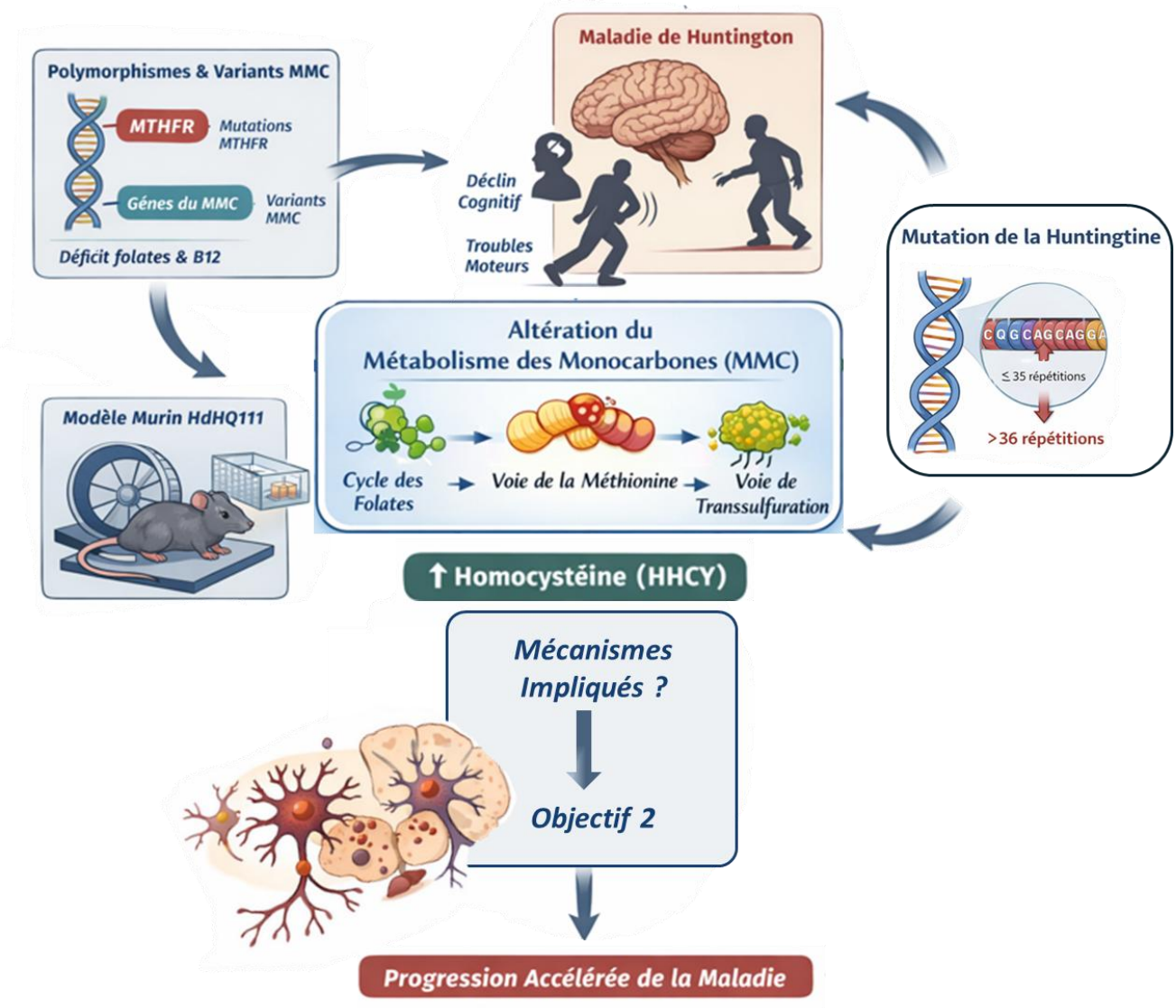


Figure 82 : Schéma de synthèse résumant les résultats de l'objectif 1. *Une altération du MMC, d'origine génétique avec la mutation du gène HTT ou directement des polymorphismes du MMC, se traduit majoritairement par une H*CY. *Cette dernière, pourrait être à l'origine de dérèglement cellulaire multiple, pouvant expliquer en partie les phénotypes observés chez les patients de la cohorte HO-HD ainsi que chez le modèle murin HdhQ111.*

Ces résultats soulèvent plusieurs questions fondamentales. En particulier, par quels mécanismes les anomalies du MMC sont-elles susceptibles de potentialiser les effets de la mutation du gène HTT dans la maladie de Huntington ? Par ailleurs, quelles sont les conséquences moléculaires et cellulaires associées au portage hétérozygote du polymorphisme MTHFR et/ou de l'HHCY chez les patients atteints de MH ?

Plus spécifiquement, il apparaît nécessaire de mieux comprendre les mécanismes susceptibles d'altérer la voie de la transsulfuration dans ce contexte. En effet, plusieurs observations suggèrent une perturbation de cette voie métabolique, caractérisée par une accumulation de cystathionine associée à une diminution des niveaux de cystéine et de glutathion. De telles altérations pourraient conduire à une réduction des capacités antioxydantes cellulaires et ainsi contribuer à l'augmentation du stress oxydant, un mécanisme déjà largement impliqué dans la physiopathologie de la maladie de Huntington.

V- Matériel et Méthode

A- Etude princeps

Soixante-dix-sept patients MH (CAG>39) ont été recrutés entre janvier 2020 et juin 2023, soixante-deux symptomatiques et quinze pré-symptomatiques. Tous les volontaires ou leurs représentants légaux ont accepté de participer après avoir donné leur consentement éclairé et signé un formulaire non-opposition. Les critères d'exclusion étaient :

- Patients âgés de moins de 18 ans
- Patients ne pouvant être suivis dans notre centre
- Femmes enceintes
- Patients présentant des troubles cognitifs empêchant la bonne compréhension du protocole d'étude

La consultation d'inclusion a permis de recueillir l'ensemble des données cliniques, de réaliser l'échelle clinique UHDRS-moteur, les différentes analyses biologiques et biochimiques avec mise en banque de l'ADN. Afin d'estimer la progression des symptômes moteurs au fil du temps depuis le début déclaré des symptômes moteurs dans la population MH, nous avons calculé un ratio correspondant à la progression de l'UHDRS moteur en fonction du temps estimé en mois (ratio mUHDRS/durée des symptômes moteurs). En termes de population contrôle, nous avons utilisé les données biologiques et biochimiques provenant de 134 individus sains (groupe CMP, centre de médecine préventive de Nancy).

B- Cohorte HO-HD

La cohorte HO-HD (CPP 1-21-018 ID 11541) se compose de trente-deux patients MH, tous avec une répétition de triplets CAG supérieure à trente-neuf. L'inclusion a été réalisée de mars 2022 à juin 2023. Tous les volontaires ou leurs représentants légaux ont accepté de participer après avoir donné leur consentement éclairé et signé un formulaire non-opposition. Les critères d'inclusion et d'exclusion sont les mêmes que pour l'étude princeps. Les groupes CMP et HSN ont été utilisés comme contrôles.

Lors des inclusions une biopsie de peau a été réalisée afin de procéder à des études mécanistiques sur des cultures de fibroblastes. Cinq lignées complémentaires de fibroblastes de patients MH ont été inclues à ce travail au travers du centre de référence des maladies rares du métabolisme du CHRU de Nancy (1 présymptomatique et 4 symptomatiques). Dix lignées contrôles de fibroblastes issus de conjoint(e)s de patients ont été obtenues via la CRBL (Centre de Ressources Biologiques Lorrain).

C- LCMS-MS

Une extraction mécanique est réalisée à l'aide de PBS 0,1X, suivi par un choc thermique (3 cycles congélation/décongélation) et une ultrasonication (Fisher, Illkirch, France). Les protéines sont ensuite dosées en utilisant le kit BCA (BC Assay Protein Quantificatioin Kit, Advion Interchim). L'absorbance est mesurée à 570nm au spectrophotomètre (Multiskan GO, ThermoFisher Scientific). Une gamme de standard des métabolites à analyser, est réalisée (**Fiche 3 : Étude métabolomique**) et à partir de cette dernière une dilution en cascade avec 10 points de gamme est réalisée au 1/10ème. En parallèle, une solution de standards internes (**Fiche 3 : Étude métabolomique)** est préparée et distribuée dans les échantillons. Cette solution est nécessaire à la pondération des données.

Les protéines sont ensuite précipitées par ajout d'acide formique 0,1%.Les échantillons sont injectés à travers une phase stationnaire (kinetex, phenomenex 100x4,6 mm, C18, colonne composée d'une résine en polymère de silice avec des greffons de 18 carbones) par une phase mobile Tampon A (Acide Trifluoroacétique 0,1% (v/v) dans de l'eau ultrapure) s'écoulant à haute pression en phase inverse permettant sa rétention puis élué par le Tampon B (Acide Trifluoroacétique 0,1% (v/v) dans de l'acétonitrile ultrapure).

L'interaction chimique entre la phase stationnaire, mobile et les composants de l'échantillon engendre différentes vitesses de migration à travers la colonne effectuant une séparation. Après élution de la colonne de chromatographie, l'éluât est dirigé vers le spectromètre de masse (Shimadzu LCMS 8045, ESI Triple quadripoles). Les résultats sont exprimés en µmol/L.

D- Modèle murin de la maladie de Huntington : *HdhQ111*

Le modèle CD1 *HdhQ111* est un modèle knock-in de l'exon 1 du gène de la huntingtine humaine avec 111 répétitions de triplets CAG. Ce modèle a été obtenu via notre collaboration avec Sandrine Humbert et Frédéric Saudou de l'Institut des Neurosciences de Grenoble. Dans chaque groupe génétique, nous avons soumis une partie des animaux à un régime carencé en vitamine B9 et B12 à l'âge de 2 mois (SDS Dietex low B vitamine). Tous les animaux suivront une batterie de tests comportementaux (**Fiche 8 : Protocol Animal de carence adulte – Modèle *HdhQ111***).

D'un point de vue global, les tests comportementaux (**Saisine :APAFIS #25227-2020**) utilisés lors du suivi longitudinal des souris *HdhQ111*, sont des tests standardisés grâce au monitoring video-tracking (View-Point, Lyon, France). Leur mise en œuvre a été réalisée selon des conditions déjà publiées à de nombreuses reprises par le laboratoire (Pourié et al., 2022 ; Hassan et al., 2023). Plusieurs paramètres sont mesurés lors des tests standardisés, mais seuls les paramètres qui présentent une significativité sont présentés dans la section des résultats. Les tests de l'échelle linéaire pour la motricité et la coordination des mouvements et le test du labyrinthe en croix surélevé n'ont pas donné de résultats significatifs solides ni en fonction du génotype, ni en fonction du régime alimentaire. Tous les deux mois, un échantillon de sang a été prélevé afin de mesurer les paramètres biochimiques circulants. Les animaux ont été anesthésiés sous isoflurane 2,5%/air et 6 gouttes de sang récupérées après perforation de la veine sous-mandibulaire.

Les animaux ont été mis à mort à la fin du protocole ou après atteinte d'un point limite, par décapitation après anesthésie à l'isoflurane 2.5% air. Lors de la mise à mort, un dernier prélèvement sanguin a été réalisé et le foie et le cerveau prélevés. Pour le cerveau, une moitié a été incluse en paraffine pour les analyses d'immunohistochimie et l'autre moitié microdisséquée pour isoler, le cortex frontal, le striatum, l'hippocampe, l'hypothalamus, le cervelet, le tronc cérébral et le reste du cerveau.

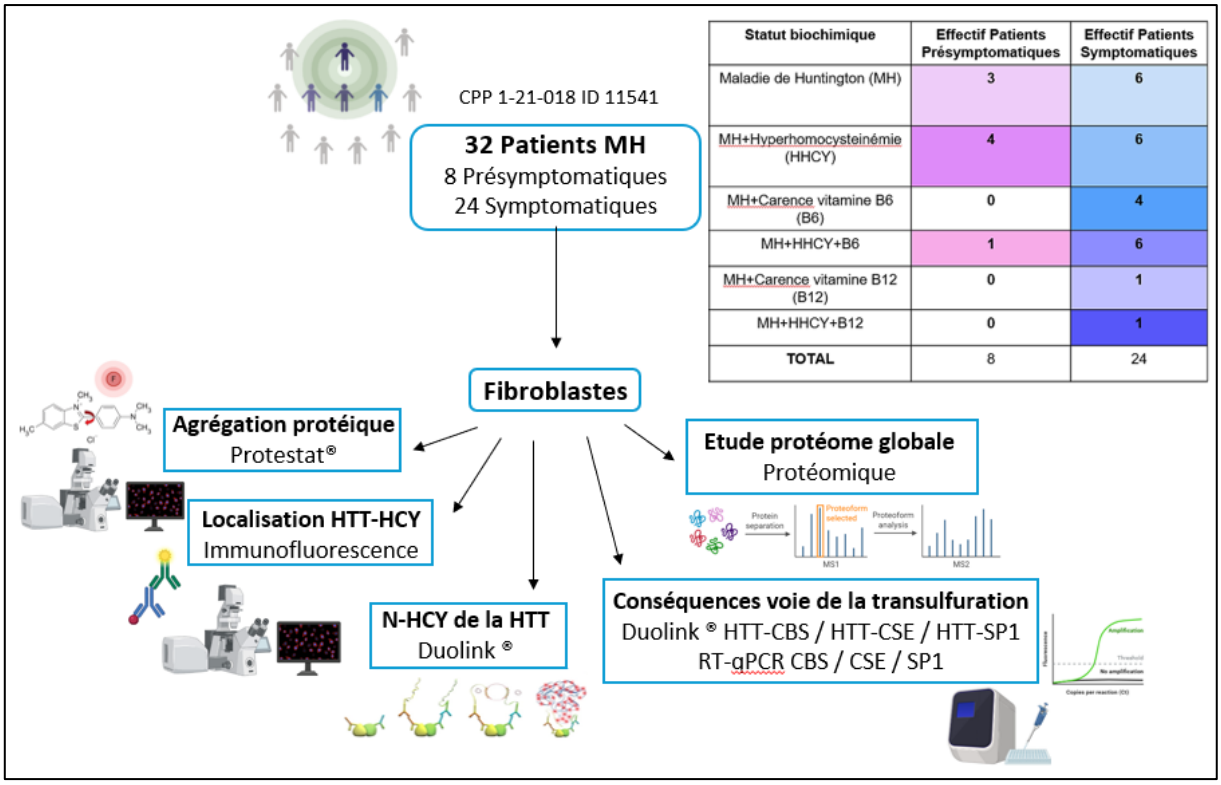
E- Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées via le logiciel GraphPad. La normalité et l'égalité des variances, ont d'abord été vérifiées (Test de Shapiro-Wilk). Pour comparer 3 groupes biologiques ou plus, dans le cas d'un test paramétrique, une ANOVA est réalisée, à un ou deux facteurs en fonction de l'expérience. Si la p-value est inférieure à 0,05, alors un test de comparaison multiple est réalisé grâce au test de Tukey. Dans le cas d'un test non paramétrique, un test de Kruskal-Wallis est réalisé. Si la p-value est inférieure à 0,05, alors un test de comparaison multiple est réalisé grâce au test de Dunn. Pour comparer 2 groupes biologiques, dans le cas d'un test paramétrique, un test t de Student est réalisé. Dans le cas d'un test non paramétrique, un test de Mann-Whitney est réalisé. Une différence sera considérée comme significative lorsque la p-value sera inférieure à 0,05.

Objectif 2 : Quelles sont les conséquences moléculaires et cellulaires d'une altération du métabolisme des monocarbones dans la maladie de Huntington ?

Pour faire suite aux questions soulevée à la fin de la première partie de ce travail, Il s'agissait, dans cette deuxième partie, de préciser les mécanismes sous-jacents liant les troubles du métabolisme des monocarbones (MMC) aux symptômes observés. Nous avons émis l'hypothèse que l'hyperhomocystéinémie (HHCY), observée de manière récurrente chez les patients, serait un acteur clé au sein de ces mécanismes physiopathologiques. En effet, comme nous l'avons évoqué dans la partie introductive, dans un contexte hyperhomocystéinémique, l'HCY est pris en charge par l'enzyme MARS afin d'être fixée aux protéines sous forme d'HCY thiolactone. Ce processus est appelé, la N-homocystéinylation (N-HCY) des protéines et provoque l'agrégation ainsi que la perte de fonction de ces dernières (**Introduction - La N-Homocystéinylation des protéines**). La N-HCY pourrait donc exacerber, chez les patients, l'agrégation et la perte de fonction des protéines et notamment de la HTT, potentialisant ainsi les effets délétères de la mutation du gène HTT

La première étape de ce travail a consisté à étudier l'agrégation protéique dans un contexte d'hyperhomocystéinémie. Nous avons ensuite cherché à confirmer la N-homocystéinylation (N-HCY) de la huntingtine (HTT) chez des patients atteints de la MH, comme cela a été démontré chez les patients présentant un déficit de type CblG. Enfin, nous avons étudié les conséquences de cette N-HCY de la HTT sur l'homéostasie cellulaire, en ciblant plus particulièrement la régulation de la voie de la transsulfuration. Les lignées de fibroblastes des trente-deux patients de la cohorte HO-HD ont été analysée par la technique du Proteostat® couplée à une immunofluorescence ciblant l'HCY afin d'évaluer et de quantifier les agrégats chez les patients en fonction de leur statut biochimique. Des immunofluorescences, dirigées contre l'HCY et la HTT, ont été réalisées, pour analyser leur localisation au sein de la cellule et valider leur co-localisation. Par la suite, des Duolink® ciblant l'interaction de la HTT avec l'HCY, ont été réalisés, afin de confirmer la N-HCY de la HTT et de la quantifier en fonction des différents statuts biochimiques de la cohorte. Enfin, nous avons réalisé une étude plus approfondie de la voie de la transsulfuration. En effet, nous avons mis en évidence dans la première partie de l'étude que cette voie était la plus touchée dans le MMC des patients MH, mais également car la HTT intervient directement dans la régulation de cette voie (**Figure 83**).



Statut biochimique	Effectif Patients Présymptomatiques	Effectif Patients Symptomatiques
Maladie de Huntington (MH)	3	6
MH+Hyperhomocysteinémie (HHCY)	4	6
MH+Carence vitamine B6 (B6)	0	4
MH+HHCY+B6	1	6
MH+Carence vitamine B12 (B12)	0	1
MH+HHCY+B12	0	1
TOTAL	8	24

Figure 83 : Protocole expérimental sur les fibroblastes des patients HO-HD. *Schématisation des différentes expérimentations réalisées sur les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD afin d'étudier les mécanismes sous-jacents impliqués dans l'évolution plus rapide des symptômes chez les patients MH présentant une anomalie du métabolisme des monocarbones. Les différentes anomalies biochimiques liées à ce métabolisme sont indiquées dans le tableau.*

I- Etude de l'agrégation protéique dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD

L'un des mécanismes pathologiques majeur de la maladie de Huntington est l'accumulation et l'agrégation de la protéine HTT au sein des cellules. Comme décrit précédemment, ce phénomène conduit à une perte de fonction de la protéine et engendre, à une échelle plus large, des dysfonctionnements intra- et intercellulaires. Dans le compartiment cytoplasmique, l'agrégation de la HTT est notamment associée à une altération de l'homéostasie protéique, à la formation d'inclusions cytoplasmiques, ainsi qu'à des perturbations du métabolisme mitochondrial et lipidique. Au niveau nucléaire, l'agrégation de la HTT contribue à une dérégulation de la transcription (**Introduction - Dysfonctionnements transcriptionnels et altérations de la signalisation**).

Afin de valider notre modèle expérimental et de confirmer la présence d'une agrégation protéique dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD, nous avons cherché à déterminer si un dysfonctionnement du MMC associé à HHCY, pouvait constituer un facteur aggravant de ce processus.

Dans la cohorte HO-HD parmi les patients présymptomatiques (8 patients), 4 présentaient une *H*HCY isolée et un patient présentait une HHCY associé à une déficience en vitamine B6, 62,5% des patients présymptomatiques étaient HHCY. Parmi les patients symptomatiques (24 patients) 6 présentaient une *H*HCY isolée, 6 patients présentaient une *H*HCY associé à une déficience en vitamine B6 et 1 patient présentait une HHCY associé à une déficience en vitamine B12, 54% des patients symptomatiques étaient HHCY. Sur l'ensemble de la cohorte HO-HD, 58, 25% des patients étaient par conséquent HHCY (**Figure 83**).

Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'HHCY pourrait favoriser l'agrégation protéique via des mécanismes de N-homocystéinylation (N-HCY).

Dans cette optique, un marquage Protéostat® a été réalisé, couplé à une immunofluorescence dirigée contre l'homocystéine. Dans le processus de N-HCY, l'homocystéine thiolactone réagit avec les résidus lysines des protéines, ce qui induit des modifications conformationnelles, notamment une transition des hélices α vers des structures en feuillets β, favorisant les défauts de repliement et l'agrégation protéique (Jakubowski, 2019). Le kit Protéostat® (Enzo Life Sciences) permet le marquage spécifique des agrégats protéiques riches en feuillets β et leur quantification sous la forme de spot émettant une immunofluorescence rouge.

Dans un premier temps, le nombre de spots par cellule a été comparé entre des fibroblastes néonataux humains non traités (HDFn, contrôle négatif) et les fibroblastes néonataux humains traités pendant 24 h avec 100 µM d'homocystéine thiolactone (HDFn + HCY, contrôle positif) (**Figure 84 A-B-G**). Cette analyse permet d'évaluer l'impact direct de l'homocystéine sur l'agrégation protéique globale. Une augmentation marquée du nombre de spots est observée dans les cellules HDFn + HCY, avec une forte colocalisation des agrégats protéiques et de l'homocystéine, visible par un signal jaune. Le comptage du nombre moyen de spots par cellule révèle une augmentation significative du nombre d'agrégats protéiques dans le groupe HDFn + HCY par rapport au groupe HDFn (p-value< 0,0001) (**Figure 84-F**).

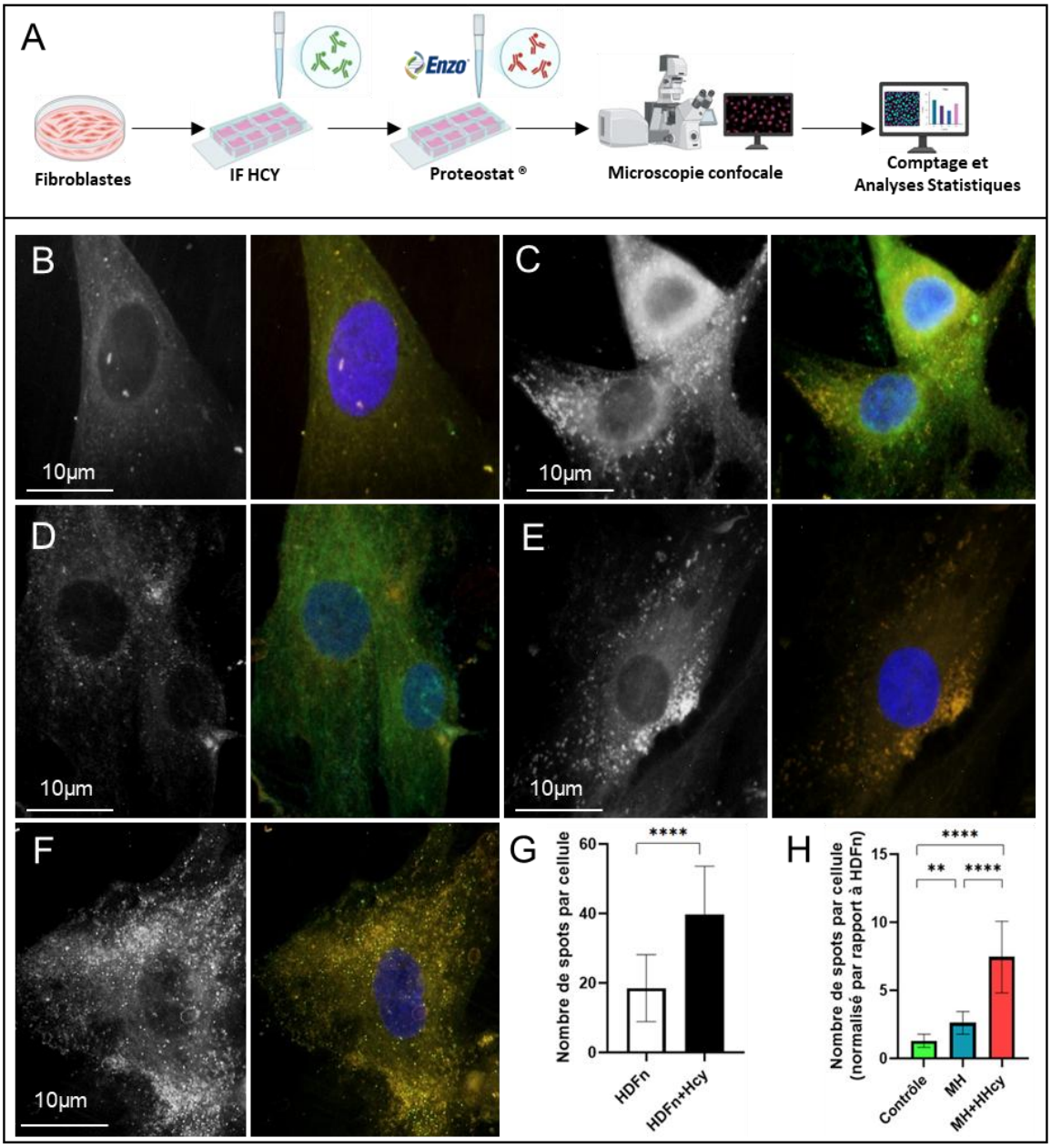


Figure 84 : Analyse et quantification des agrégats protéiques associés à l'homocystéine. *(A) Schéma expérimental ; (B-F) Images représentatives de fibroblastes montrant l'agrégation protéique et l'immunomarquage de l'homocystéine dans les différents groupes expérimentaux : (B) HDFn, (C) HDFn +* HCY*, (D) contrôles, (E) MH et (F) MH +* HHCY*. Pour chaque condition, l'image de gauche correspond au marquage Protéostat® visualisé en niveaux de gris et utilisé pour le comptage des agrégats à l'aide du logiciel BlobFinder, tandis que l'image de droite présente la superposition du marquage de l'homocystéine (fluorescence verte) et des agrégats protéiques (fluorescence rouge). Les zones de colocalisation apparaissent en jaune. Les acquisitions ont été réalisées en microscopie confocale (objectif ×60). (G–H) Quantification du nombre de spots (agrégats protéiques) par cellule. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide d'un test ANOVA à un facteur ou d'un test de Kruskal–Wallis selon la distribution des données (** p-value< 0,01 ; *** p-value< 0,001 ; **** p-value< 0,0001). Les graphiques et analyses statistiques ont été effectués avec le logiciel GraphPad Prism. Abréviations : HDFn, fibroblastes humains néonataux (contrôle négatif) ; HDFn +* HCY*, fibroblastes humains néonataux traités pendant 24 h avec 100 µM d'homocystéine thiolactone (contrôle positif) ; MH, patients atteints de la maladie de Huntington sans anomalie biochimique ; MH +* HHCY*, patients atteints de la maladie de Huntington présentant une hyperhomocystéinémie.*

Dans un second temps, le nombre de spots a été comparé entre trois groupes biologiques, chacun représenté par trois lignées cellulaires indépendantes (N = 3). Afin de limiter la variabilité inter-expérience, les données ont été normalisées par rapport au nombre de spots par cellule mesurés dans la lignée HDFn, incluse dans l'ensemble des expériences. Une augmentation significative du nombre de spots par cellule est observée dans le groupe MH par rapport aux contrôles (p-value<0,01) (**Figure 84-D et E**). Cette augmentation est encore plus prononcée chez les patients présentant une hyperhomocystéinémie (MH+HHCY), avec un nombre de spots significativement plus élevé que celui observé chez les contrôles (p-value<0,0001) et que dans le groupe MH (p-value<0,0001). Dans ces deux groupes, les agrégats présentent une colocalisation marquée avec l'homocystéine, comme en témoigne l'intensité du signal jaune (**Figure 84-D et E**).

Pris dans leur globalité, ces résultats montrent que les agrégats protéiques observés contiennent de l'homocystéine et que leur nombre est fortement augmenté dans un contexte d'hyperhomocystéinémie. Bien que ces résultats mettent en évidence une augmentation marquée de l'agrégation protéique globale dans un contexte d'hyperhomocystéinémie, et une colocalisation importante de ces agrégats avec l'homocystéine, ils ne permettent pas à ce stade d'identifier précisément les protéines concernées par ces phénomènes.

II- Etude de la colocalisation de la HTT et de l'HCY dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD

Étant donné le rôle central de la huntingtine (HTT) dans la physiopathologie de la maladie de Huntington et le mise en évidence de sa N-Homocystéinylation (N-HCY) chez les patients CblG, nous avons investigué son éventuelle implication dans les agrégats protéiques observés ainsi que sa colocalisation avec l'homocystéine dans les fibroblastes de patients.

Dans cette optique, nous avons réalisé une étude par immunofluorescence sur les fibroblastes de patients MH, visant à analyser la localisation subcellulaire de la HTT (immunomarquage vert) et de l'homocystéine (immunomarquage rouge), ainsi que leur éventuelle colocalisation (**Figure 85**). Cette approche constitue une première étape dans l'exploration de l'hypothèse d'une N-HCY de la HTT dans la MH, préalablement indispensable avant l'analyse et la quantification directe de cette modification post-traductionnelle.

Des fibroblastes humains néonataux (HDFn) ont été utilisés comme témoins négatifs (**Figure 85-A**), tandis que des HDFn traités pendant 24 h avec 100 µM d'HCY thiolactone ont servi de témoins positifs (**Figure 85-B**), afin de mimer un contexte d'hyperhomocystéinémie (HHCY) observé chez certains patients. L'analyse a ensuite été étendue aux différents profils cliniques, incluant des patients présymptomatiques sans anomalie biochimique (**Figure 85-C**), des patients présymptomatiques présentant une HHCY (**Figure 85-D**), ainsi que des patients symptomatiques sans anomalie biochimique (**Figure 85-E**), présentant une HHCY (**Figure 85-F**), une carence en vitamine B6 (**Figure 85-G**) ou l'association de ces deux anomalies (**Figure 85-H**).

Dans les fibroblastes témoins négatifs (**Figure 85-A**), la HTT présente une localisation à la fois nucléaire et cytoplasmique, avec une répartition homogène, tandis que le marquage de l'HCY est très faible, ne permettant pas d'observer de colocalisation notable. À l'inverse, dans les témoins positifs (**Figure 85-B**), le traitement par HCY thiolactone entraîne une augmentation marquée du signal lié à HCY, associée à une perte d'homogénéité du marquage de la HTT. Une colocalisation des deux émissions fluorescentes est observée, principalement en région périnucléaire, sous forme d'amas condensés ou d'agrégats (flèches blanches).

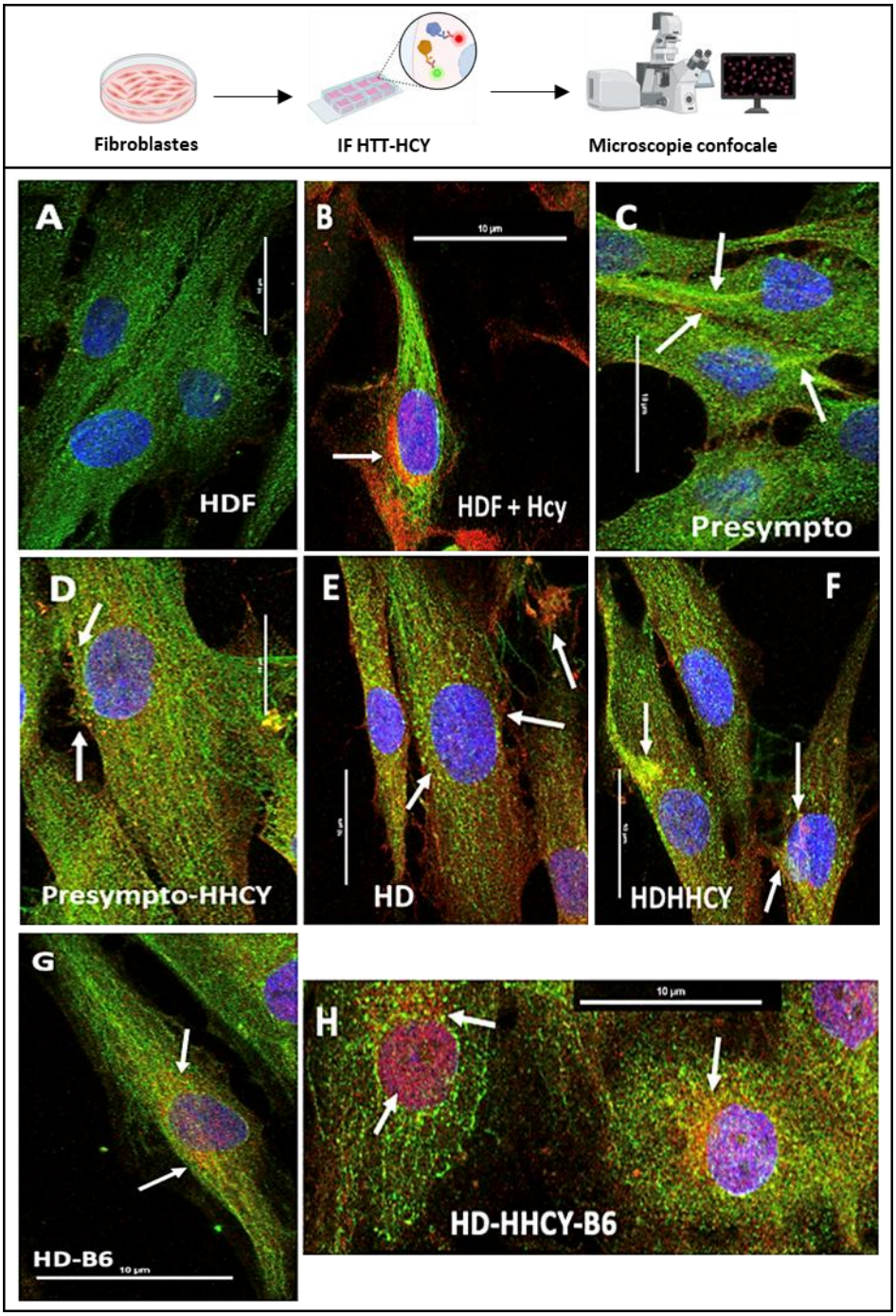


Figure 85 : Analyse par immunofluorescence de la localisation de la HTT et de l'homocystéine dans les fibroblastes de patients. *Images représentatives d'immunofluorescence montrant la localisation subcellulaire de la HTT et de l'homocystéine dans les différents groupes expérimentaux. Les noyaux sont marqués en bleu (DAPI), la huntingtine (HTT) en vert et l'homocystéine (*HCY*) en rouge. Les flèches blanches indiquent des amas présentant une colocalisation de la HTT et de l'*HCY*, principalement localisés dans les régions périnucléaires et nucléaires. Les acquisitions ont été réalisées en microscopie confocale (objectif ×60). Barre d'échelle : 10 µm. Abréviations : HDF, fibroblastes humains néonataux (contrôle négatif) ; HDF +* HCY*, fibroblastes humains néonataux traités pendant 24 h avec 100 µM d'homocystéine thiolactone (contrôle positif) ; Présympto, patient présymptomatique sans anomalie biochimique ; Présympto +* HHCY*, patient présymptomatique présentant une hyperhomocystéinémie ; HD, patient symptomatique sans anomalie biochimique ; HD +* HHCY*, patient symptomatique présentant une hyperhomocystéinémie ; HD + B6, patient symptomatique présentant une carence en vitamine B6 ; HD +* HHCY *+ B6, patient symptomatique présentant à la fois une hyperhomocystéinémie et une carence en vitamine B6.*

Chez les patients présymptomatiques sans anomalie biochimique (**Figure 85-C**), des amas colocalisés HTT–HCY sont déjà observables. Ce phénomène apparaît plus marqué chez les patients présymptomatiques HHCY (**Figure 85-D**), avec une accentuation de la colocalisation en zone périnucléaire (flèches blanches). Des observations similaires sont retrouvées chez les patients symptomatiques (**Figure 85-E**), avec une intensité accrue du phénomène, modulée par le statut biochimique. En effet, les patients symptomatiques présentant une HHCY (**Figure 85-F**), ou une carence en vitamine B6 (**Figure 85-G**), montrent une augmentation du nombre et de la densité des amas colocalisés. Enfin, les patients symptomatiques cumulant plusieurs anomalies biochimiques, notamment une HHCY associée à une carence en vitamine B6 (**Figure 85-H**), présentent une condensation du marquage encore plus prononcée, avec la présence d'amas de plus grande taille en région périnucléaire ainsi que d'inclusions nucléaires, comparables à celles observées dans le témoin positif (**Figure 85-B**). Par ailleurs, des altérations morphologiques marquées ont été observées dans ces fibroblastes, qui présentent une morphologie plus arrondie que celle habituellement observée pour des fibroblastes allongés.

Pris dans leur globalité, ces résultats d'immunofluorescence montrent que la HTT colocalise avec l'homocystéine, sous forme d'amas condensés localisés majoritairement dans les régions périnucléaires et nucléaires des fibroblastes de patients MH. L'intensité et l'organisation de cette colocalisation apparaissent modulées par le statut clinique et biochimique des patients, avec une accentuation du phénomène dans un contexte d'HHCY notamment. Bien que ces observations suggèrent une association étroite entre la HTT et l'homocystéine dans les structures agrégées, elles ne permettent pas, à ce stade, de conclure sur l'existence d'une modification post-traductionnelle directe de la HTT par l'homocystéine. Ces résultats justifient ainsi l'analyse plus ciblée de la N-HCY de la HTT.

III- Etude de la N-HCY de la HTT dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD

Étant donné que la N-homocystéinylation (N-HCY) de la HTT pourrait constituer un mécanisme post-traductionnel majeur favorisant l'agrégation protéique dans la maladie de Huntington, nous avons cherché à quantifier directement cette modification dans les fibroblastes de patients MH, en considérant que des perturbations du métabolisme des monocarbones et l'HHCY associée pourraient accentuer l'agrégation de la HTT via la N-HCY.

Dans cette optique, nous avons utilisé la technique Duolink® (Proximity Ligation Assay), permettant de détecter et quantifier les interactions moléculaires à l'échelle subcellulaire, ici, appliquée à la HTT et à l'HCY. Cette approche constitue une étape expérimentale complémentaire à l'étude précédente par immunofluorescence, visant à confirmer l'existence d'une N-HCY de la HTT ainsi qu'à sa quantification en fonction du statut clinique et biochimique des patients. Les analyses ont été réalisées sur des fibroblastes issus de patients présymptomatiques et symptomatiques, ainsi que sur des fibroblastes humains néonataux utilisés comme contrôles négatifs. Des fibroblastes traités avec 100 µM d'homocystéine thiolactone pendant 24 h ont servi de contrôle positif, afin de reproduire un contexte d'hyperhomocystéinémie (HHCY) similaire à celui observé chez certains patients. L'ensemble des expériences a permis d'évaluer la N-HCY de la HTT selon le profil biochimique, en comparant des patients sans anomalie biochimique, présentant une HHCY, une carence en vitamine B6, ou l'association de ces deux anomalies (**Figure 86**).

Les patients présymptomatiques et symptomatiques présentent des taux d'homocystéine plasmatiques significativement supérieurs à ceux de la population contrôle (**Figure 86-A**), sans différence significative entre les deux groupes. La N-HCY de la HTT est également, significativement plus élevée dans les fibroblastes des patients présymptomatiques et symptomatiques par rapport aux contrôles (**Figure 86-B**).

L'analyse de chaque population en fonction du statut biochimique a montré, que les patients présymptomatiques *H*HCY présentent des niveaux d'homocystéine et de N-HCY de la HTT significativement plus élevés que les patients sans anomalie biochimique (**Figure 86-C et D**). L'effectif limité des patients présymptomatiques présentant une carence en vitamine B6 n'a pas permis de réaliser des analyses statistiques pour ce sous-groupe.

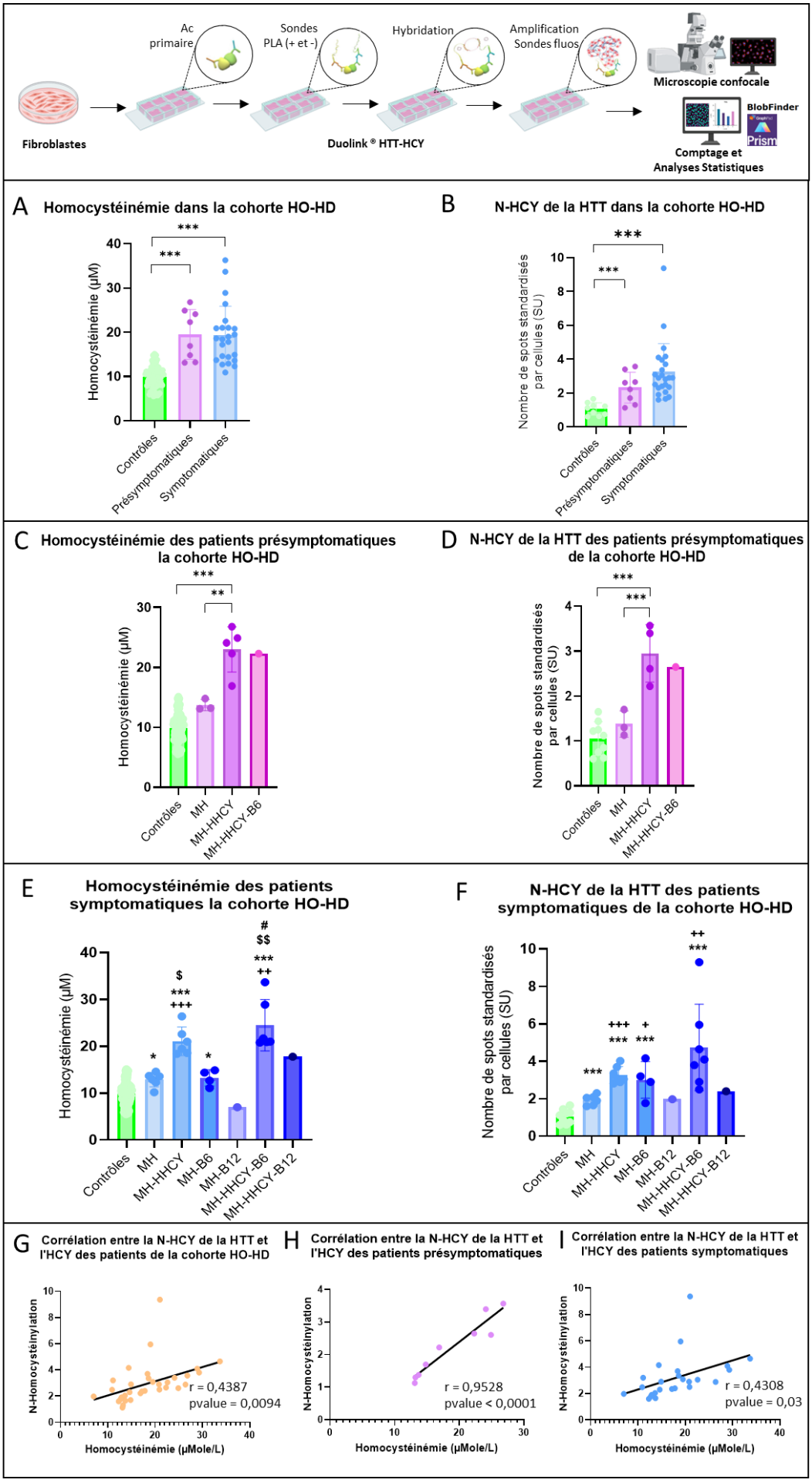

Ac primaire
Sondes PLA (+ et -)
Hybridation
Amplification Sondes fluos
Microscopie confocale
Fibroblastes
Duolink ® HTT-HCY
BlobFinder
Prism
Comptage et Analyses Statistiques
A Homocystéinémie dans la cohorte HO-HD
Homocystéinémie (µM)
Contrôles
Présymptomatiques
Symptomatiques
B N-HCY de la HTT dans la cohorte HO-HD
Nombre de spots standardisés par cellules (SU)
C Homocystéinémie des patients présymptomatiques la cohorte HO-HD
MH
MH-HHCY
MH-HHCY-B6
D N-HCY de la HTT des patients présymptomatiques de la cohorte HO-HD
E Homocystéinémie des patients symptomatiques la cohorte HO-HD
MH-B6
MH-B12
MH-HHCY-B12
F N-HCY de la HTT des patients symptomatiques de la cohorte HO-HD
G Corrélation entre la N-HCY de la HTT et l'HCY des patients de la cohorte HO-HD
N-Homocystéinylation
Homocystéinémie (µMole/L)
r = 0,4387
pvalue = 0,0094
H Corrélation entre la N-HCY de la HTT et l'HCY des patients présymptomatiques
r = 0,9528
pvalue < 0,0001
I Corrélation entre la N-HCY de la HTT et l'HCY des patients symptomatiques
r = 0,4308
pvalue = 0,03

Figure 86 : Homocystéinémie et N-HCY de la HTT au sein de la cohorte HO-HD*. (A–B) Analyse globale : L'homocystéinémie (A) et la N-homocystéinylation de la huntingtine (N-HCY HTT) (B) sont significativement augmentées chez les patients présymptomatiques et symptomatiques par rapport aux contrôles. (C–D) Patients présymptomatiques : Les patients avec hyperhomocystéinémie (H-HCY) présentent des niveaux significativement plus élevés d'homocystéine (C) et de N-HCY HTT (D) comparativement aux contrôles et aux patients MH sans anomalie biochimique. (E–F) Patients symptomatiques selon le statut biochimique : L'homocystéinémie (E) est augmentée chez la majorité des patients, indépendamment du statut biochimique, à l'exception du groupe MH-B12 (effectif insuffisant). Une tendance similaire est observée pour la N-HCY HTT (F). (G–I) Corrélations : Une corrélation positive est observée entre l'homocystéinémie et la N-HCY HTT dans l'ensemble des populations. Analyses statistiques : (*) vs contrôles ; (+) vs MH ; ($) vs MH-B6 ; (#) vs MH-H-HCY. (G–I) Analyses de corrélation entre l'homocystéinémie et la N-HCY HTT dans les différentes populations, montrant une corrélation positive entre ces deux paramètres. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs (*p-value<0,05 ; **p-value<0,01 ; ***p-value<0,001 ; + p-value<0,05 ; ++ p-value<0,01 ; +++ p-value< 0,001 ; $ p-value<0,05 ; $$ p-value<0,01 ; # p-value<0,05). Abréviations : MH : maladie de Huntington sans anomalie biochimique ; MH-H-HCY : MH avec hyperhomocystéinémie ; MH-B6 : MH avec carence en vitamine B6 ; MH-B12 : MH avec carence en vitamine B12 ; MH-H-HCY-B6 : MH avec hyperhomocystéinémie et carence en vitamine B6 ; MH-H-HCY-B12 : MH avec hyperhomocystéinémie et carence en vitamine B12.*

Les patients symptomatiques présentent tous une homocystéinémie plus élevée que les contrôles. L'accumulation d'anomalies biochimiques (*H*HCY et carence en vitamine B6) est associée à une augmentation significative des taux d'homocystéine par rapport aux autres groupes. Aucune différence significative n'a été observée entre le groupe MH et MH-B6, alors que les groupes MH-HHCY et MH-HHCY-B6 présentaient des taux significativement plus élevés (**Figure 86-E**). Le taux de N-HCY de la HTT est significativement supérieur à celui des contrôles dans tous les groupes, avec une tendance à être plus élevé dans le groupe MH-HHCY-B6, bien que la variabilité interindividuelle ait limité la significativité (**Figure 86-F**). Les patients carencés en vitamine B12 avec HHCY associée (N= 2) n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques en raison de l'effectif trop faible.

Nous avons ensuite étudié la corrélation entre l'homocystéinémie et la N-HCY de la HTT chez les 32 patients. L'analyse de l'ensemble de la population montre une corrélation positive modérée ($r = 0,439$; p-value<0,01) (**Figure 86-G**). La séparation des populations présymptomatiques (N= 8) et symptomatiques (N = 24) révèle une corrélation très forte chez les présymptomatiques ($r = 0,953$; p-value<0,0001) et une corrélation modérée chez les symptomatiques ($r = 0,431$; p-value=0,0316) (**Figure 86-H et I**), indiquant que le statut clinique augmente l'hétérogénéité des patients et influence la relation entre homocystéinémie et N-HCY de la HTT.

Ainsi, l'analyse de la dispersion des données individuelles (**Données Supplémentaires Figure 101**) a montré que certaines populations, telles que les patients MH sans anomalie biochimique et les présymptomatiques, étaient relativement homogènes. À l'inverse, plus les patients accumulaient d'anomalies biochimiques, plus les valeurs d'homocystéine et de N-HCY de la HTT étaient dispersées, avec une variabilité particulièrement importante dans le groupe MH-*H*HCY-B6. Ces observations suggèrent que le statut biochimique du patient influence à la fois le niveau absolu de N-HCY de la HTT et la relation entre homocystéinémie et N-HCY.

Pris dans leur globalité, ces résultats valide la N-HCY de la HTT ainsi que son augmentation significative dans les fibroblastes de patients présymptomatiques et symptomatiques par rapport aux contrôles, et que cette augmentation est modulée par le statut biochimique des individus, notamment l'hyperhomocystéinémie et la carence en vitamine B6.

IV- Analyse de la régulation de la voie de la transsulfuration dans les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD

Dans la continuité de ces observations, il nous a paru pertinent d'explorer les mécanismes moléculaires susceptibles de contribuer à l'élévation des taux d'homocystéine chez ces patients. L'homocystéine est en effet un métabolite central du métabolisme des monocarbones (MMC), pouvant soit être reméthylée en méthionine — précurseur du donneur universel de groupements méthyle — soit être orientée vers la voie de la transsulfuration afin de produire du glutathion et de contribuer au maintien du pouvoir antioxydant cellulaire. Les analyses par LC-MS/MS, effectuées dans la première partie de cette étude, ont mis en évidence une atteinte prédominante de la voie de la transsulfuration dans les 32 lignées cellulaires de patient MH ainsi que dans le modèle murin *HdhQ111*. Par ailleurs, la littérature rapporte des interactions entre la huntingtine et plusieurs acteurs clés de cette voie, notamment la cystathionine β-synthase (CBS), première enzyme de la transsulfuration, la cystathionine γ-lyase (CSE/CTH), seconde enzyme de la voie, ainsi que le facteur de transcription SP1, un des régulateurs de l'expression de la CBS et de la CSE, dans différents modèles expérimentaux, incluant des modèles murins et de levure.

A- Etude de l'interaction entre la HTT et les acteurs de la voie de la transsulfuration

Dans ce contexte, il apparaît particulièrement pertinent d'analyser les interactions entre la HTT et les principaux acteurs moléculaires de la voie de la transsulfuration. L'objectif est à la fois de déterminer si ces interactions sont présentes dans les cellules de patients et d'en évaluer l'intensité en fonction du statut biochimique, et notamment du taux d'homocystéine. Cette approche permet d'apprécier l'impact potentiel des interactions entre la HTT et la voie de la transsulfuration sur l'homéostasie de l'homocystéine et, plus largement, sur les mécanismes physiopathologiques associés à la maladie de Huntington.

Afin d'explorer ces interactions, nous avons de nouveau eu recours à la technique Duolink®. Pour cette analyse, nous avons choisi de nous restreindre aux fibroblastes de patients symptomatiques ne présentant aucune anomalie biochimique et à ceux présentant une hyperhomocystéinémie (*H*HCY), afin de s'affranchir de l'effet potentiel d'une carence en vitamine B6, cofacteur essentiel de la cystathionine β-synthase (CBS) et de la cystathionine γ-lyase (CSE).

Dans un premier temps, les interactions entre la huntingtine (HTT) et les différents acteurs de la voie de la transsulfuration ont été analysées dans des fibroblastes humains néonataux (HDFn) ainsi que dans des HDFn traités pendant 24 h avec 100 µM d'homocystéine thiolactone (HDFn + HCY). Cette approche permet d'évaluer l'impact direct d'un contexte d'*H*HCY, indépendamment de la présence de la mutation de la HTT.

Les résultats mettent en évidence une interaction entre la HTT et la CBS mais également entre la HTT et la CSE dans les fibroblastes HDFn. De plus, une augmentation significative des interactions entre la HTT sauvage et la cystathionine β-synthase (CBS), ainsi qu'entre la HTT sauvage et la cystathionine γ-lyase (CSE), a été observée dans les cellules HDFn + HCY par rapport aux cellules HDFn ($p<0,0001$) (**Figure 87-A et C**). À l'inverse, l'interaction entre la HTT sauvage et le facteur de transcription SP1 est significativement diminuée dans les cellules HDFn + HCY ($p<0,01$) (**Figure 87-B**).

Dans un second temps, nous avons évalué l'impact de la mutation de la HTT sur ces interactions, en contexte normo- ou hyperhomocystéinémique, dans les fibroblastes de patients, par comparaison avec les cellules contrôles exprimant une HTT sauvage. Les résultats ont été normalisés par rapport aux cellules HDFn.

Tout d'abord, l'interaction entre la HTT et les trois acteurs de la voie de la transsulfuration a été mis en évidence dans les cellules de patients MH. De plus, l'interaction HTT–CBS est significativement augmentée dans le groupe MH (p-value<0,001) ainsi que dans le groupe MH + *H*HCY (p-value<0,0001) par rapport aux contrôles. Cette interaction est en outre significativement plus élevée dans le groupe MH + *H*HCY que dans le groupe MH (p-value<0,05) (**Figure 87-D**). Concernant l'interaction HTT–SP1, une augmentation significative est observée dans le groupe MH par rapport aux groupes contrôle et MH + *H*HCY (p-value<0,0001). Par ailleurs, l'interaction HTT–SP1 est légèrement mais significativement plus élevée dans le groupe MH + *H*HCY comparativement au groupe contrôle (p-value<0,05) (**Figure 87-E**). Enfin, l'interaction HTT–CSE est significativement augmentée dans le groupe MH + *H*HCY par rapport aux groupes contrôle et MH (p-value<0,0001). En revanche, aucune différence significative n'est observée entre les groupes contrôle et MH pour cette interaction (**Figure 87-F**).

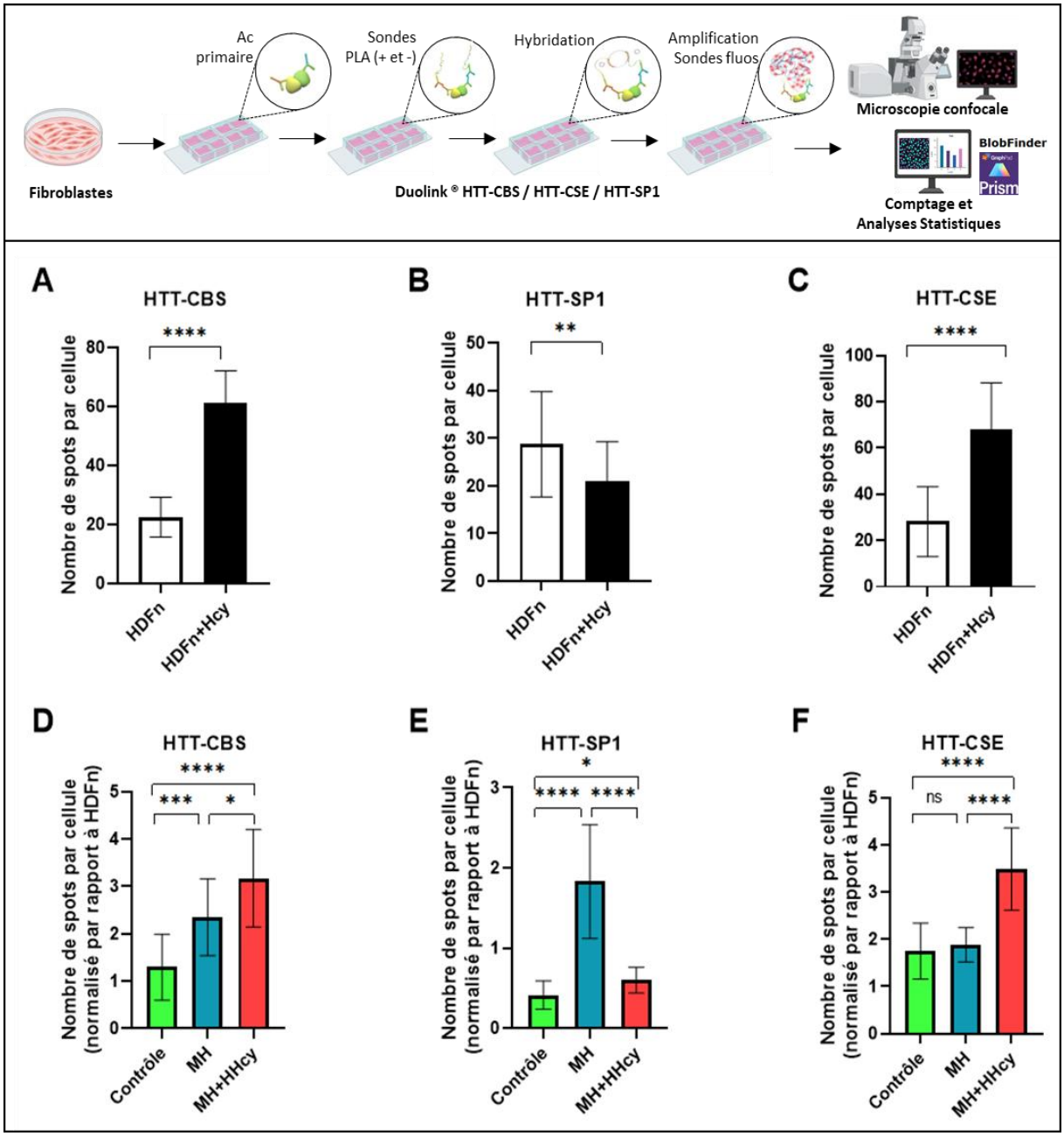


Figure 87: Quantification de l'interaction de la HTT avec la CBS, la CSE et SP1. *(A–C) Quantification des interactions entre la HTT et les acteurs de la voie de la transsulfuration dans les fibroblastes humains néonataux (HDFn) et les HDFn traités pendant 24 h avec 100 µM d'*HCY *thiolactone (HDFn +* HCY*). Les interactions HTT–CBS (A), HTT–SP1 (B) et HTT–CSE (C) sont exprimées comme le nombre de spots par cellule. Résultats obtenus à partir de 3 expériences indépendantes. (D–F) Quantification des interactions entre la HTT et la CBS (D), SP1 (E) et la CSE (F) dans les fibroblastes de patients contrôles (N=3), MH (N=3) et MH +* HHCY *(N=3). Les résultats sont exprimés en nombre de spots par cellule et normalisés par rapport aux cellules HDFn. Résultats obtenus à partir de 3 expériences indépendantes. Les données sont présentées sous forme de moyenne ± écart-type. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des tests de Mann–Whitney et Kruskal–Wallis (p-value<0,05 ; p-value<0,01 ; p-value<0,001 ; p-value<0,0001). Les graphiques et analyses statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad Prism.*

Pris dans leur globalité, ces résultats confirment l'existence d'interactions entre la huntingtine et les principaux acteurs de la voie de la transsulfuration. La mutation de la HTT est associée à une augmentation de ses interactions avec la cystathionine β-synthase (CBS) et le facteur de transcription SP1, sans effet notable sur son interaction avec la cystathionine γ-lyase (CSE). À l'inverse, un contexte d'hyperhomocystéinémie (*H*HCY) renforce significativement les interactions entre la HTT et la CBS, ainsi qu'entre la HTT et la CSE, tout en étant associé à une diminution significative de l'interaction entre la HTT et SP1.

B- Etude de l'expression génique des acteurs de la voie de la transsulfuration

À la suite de l'analyse des interactions entre la HTT et les principaux acteurs de la voie de la transsulfuration, il était essentiel de déterminer si les modifications observées pouvaient, au moins en partie, s'expliquer par une régulation transcriptionnelle de ces partenaires. En effet, une variation de l'expression des gènes codant la cystathionine β-synthase (CBS), la cystathionine γ-lyase (CSE, codée par le gène *CTH*) ou le facteur de transcription SP1 pourrait contribuer aux altérations d'interactions mises en évidence précédemment.

Dans cette optique, l'expression relative des gènes *CBS*, *CTH* et *SP1* a été évaluée par RT-qPCR dans les fibroblastes humains néonataux (HDFn), les HDFn traités pendant 24 h avec 100 µM d'HCY thiolactone (HDFn + HCY), ainsi que dans les fibroblastes de patients contrôles, MH et MH + *H*HCY. Les niveaux d'expression ont été normalisés à l'aide des gènes de référence *IPO8* et *TBP*, puis rapportés aux cellules HDFn, pour lesquelles l'expression a été fixée arbitrairement à 1.

Dans les cellules HDFn exposées à l'HCY thiolactone, utilisées comme contrôle positif d'hyperhomocystéinémie, une augmentation significative de l'expression relative de *CBS* ($p < 0,01$) et de *CTH* (p-value<0,001) est observée par rapport aux cellules HDFn non traitées, tandis que l'expression de *SP1* ne présente pas de variation significative (**Figure 88 A–C**). Ces résultats suggèrent une activation transcriptionnelle partielle de la voie de la transsulfuration en réponse à une élévation aiguë des concentrations d'HCY.

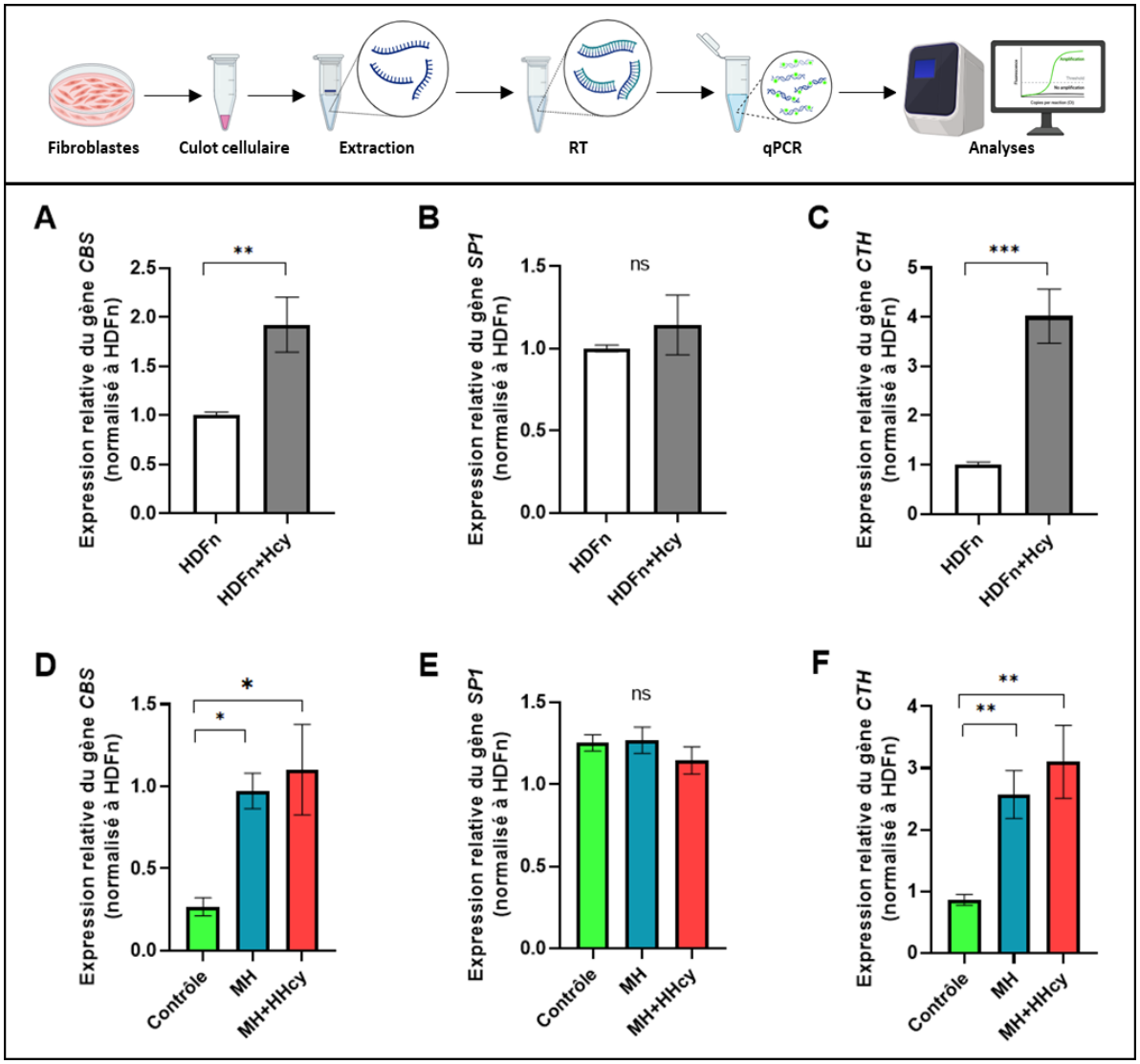


Figure 88 : Expression relative des gènes CBS, CSE et SP1 de la voie de la transsulfuration. *L'expression relative des gènes de (A,D) la cystathionine β-synthase (CBS), (B,E) de la cystathionine γ-lyase (CSE, codée par le gène CTH), et de (C,F) SP1, facteur de transcription de CTH, a été mesurée par RT-qPCR à partir de deux expériences indépendantes et normalisée à HDFn. Les analyses ont été réalisées dans (A-B-C) les cellules HDFn et HDFn+*HCY *(nombre de réplica pour HDFn n=6 et pour HDFn+*HCY *n=6) et (D-E-F) les lignées de patients (Nombre de Lignées de patients : Pour CBS : contrôles N=5, MH N=4, MH+H*HCY *N=5. Pour CTH : contrôles N=6, MH N=4, MH+H*HCY *N=5. Pour SP1 : contrôles N=7, MH N=5, MH+H*HCY *N=6). Les histogrammes représentent la moyenne normalisée ± SEM. Pour (A-C), l'analyse statistique a été réalisée grâce à un test t de Student ou un test de Mann-Whitney selon la normalité de la distribution. Pour (D-F), l'analyse statistique a été réalisée grâce à un test de Kruskall-Wallis suivi d'un test de Dunn's pour les comparaisons multiples ou d'une ANOVA à un facteur, suivie d'un test de Tukey pour les comparaisons multiples suivant la normalité de la répartition. *p-valule< 0,05 **p-value< 0,01 ***p-value<0,001.*

De manière concordante, les fibroblastes issus des patients, présentant ou non une *H*HCY, montrent une augmentation significative de l'expression relative de *CBS* (p-value<0,05) et de *CTH* (p-value<0.01) par rapport aux contrôles, alors qu'aucune différence significative n'est observée pour *SP1* (**Figure 88 D–F**). En revanche, aucune différence significative d'expression relative de *CBS*, *CTH* ou *SP1* n'est détectée entre les groupes de patients MH et MH + *H*HCY. Ces données suggèrent que, dans un contexte de maladie de Huntington, l'hyperhomocystéinémie n'aggrave pas davantage la régulation transcriptionnelle des gènes de la voie de la transsulfuration.

L'ensemble de ces résultats indiquent que l'hyperhomocystéinémie, qu'elle soit induite expérimentalement ou présente chez les patients, est associée à une augmentation de l'expression des enzymes clés de la voie de la transsulfuration, en particulier *CBS* et *CTH*. Cette régulation transcriptionnelle pourrait ainsi contribuer, au moins en partie, aux modifications d'interactions entre la HTT et ces partenaires observées précédemment, suggérant une réponse adaptative de la cellule face à l'élévation des niveaux d'homocystéine. De plus, les résultats indiquent également que l'augmentation de l'expression de la CBS et de la CSE ne sont pas liées à des modifications d'expression du facteur de transcription SP1 quel que soit les conditions.

V- Analyse protéomique comparative des fibroblastes HO-HD selon le statut clinique des patients

À la suite de l'analyse des interactions entre la HTT et les acteurs clés de la voie de la transsulfuration, puis de l'évaluation de leur régulation transcriptionnelle, il apparaissait nécessaire d'élargir notre approche afin d'obtenir une vision globale des altérations moléculaires associées à la MH dans les fibroblastes de patients. En effet, si les analyses ciblées permettent de mettre en évidence des modifications spécifiques d'interactions et d'expression génique, elles ne renseignent pas sur l'état global du protéome ni sur les éventuelles perturbations concomitantes d'autres voies métaboliques, notamment celles impliquées dans le MMC.

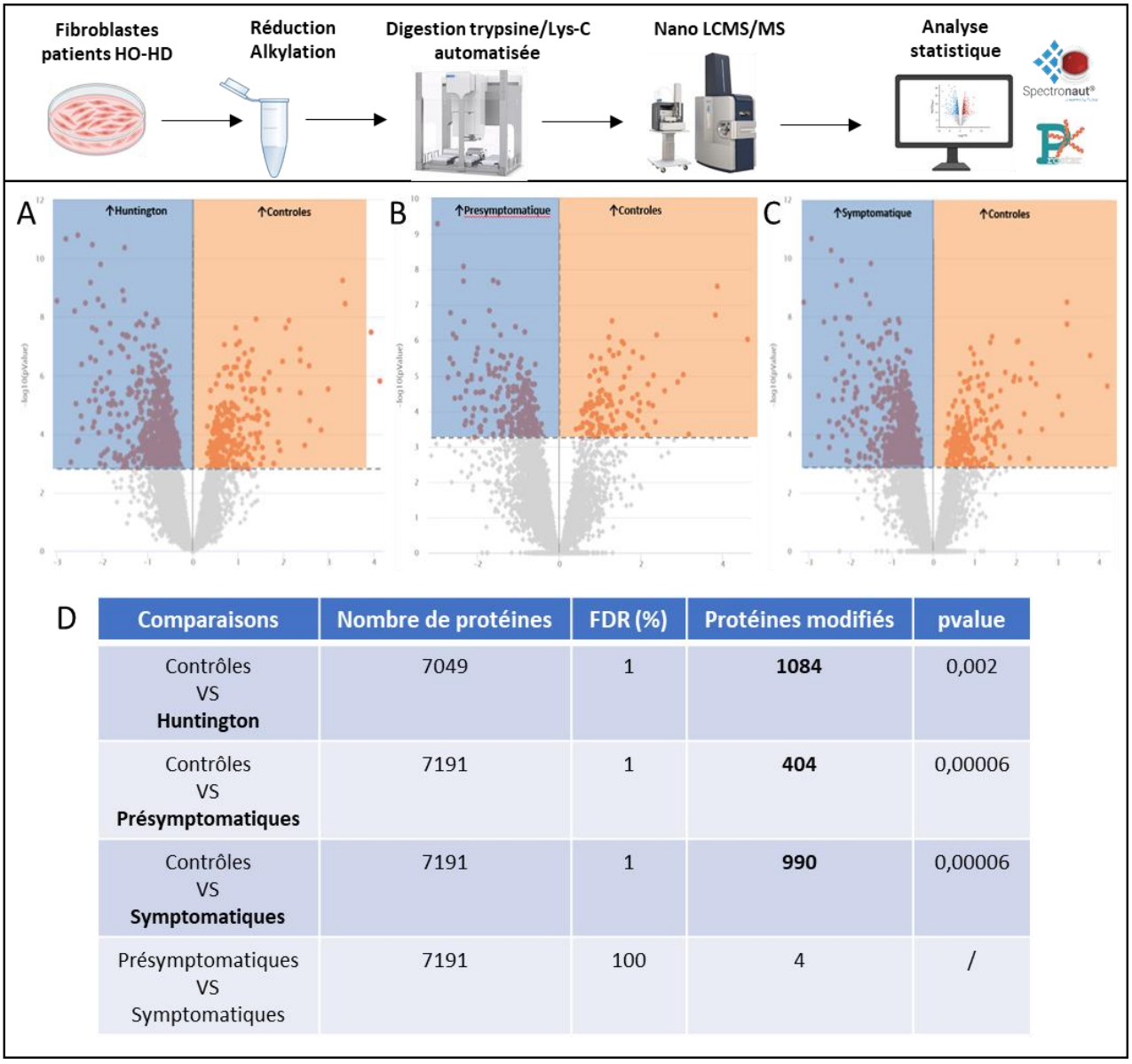
Dans cette optique, une analyse protéomique a été réalisée afin de comparer les profils d'expression protéique des lignées de fibroblastes des 32 patients de la cohorte Ho-HD en fonction de leur statut clinique (présymptomatique ou symptomatique). Cette approche permet d'obtenir une vision globale des protéines exprimées chez les patients, y compris celles impliquées dans le MMC et les voies métaboliques associées.

Les résultats obtenus permettront d'examiner l'influence du statut clinique sur le protéome et d'identifier d'éventuelles altérations protéiques spécifiques susceptibles d'apparaître et/ou de s'amplifier au cours de la progression de la maladie. Cette étude a été menée en collaboration avec Christine Schaeffer, directrice de la Plateforme Protéomique Strasbourg Grand Est, au sein du Laboratoire de spectrométrie de masse bio-organique (LSMBO) de l'Institut pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC).

A- Profil protéomique global et analyse différentielle selon le statut clinique

Un total de 7 049 protéines a été identifié au sein de notre cohorte, composée de 9 contrôles, 8 patients présymptomatiques et 24 patients symptomatiques. Dans un premier temps, nous avons comparé le protéome cellulaire de l'ensemble des patients atteints de la MH (présymptomatiques et symptomatiques confondus) aux contrôles, afin de mettre en évidence les altérations protéiques associées à la maladie indépendamment des anomalies métaboliques individuelles (**Figure 89**).

Cette analyse a révélé 1 084 protéines significativement modifiées, dont 268 sous-exprimées. Parmi ces dernières, figurent notamment des enzymes impliquées dans le métabolisme et la réponse au stress oxydant, telles que le cytochrome P450, dont l'expression est diminuée d'un facteur 4 par rapport aux contrôles (p-value=7×10^{-6}), ainsi que la superoxyde dismutase mitochondriale (SOD2), sous-exprimée d'un facteur 3,4 (p-value=$1,9 \times 10^{-6}$). S'y ajoutent plusieurs protéines impliquées dans le métabolisme du collagène, ainsi que le facteur de croissance des fibroblastes 1 (FGF1), dont l'expression est réduite d'un facteur 2 par rapport aux contrôles (p-value=$1,6 \times 10^{-4}$).



D

Comparaisons	Nombre de protéines	FDR (%)	Protéines modifiés	pvalue
Contrôles VS **Huntington**	7049	1	**1084**	0,002
Contrôles VS **Présymptomatiques**	7191	1	**404**	0,00006
Contrôles VS **Symptomatiques**	7191	1	**990**	0,00006
Présymptomatiques VS Symptomatiques	7191	100	4	/

Figure 89 : Analyse différentielle du protéome des fibroblastes de patients atteints de la MH. *(A) Volcano plot représentant les protéines différentiellement exprimées entre l'ensemble des patients atteints de la maladie de Huntington (présymptomatiques et symptomatiques confondus) et les contrôles. (B)Volcano plot comparant les fibroblastes de patients présymptomatiques aux contrôles. (C)Volcano plot comparant les fibroblastes de patients symptomatiques aux contrôles. Dans chaque graphique, l'axe des abscisses correspond au log_2 du ratio d'expression, tandis que l'axe des ordonnées représente le $-log_{10}$ de la valeur de p. Les protéines significativement sur-exprimées chez les patients sont indiquées en bleu, celles sur-exprimées chez les contrôles en orange, tandis que les protéines non significatives apparaissent en gris. La ligne horizontale en pointillés correspond au seuil de significativité statistique. (D)Le tableau récapitulatif présente, pour chaque comparaison, le nombre total de protéines identifiées, le seuil de fausse découverte (FDR), le nombre de protéines significativement modifiées ainsi que la valeur de p associée. L'analyse met en évidence un nombre important d'altérations protéiques chez les patients par rapport aux contrôles, détectables dès le stade présymptomatique, tandis que la comparaison directe entre les patients présymptomatiques et symptomatiques ne révèle pas de différences significatives du protéome global au seuil de FDR considéré.*

816 protéines sont statistiquement surexprimées chez les patients MH. La protéine présentant la plus forte sur-expression est la cystathionine β-synthase (CBS), première enzyme de la voie de la transsulfuration au sein du métabolisme des monocarbones, avec une augmentation d'un facteur 3 par rapport aux contrôles (p-value=1,7 × 10^{-6}). La cystathionine γ-lyase (CSE), deuxième enzyme de cette voie, est également significativement sur-exprimée (facteur 1,7 ; p-value=9,9 × 10^{-6}). Parmi les autres protéines différentielles figurent la kinase SNF1-like de la famille NUAK, impliquée dans la régulation énergétique et la réponse au stress cellulaire, dont l'expression est diminuée d'un facteur 2,8 par rapport aux contrôles (p-value=7,53 × 10^{-8}), ainsi que plusieurs protéines participant au maintien de l'intégrité de la matrice extracellulaire.

L'analyse des réseaux protéiques à l'aide du système de classification PANTHER a par ailleurs mis en évidence une altération de voies biologiques associées à plusieurs maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington. Parmi les protéines identifiées figurent notamment DLC1, impliquée dans la régulation du cytosquelette et des voies de signalisation cellulaire, ainsi que NCOR2, un corépresseur nucléaire impliqué dans la régulation transcriptionnelle.

Ces résultats mettent en évidence des altérations majeures du profil protéique chez les patients atteints de la MH. Afin d'affiner cette analyse et d'évaluer l'évolution de ces altérations au cours de la maladie, nous avons ensuite comparé séparément les groupes de patients présymptomatiques et symptomatiques aux contrôles.

Chez les patients présymptomatiques, 404 protéines présentent une variation d'expression significative par rapport aux contrôles, dont 285 sont sur-exprimées (**Figure 89**). Parmi toutes ces protéines, celles en liens avec notre thématique, comme la protéine la plus fortement augmentée est la lysophosphatidylcholine acyltransferase 2 (LPCAT2), impliquée dans le métabolisme de la choline, dont l'expression est multipliée par 3 par rapport aux contrôles (p-value=3,5 × 10^{-6}). La cystathionine β-synthase (CBS) constitue la deuxième protéine la plus sur-exprimée, avec une augmentation d'un facteur 2,7 (p-value=1,1 × 10^{-3}). Ces deux protéines appartiennent au MMC. À l'inverse, 119 protéines sont significativement sous-exprimées chez les patients présymptomatiques, parmi lesquelles le cytochrome P450, dont l'expression est réduite d'un facteur 4,6 (p-value=3,4 × 10^{-4}), ainsi que la superoxyde dismutase mitochondriale, sous-exprimée d'un facteur 4 (p-value=3,6 × 10^{-5}).

Ces résultats suggèrent que des altérations du protéome sont détectables dès les stades précoces de la maladie, en amont de l'apparition des premiers signes cliniques.

Chez les patients symptomatiques, 990 protéines sont statistiquement différentielles par rapport aux contrôles (**Figure 89**), dont 210 protéines sous-exprimées. Parmi celles-ci, le cytochrome P450 présente une diminution d'expression d'un facteur 4 (p-value=3,5 × 10^{-5}), tandis que la superoxyde dismutase mitochondriale est sous-exprimée d'un facteur 3,23 (p-value=6,5 × 10^{-6}). À l'inverse, 780 protéines sont sur-exprimées, parmi lesquelles figure à nouveau la cystathionine β-synthase (CBS), dont l'expression est multipliée par 3 (p-value=2,46 × 10^{-6}), ainsi que l'ensemble des chaînes de collagène α, présentant en moyenne une augmentation d'un facteur 2,5 (1,9 × 10^{-7}<p-value<1,1 × 10^{-3}).

Toutefois, la comparaison directe entre les patients présymptomatiques et symptomatiques, réalisée avec un seuil de FDR fixé à 1 %, n'a pas mis en évidence de différences significatives du protéome global. De même, aucune modification significative du protéome n'a été observée lors de la stratification des patients en fonction de leurs différents statuts biochimiques.

L'analyse fonctionnelle réalisée à l'aide du logiciel PANTHER a confirmé l'implication de voies de signalisation associées à plusieurs pathologies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington. Ces résultats suggèrent que l'accumulation d'altérations du profil protéique s'accentue au stade symptomatique de la maladie, avec plus de 500 protéines supplémentaires significativement modifiées par rapport au stade présymptomatique.

B- Analyse d'enrichissement fonctionnel des voies biologiques par fGSEA

À la suite de l'identification des protéines différentiellement exprimées et de la mise en évidence d'altérations quantitatives du protéome selon le statut clinique, il apparaissait nécessaire d'approfondir l'analyse afin d'identifier les voies biologiques spécifiquement perturbées aux stades présymptomatique et symptomatique. En effet, si l'analyse différentielle permet de quantifier les variations d'expression protéique, elle ne renseigne pas directement sur l'organisation fonctionnelle des protéines au sein des réseaux biologiques ni sur l'impact coordonné de ces variations sur des processus cellulaires intégrés.

Dans cette perspective, une analyse d'enrichissement fonctionnel de type GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) a été réalisée à l'aide du logiciel fGSEA. Les protéines statistiquement différentielles ont été confrontées à plusieurs bases de données de référence : Reactome, KEGG, Gene Ontology (GO), CORUM et Hallmark (MSigDB). Pour chaque voie, un score d'enrichissement normalisé (Normalized Enrichment Score, NES) ainsi qu'une valeur de p ont été calculés. Ces analyses comparatives de réseaux ont été conduites avec l'expertise du Dr Jean-Marie Ravel (MCU-PH), généticien au laboratoire de génétique du CHRU de Nancy et spécialiste en biologie intégrative et en analyses comparatives de réseaux.

Les profils d'enrichissement ont ensuite été comparés entre les patients présymptomatiques et symptomatiques afin d'identifier les altérations fonctionnelles progressives associées à la maladie. Au total, 138 voies sont significativement différentes par rapport aux contrôles chez les patients présymptomatiques, contre 58 voies chez les patients symptomatiques. Afin de se concentrer sur les altérations les plus robustes, seules les voies présentant une valeur absolue du score NES supérieure à 2 ($|NES| > 2$) ont été retenues. Ce score est un seuil établi dans la littérature et communément utilisé pour identifier les enrichissements biologiques les plus représentatif d'un impact fonctionnel, au-delà de la simple significativité statistique (Subramanian et al. 2005).

Chez les patients présymptomatiques, 35 voies présentent un $|NES| > 2$ dont les 15 premières sont présentées dans le (**Figure 90-A**). Une signature mitochondriale et bioénergétique est déjà identifiable, les voies affectées incluent la respiration aérobie et le transport d'électrons (NES = 2,76), la dégradation des protéines mitochondriales (NES = 2,61), la formation des crêtes mitochondriales (NES = 2,59) ainsi que la synthèse d'ATP par chimiosmose (NES = 2,42). Le métabolisme lipidique (NES = 2,39) et glucidique (NES = 2,33) apparaît également altéré, avec notamment des perturbations du catabolisme des acides aminés à chaîne ramifiée (NES = 2,26), du catabolisme des glycosphingolipides (NES = 2,41) et du métabolisme du nicotinate (NES = 2,37). Par ailleurs, les voies liées à la présentation antigénique et à la signalisation interféron/MHC II apparaissent également altérées (NES compris entre 2,14 et 2,23).



A

Statut Clinique	Pathway	Pvalue	NES
Patients Présymptomatiques	COLLAGEN_CHAIN_TRIMERIZATION	0.005	-2.04
	PROCESSING_OF_CAPPED_INTRON_CONTAINING_PRE_MRNA	0.005	-2.01
	INTERFERON_GAMMA_SIGNALING	0.009	2.14
	INTERFERON_ALPHA_BETA_SIGNALING	0.009	2.23
	BRANCHED_CHAIN_AMINO_ACID_CATABOLISM	0.009	2.26
	ANTIGEN_PRESENTATION_FOLDING_ASSEMBLY_AND_PEPTIDE_LO ADING_OF_CLASS_I_MHC	0.009	2.36
	NICOTINATE_METABOLISM	0.009	2.37
	BILE_ACID_AND_BILE_SALT_METABOLISM	0.009	2.39
	FATTY_ACID_METABOLISM	0.015	2.39
	GLYCOSPHINGOLIPID_CATABOLISM	0.009	2.41
	FORMATION_OF_ATP_BY_CHEMIOSMOTIC_COUPLING	0.009	2.42
	DISEASES_OF_CARBOHYDRATE_METABOLISM	0.009	2.55
	CRISTAE_FORMATION	0.009	2.59
	MITOCHONDRIAL_PROTEIN_DEGRADATION	0.013	2.61
	AEROBIC_RESPIRATION_AND_RESPIRATORY_ELECTRON_TRANSPORT	0.030	2.76
Patients Symptomatiques	COLLAGEN_BIOSYNTHESIS_AND_MODIFYING_ENZYMES	0.011	-2.02
	MITOCHONDRIAL_BIOGENESIS	0.033	2.11
	COMPLEX_III_ASSEMBLY	0.019	2.25
	INTERFERON_GAMMA_SIGNALING	0.023	2.30
	MITOCHONDRIAL_PROTEIN_IMPORT	0.026	2.36
	INTERFERON_ALPHA_BETA_SIGNALING	0.019	2.44
	NICOTINATE_METABOLISM	0.019	2.48
	FORMATION_OF_ATP_BY_CHEMIOSMOTIC_COUPLING (COMPLEX V)	0.019	2.60
	BRANCHED_CHAIN_AMINO_ACID_CATABOLISM	0.019	2.63
	COMPLEX_IV_ASSEMBLY	0.019	2.73
	MITOCHONDRIAL_FATTY_ACID_BETA_OXIDATION	0.019	2.80
	CRISTAE_FORMATION	0.019	2.91
	MITOCHONDRIAL_TRANSLATION	0.045	3.03
	CITRIC_ACID_CYCLE_TCA_CYCLE	0.019	3.05
	MITOCHONDRIAL_PROTEIN_DEGRADATION	0.048	3.15

B

Statut Clinique	Pathway
Patients Présymptomatiques uniquement	AEROBIC_RESPIRATION_AND_RESPIRATORY_ELECTRON_TRANSPORT
	AMINO_ACIDS_REGULATE_MTORC1
	ANTIGEN_PRESENTATION_FOLDING_ASSEMBLY
	ANTIGEN_PROCESSING_CROSS_PRESENTATION
	BILE_ACID_AND_BILE_SALT_METABOLISM
	DAP12_INTERACTIONS
	DISEASES_OF_CARBOHYDRATE_METABOLISM
	FATTY_ACID_METABOLISM
	GLYCOSPHINGOLIPID_CATABOLISM
	ION_CHANNEL_TRANSPORT
	KERATAN_SULFATE_KERATIN_METABOLISM
	METABOLISM_OF_COFACTORS
	MHC_CLASS_II_ANTIGEN_PRESENTATION
	TRANSFERRIN_ENDOCYTOSIS_AND_RECYCLING
	AEROBIC_RESPIRATION_AND_RESPIRATORY_ELECTRON_TRANSPORT
Patients Symptomatiques uniquement	CITRIC_ACID_CYCLE_TCA_CYCLE
	COMPLEX_III_ASSEMBLY
	COMPLEX_IV_ASSEMBLY
	MITOCHONDRIAL_BIOGENESIS
	MITOCHONDRIAL_FATTY_ACID_BETA_OXIDATION
	MITOCHONDRIAL_PROTEIN_IMPORT
	MITOCHONDRIAL_TRANSLATION

Figure 90 : Voies biologiques significativement enrichies dans les fibroblastes de patients présymptomatiques et symptomatiques par rapport aux contrôles (analyse fGSEA – base Reactome). *(A) Voies significativement enrichies (|NES| > 2), avec indication du score d'enrichissement normalisé (NES) et de la p-value. Un NES positif (rouge) correspond à des voies diminuées chez les patients, tandis qu'un NES négatif (vert) correspond à des voies activées. Les altérations concernent majoritairement des processus mitochondriaux et métaboliques, plus marqués au stade symptomatique. (B) Voies spécifiquement diminuées selon le statut clinique. Les voies significativement altérées (|NES| > 2) sont présentées séparément pour les patients présymptomatiques (partie supérieure) et symptomatiques (partie inférieure), par rapport aux contrôles. Ces résultats mettent en évidence une signature mitochondriale évolutive, avec des altérations distinctes selon le stade, et une prédominance des processus liés à la chaîne respiratoire et au métabolisme énergétique au stade symptomatique.*

À l'inverse, deux voies apparaissent enrichies chez les patients présymptomatiques : la trimérisation de la chaîne de collagène (NES = –2,04) ainsi que les processus d'épissage et de maturation de l'ARN (NES = –2,01), suggérant une altération précoce des mécanismes de traitement post-transcriptionnel.

Chez les patients symptomatiques, 17 voies présentent un |NES| > 2 (**Figure 90-A**). Plusieurs processus bioénergétiques majeurs sont significativement altérés, notamment le cycle de Krebs (NES = 3,05), la β-oxydation des acides gras (NES = 2,80), l'assemblage des complexes III/IV de la chaîne respiratoire (NES = 2,73), la synthèse d'ATP par chimiosmose (NES = 2,60) ainsi que la traduction mitochondriale (NES = 3,03). Des voies liées à la signalisation interféron-α/β et interféron-γ sont également modifiées (NES = 2,44 et 2,30). À l'inverse, la voie de biosynthèse du collagène et des enzymes modificatrices associées apparaît enrichie chez les patients (NES = –2,02).

Parmi les 17 voies les plus significativement affectées chez le patients symptomatiques, 10 sont directement liées à la fonction mitochondriale alors que seules 5 voies mitochondriales sont affectées chez le patient présymptomatique

Ces résultats mettent en évidence une altération globale de l'homéostasie bioénergétique, impliquant la phosphorylation oxydative (OXPHOS), le cycle de Krebs et le métabolisme lipidique dans les fibroblastes symptomatiques. L'augmentation des voies associées à la matrice extracellulaire et au collagène pourrait refléter une adaptation spécifique liée à l'origine fibroblastique des cellules étudiées.

La comparaison directe des voies spécifiquement diminuées entre les deux groupes de patients (**Figure 90-B**) met en évidence des altérations spécifiques selon le statut clinique. Dans l'ensemble, ces données suggèrent une amplification progressive de la signature mitochondriale au stade symptomatique et une aggravation de la perturbation de l'homéostasie bioénergétique lors de la transition du stade présymptomatique au stade symptomatique dans la maladie de Huntington.

C- Analyse ciblée du métabolisme des monocarbones au sein du protéome différentiel

Les analyses d'enrichissement fonctionnel ont mis en évidence une signature mitochondriale et métabolique marquée, suggérant une perturbation coordonnée de processus bioénergétiques et redox au cours de la progression de la maladie. Toutefois, le métabolisme des monocarbones (MMC), bien que central dans l'homéostasie cellulaire et intimement lié aux voies mitochondriales, n'apparaît pas comme un réseau autonome dans les principales bases de données d'enrichissement. Les protéines qui le composent sont réparties entre plusieurs catégories fonctionnelles, notamment le métabolisme des acides aminés (cystéine, sérine, glycine), la voie de la transsulfuration, les processus de transméthylation, le cycle des folates et de la méthionine, ainsi que le métabolisme des acides aminés soufrés.

Afin d'évaluer spécifiquement l'implication du MMC dans les altérations observées, nous avons procédé à une analyse ciblée en recherchant manuellement, au sein des listes de protéines statistiquement différentielles, celles appartenant au MMC. Cette sélection s'est appuyée sur la liste de gènes utilisée au CHRU de Nancy pour l'identification des variants pathogènes associés aux maladies rares du MMC (TruSight One Expanded Gene List).

Chez les patients présymptomatiques, six protéines du MMC sont significativement modifiées par rapport aux contrôles (**Tableau XIV**). Parmi elles, deux sont davantage exprimées chez les contrôles (indiquées en vert) et quatre sont sur-exprimées chez les patients (indiquées en bleu). Notamment, la lysophosphatidylcholine acyltransferase 2 (LPCAT2) et la cystathionine β-synthase (CBS) figurent parmi les protéines les plus fortement sur-exprimées au sein des 404 protéines différentielles identifiées dans ce groupe.

Tableau XIV : Protéines du MMC modifiées chez les patients présymptomatiques. *Le tableau résume l'expression des protéines atteintes en lien avec le MMC. En vert apparaisse les protéines surexprimées chez les contrôles et en blanc les protéines surexprimées chez les patients présymptomatiques.*

Voies du MMC	p-value	Protéines	Gènes	Description
B12 (Q8IVH4)	0.0005	MMAA	MMAA	Methylmalonic aciduria type A protein, mitochondria
Choline (Q8NE62)	0.0001	CHDH	CHDH	Choline dehydrogenase, mitochondrial
Choline (Q7L5N7)	4.99^{E}-10	PCAT2	LPCAT2	Lysophosphatidylcholine acyltransferase 2
Choline (Q9NPB8)	2.78^{E}-5	GPCP1	GPCPD1	Glycerophosphocholine phosphodiesterase
Folate (P13995)	6.73^{E}-6	MTDC	MTHFD2	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, mitochondrial
(Transsulfuration) P35520	1.15^{E}-5	CBS	CBS	Cystathionine β-synthase

Dans le groupe des patients symptomatiques, quatorze protéines du MMC sont significativement modifiées (**Tableau XV**), dont trois davantage exprimées chez les contrôles et onze sur-exprimées chez les patients. La CBS, première enzyme de la voie de la transsulfuration, constitue la protéine la plus fortement sur-exprimée parmi les 990 protéines différentielles identifiées. La cystathionine γ-lyase (CTH), seconde enzyme de cette voie, est également significativement augmentée. Par ailleurs, la méthionine synthase (MS), enzyme clé du cycle de la vitamine B12 permettant la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, présente également une surexpression significative.

Tableau XV : Protéines du MMC modifiées chez les patients symptomatiques. *Le tableau résume l'expression des protéines atteintes en lien avec le MMC. En vert apparaisse les protéines surexprimées chez les contrôles et en blanc les protéines surexprimées chez les patients symptomatiques.*

Voies du MMC	p-value	Protéines	Gènes	Description
B12 (Q8IVH4)	0.0005	MMAA	MMAA	Methylmalonic aciduria type A protein, mitochondria
Choline (Q8NE62)	0.0001	CHDH	CHDH	Choline dehydrogenase, mitochondrial
Choline (Q7L5N7)	4.99^{E}-10	PCAT2	LPCAT2	Lysophosphatidylcholine acyltransferase 2
Choline (Q9NPB8)	2.78^{E}-5	GPCP1	GPCPD1	Glycerophosphocholine phosphodiesterase
Folate (P13995)	6.73^{E}-6	MTDC	MTHFD2	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, mitochondrial
Folate (Q3SY69)	1.81^{E}-4	AL1L2	ALDH1L2	Mitochondrial 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase
Folate (O75891)	0.001	AL1L1	ALDH1L1	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase
Méthylation (Q9H8H3)	5.96^{E}-5	TMT1A	TMT1A	Thiol S-methyltransferase
Méthylation (P16455)	0.0002	MGMT	MGMT	Methylated DNA-protein-cysteine methyltransferase
Méthylation (Q99707)	0.0001	METH	MTR	Methionine synthase
Transsulfuration (P35520)	1.15^{E}-5	CBS	CBS	Cystathionine β-synthase
Transsulfuration (P32929)	3.52^{E}-6	CBL	CTH	Cystathionine γ-lyase
Métabolisme (Q96EK6)	0.0006	GNA1	GNPNAT1	Glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase
Métabolisme (O15269)	0.001	SPTC1	SPTLC1	Serine palmitoyltransferase 1

Ainsi, le passage du stade présymptomatique au stade symptomatique de la maladie de Huntington s'accompagne d'une augmentation du nombre de protéines du MMC altérées, traduisant une implication croissante de ce métabolisme au cours de la progression de la maladie. Cette dysrégulation se caractérise majoritairement par une sur-expression des acteurs clés du MMC, en particulier ceux impliqués dans la voie de la transsulfuration et dans les processus de reméthylation.

D- Identification des protéines pivots par analyse de récurrence dans les voies altérées

L'analyse ciblée du métabolisme des monocarbones a mis en évidence une implication croissante de ce réseau au cours de la progression de la maladie. Toutefois, afin d'identifier les nœuds protéiques centraux susceptibles de structurer les altérations observées au sein des réseaux enrichis, il était pertinent d'adopter une approche complémentaire centrée sur les protéines les plus fréquemment représentées dans les voies significativement perturbées.

Dans cette optique, nous avons extrait, pour chaque groupe (présymptomatique et symptomatique), les 30 protéines les plus représentées au sein de l'ensemble des voies significativement diminuées par rapport aux contrôles (**Figure 91**). Cette approche permet d'identifier les protéines récurrentes apparaissant dans plusieurs voies enrichies, suggérant un rôle pivot au sein des réseaux fonctionnels altérés.

L'analyse comparative met en évidence 14 protéines communes aux deux groupes de patients, ainsi que 16 protéines spécifiques à chacun des stades cliniques.

Chez les patients présymptomatiques (**Figure 91-A et B**), la signature protéique dominante constitue un réseau très homogène et concerne les anomalies du transport d'électrons au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale. Plusieurs sous-unités de l'ATP synthase (ATP5F1A, ATP5F1B, ATP5F1C) ainsi que des sous-unités de la cytochrome c oxydase (COX5, COX6, COX7) apparaissent comme fortement récurrentes dans les voies altérées. Cette signature est cohérente avec l'enrichissement spécifique du réseau « Aerobic respiration and respiratory electron transport » précédemment identifié. Ces données suggèrent qu'une altération précoce de la bioénergétique mitochondriale constitue un événement central au stade présymptomatique.

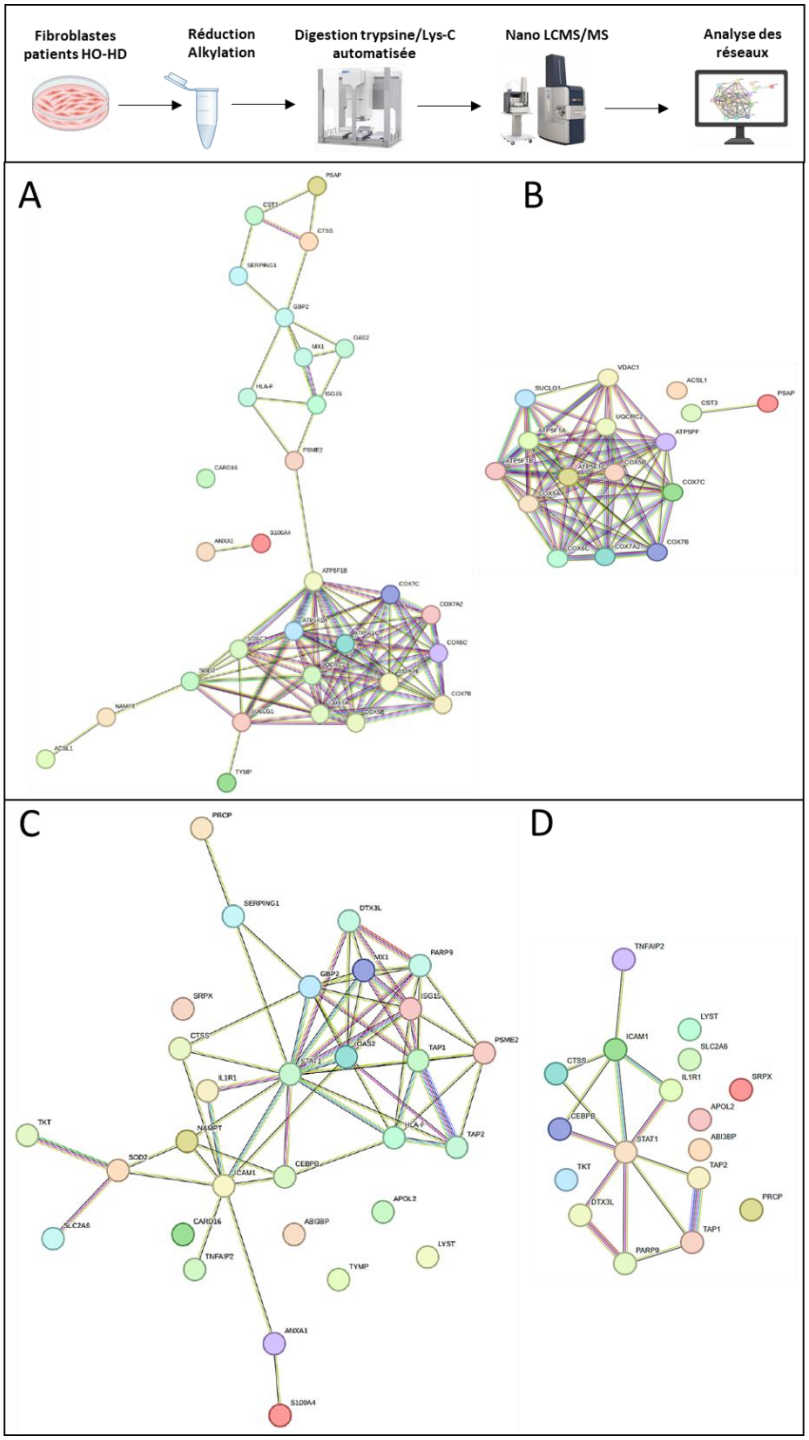


Figure 91 : Analyse du réseau d'interactions protéiques construit à partir des protéines récurrentes chez les patients symptomatiques.*(A)Liste des 30 protéines les plus représentées dans les voies significativement diminuées chez les patients présymptomatiques. (B) Sous-réseau des 16 protéines spécifiques aux patients présymptomatiques. (C) Liste des 30 protéines les plus représentées dans les voies significativement diminuées chez les patients symptomatiques. (D) Sous-réseau des 16 protéines spécifiques aux patients symptomatiques. Les nœuds représentent des protéines (isoformes regroupées par gène). Les nœuds rouges correspondent à la protéine requête et aux interacteurs de première couche ; les nœuds blancs correspondent à la seconde couche. Les nœuds pleins indiquent qu'une structure 3D est connue ou prédite, les nœuds vides qu'aucune structure n'est disponible. Les arêtes correspondent aux associations protéine–protéine : bleu clair (bases de données validées), rose/violet (interactions déterminées expérimentalement), vert (voisinage génomique), rouge (fusions géniques), bleu foncé (co-occurrence), vert clair (text-mining), noir (co-expression) et violet clair (homologie protéique). Les associations reflètent des liens fonctionnels et ne signifient pas nécessairement une interaction physique directe. Le réseau a été généré à l'aide de l'application web STRING-db.*

Chez les patients symptomatiques (**Figure 91-C et D**), la structuration du réseau évolue vers un profil différent, le réseau est plus ouvert et marqué par la position centrale de STAT1. Ce facteur de transcription est impliqué dans la réponse inflammatoire et la régulation du stress oxydant (Butturini et al. 2020; Y. Liu et al. 2025). Dans ce réseau STAT1 interagit notamment avec deux autres protéines récurrentes, CEBPβ, un facteur de transcription impliqué dans la réponse au stress, et DTX3L, une ubiquitine ligase impliquée dans la signalisation de l'interféron (Kar et al. 2024). Cette observation est en accord avec les analyses d'enrichissement montrant une perturbation accrue des voies mitochondriales et des voies liées à l'interféron α, β et γ. La centralité de STAT1 suggère ainsi une intégration entre dysfonction mitochondriale, stress oxydant et signalisation inflammatoire au stade symptomatique. Dans l'ensemble, cette analyse confirme l'existence d'une signature mitochondriale précoce centrée sur la chaîne respiratoire, qui évolue vers un profil plus complexe associant altération bioénergétique et inflammatoire au cours de la progression clinique de la maladie de Huntington.

L'analyse protéomique comparative des fibroblastes de patients atteints de la maladie de Huntington (MH) révèle une altération précoce et progressive du protéome, détectable dès le stade présymptomatique et amplifiée au stade symptomatique. Parmi les 7 049 protéines identifiées, 1 084 sont significativement modifiées par rapport aux contrôles. On observe 404 protéines différentielles au stade présymptomatique et 990 au stade symptomatique, traduisant une augmentation des altérations avec la progression clinique.

L'enrichissement fonctionnel met en évidence une signature mitochondriale robuste dans les deux groupes (chaîne respiratoire, phosphorylation oxydative, métabolisme énergétique), présente précocement et renforcée au stade symptomatique, où s'ajoute une activation accrue des voies liées à l'interféron. L'analyse ciblée du MMC montre une implication croissante au cours de la MH : six protéines sont modifiées au stade présymptomatique contre quatorze au stade symptomatique, principalement par surexpression d'enzymes de la voie de la transsulfuration (CBS, CTH) et de la reméthylation (MS). Enfin, l'étude des protéines récurrentes confirme une organisation hiérarchisée des perturbations : signature mitochondriale précoce au stade présymptomatique, puis intégration de régulateurs transcriptionnels et inflammatoires au stade symptomatique. Ces résultats indiquent que la MH s'accompagne d'une altération progressive de l'homéostasie mitochondriale et énergétique, associée à une mobilisation croissante du MMC au cours de la progression clinique.

VI- Discussion

La deuxième partie de cette étude visait à explorer les mécanismes moléculaires et cellulaires par lesquels les altérations du métabolisme des monocarbones (MMC) et l'hyperhomocystéinémie (*H*HCY) associée, sont susceptibles d'influencer la physiopathologie de la MH. Nos résultats montrent que 58,25% des patients MH présentent une hyperhomocystéinémie (*H*HCY), laquelle favorise la N-homocystéinylation (N-HCY) de la huntingtine (HTT). Cette modification post-traductionnelle est associée à une augmentation significative des agrégats protéiques, localisés majoritairement dans les régions périnucléaires et nucléaires, avec une intensité modulée par le statut biochimique et clinique des patients, particulièrement dans le contexte *H*HCY.

Par ailleurs, la mutation de la HTT et l'*H*HCY modulent les interactions de la huntingtine avec les acteurs clés de la voie de la transsulfuration (CBS, CSE, SP1), tandis que l'expression transcriptionnelle de CBS et CSE est également augmentée. Ces observations soulignent un lien direct entre dérégulation du MMC et perturbations de la voie de la transsulfuration, essentielle à l'homéostasie rédox et à la production de glutathion.

Enfin, l'analyse protéomique globale des fibroblastes révèle que des altérations du protéome, incluant le MMC, les voies mitochondriales, le métabolisme énergétique et la réponse au stress oxydant, sont déjà détectables au stade présymptomatique et s'accentuent au stade symptomatique. Ensemble, ces résultats établissent que les anomalies du MMC, l'*H*HCY et la N-HCY de la HTT, peuvent potentialiser les effets de la mutation de la HTT, offrant un cadre cohérent pour comprendre la progression et la variabilité clinique de la MH que nous avons observé dans la première partie de notre étude.

A- Une altération majeure des fonctions mitochondriales et une stimulation inefficace du métabolisme des monocarbones

1- Détérioration progressive de l'homéostasie mitochondriale

L'analyse protéomique révèle que la transition du stade présymptomatique au stade symptomatique chez les patients atteints de MH s'accompagne d'une augmentation du nombre de protéines présentant une expression significativement modifiée (+586 protéines). L'analyse par fGSEA a mis en évidence les réseaux fonctionnels les plus statistiquement perturbés, tous diminués, et souligne une détérioration progressive de la fonction mitochondriale et bioénergétique.

Chez le patient présymptomatique ces atteintes mitochondriales se limitent majoritairement au transport de la chaine d'électrons, la formation d'ATP et la β-oxydation des acides gras. Elles sont confirmées par l'analyse des protéines récurrentes ciblant principalement des composants de l'ATP synthase et du complexe cytochrome c qui transfèrent les électrons à l'oxygène moléculaire, créant un gradient électrochimique permettant la production d'ATP par l'ATP synthase. Ces observations chez le patient présymptomatique soulignent la précocité des perturbations avant l'apparition des symptômes de la maladie. Ceci confirme les travaux qui ont montrés, par imagerie cérébrale, que les patients asymptomatiques présentent une perte neuronale et des altérations cérébrales structurelles, en particulier dans le striatum, 10 à 20 ans avant l'apparition des symptômes (Elizabeth H. Aylward et al. 2011; Tabrizi et al. 2013b; Papoutsi et al. 2014; Tabrizi et al. 2022b).

Chez le patient symptomatique ces atteintes s'aggravent et s'étendent à l'ensemble de la chaine respiratoire, au potentiel de membrane mitochondrial, à la biogenèse des mitochondries, à l'homéostasie des protéines mitochondriales (import, dégradation et traduction), et du point de vue métabolique au cycle de Krebs. Ces observations sont cohérentes avec la littérature, de nombreux travaux suggèrent un trouble du métabolisme énergétique et en particulier une dysfonction mitochondriale dans la physiopathologie de la MH. La fonction mitochondriale est atteinte avec une réduction importante de l'activité de la chaîne respiratoire et de la production d'ATP (M. Sharma et al. 2015a). Une atrophie musculaire et une perte de poids sont observées chez les patients MH malgré un apport calorique adéquat, dès le stade présymptomatique, indépendamment de l'excès de dépenses caloriques lié aux mouvements anormaux.

La sévérité des atteintes métaboliques semble corrélée à la taille des expansions CAG et à la durée d'évolution de la maladie (Aziz et al. 2008). Les analyses post-mortem mettent en évidence une diminution significative (39-59 %) de l'activité des complexes II et III de la chaîne respiratoire dans le noyau caudé de patients MH (Browne et al. 1997).

Sur le plan moléculaire, la pathogénie de la MH repose sur un double mécanisme : un gain de fonction toxique de la mHTT associé à une perte partielle des fonctions physiologiques de la HTT (G. P. Bates et al. 2015a; Saudou et Humbert 2016) qui s'accompagne d'altération du métabolisme cellulaire mitochondrial, glucidique, lipidique et de la production de stress oxydant (Johri et al. 2013; Leoni et Caccia 2014; Kacher et al. 2022; Tshilenge et al. 2023; Valenza et al. 2023). Ces altérations peuvent être reliées à l'inhibition de l'expression et de l'activité de PGC-1α et de Nrf2 par la mHTT

impactant l'homéostasie mitochondriale, le métabolisme énergétique, la réponse antioxydante (SOD1/2, glutathion peroxydases, catalase) et majorant la production de ROS (Tassone et al. 2023; A. P. Kumar et Puthussery 2025; D'Egidio et al. 2025). De plus, la mHTT affecte la synthèse des sous-unités du complexe II et III de la chaine respiratoire (Benchoua et al. 2006) et interagit avec la membrane externe mitochondriale, perturbant le potentiel membranaire (Choo et al. 2004). L'analyse des protéines récurrentes diminuées dans les réseaux identifiés par fGSEA montre 14 protéines communes aux patients symptomatiques et présymptomatiques, dont la SOD2, mettant également en évidence un déficit de réponse au stress oxydant mitochondrial.

Le stress oxydant participe à la pathogenèse de nombreuses maladies neurodégénératives, y compris la MH (J. Zheng et al. 2018). Les ROS induisent l'oxydation des protéines, des lipides membranaires et des acides nucléiques, y compris de l'ADN mitochondrial, participant ainsi de manière importante aux mécanismes pathogéniques de la MH (Guedes-Dias et al. 2016; Jurcau 2021).

L'analyse des protéines récurrentes montre un profil particulier chez les patients symptomatiques s'organisant autour d'une protéine pivot, le facteur de transcription STAT1 impliqué dans de nombreux processus, notamment l'inflammation, la réponse ISR (Integrated Stress Respons) et la réponse au stress oxydant (Butturini et al. 2020; Y. Liu et al. 2025). STAT1 interagit en réseau avec CEBPβ qui est également une protéine récurrente spécifique du protéome des patients symptomatique. CEBPβ est un facteur de transcription partenaire du complexe transcriptionnel ATF4 et il réprime également l'expression du facteur de transcription REST. Il est impliqué dans la réponse intégrée au stress (ISR), la réponse au stress oxydant, au stress du RE et dans l'inflammation (Ong et Logue 2023; Huggins et al. 2016; P. Jiang et Bian 2025). STAT1 interagit avec une autre protéine récurrente du réseau, l'ubiquitine ligase DTX3L, impliquée dans la signalisation à l'interféron (Kar et al. 2024). Récemment il a été montré que DTXL3 pouvait également ubiquitinylé les acides nucléiques et participer ainsi à la régulation de la réparation des dommages à l'ADN (Q. Ye et al. 2024). Ainsi, l'élargissement du réseau protéique statistiquement altéré montre une aggravation des atteintes cellulaires chez les patients symptomatiques.

58,25 % des patient de la cohorte HO-HD sont *H*HCY. Cette *H*HCY est déjà présente chez les patients présymptomatiques (62,5%). Dans le contexte de la MH, l'*H*HCY peut résulter de plusieurs facteurs, notamment de polymorphismes ou de mutations affectant les enzymes du MMC, tels que le polymorphisme du gène *MTHFR* précédemment évoqué, de carences vitaminiques — en

particulier en vitamine B6, fréquemment observées dans notre cohorte — ou encore d'une altération de la voie de la transsulfuration liée aux effets de la mHTT. De manière générale l'ensemble de la cohorte HO-HD, patients présymptomatiques et symptomatiques, présente des taux d'HCY statistiquement plus importants que la population contrôle. L'HCY possède des propriétés neurotoxiques susceptibles d'amplifier les effets délétères associés à la mutation de la HTT, contribuant ainsi aux altérations cellulaires et moléculaires précédemment décrites.

La neurotoxicité de l'HCY repose sur un ensemble de mécanismes moléculaires interdépendants comprenant l'augmentation du stress oxydant, l'activation du stress du RE, l'induction de dommages à l'ADN, la N-HCY des protéines ainsi que des phénomènes d'excitotoxicité glutamatergique, contribuant collectivement à la dysfonction neuronale et à la neurodégénérescence (S. Chen et al. 2017; Deep et al. 2024; Araszkiewicz et al. 2025). De plus, l'*H*HCY s'accompagne d'une perte d'expression et d'activité de SIRT1 et PGC1α induisant une perturbation de l'homéostasie mitochondriale et potentialisant les effets de la mHTT sur ces deux protéines (Lyon et al. 2020; Guéant et al. 2022; Castillo et al. 2025; Matmat et al. 2026). Des niveaux élevés d'HCY impactent l'activité des complexes II, III et IV de la chaîne respiratoire et inhibe l'expression de certaines enzymes antioxydantes, notamment la SOD, la catalase et la peroxydase (Outinen et al. 1999; A. D. Smith et Refsum 2016; Kaplan et al. 2020; Araszkiewicz et al. 2025). Le stress oxydant généré dans les conditions d'*H*HCY est associé aux dommages à l'ADN et susceptible d'altérer l'intégrité du génome, favorisant ainsi des phénomènes d'instabilité génomique impliqués dans les processus neurodégénératifs (Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025). Dans la maladie de Huntington (MH), ces altérations pourraient notamment participer aux mécanismes d'expansion somatique des répétitions CAG, connus pour contribuer à la progression de la maladie (Tabrizi et al. 2013b, 2022b). Pris dans leur ensemble, les mécanismes moléculaires mis en jeu par mHTT et par l'HCY présentent un important chevauchement et pourraient agir de manière synergique dans la physiopathologie de la maladie de Huntington (MH). Ainsi, l'*H*HCY pourrait agir comme un facteur modulateur métabolique capable d'amplifier les mécanismes toxiques induits par la mHTT.

2- Augmentation de l'expression des acteurs du MMC

L'analyse protéomique montre que l'augmentation des taux d'HCY chez les patients MH s'accompagne d'une augmentation de l'expression de plusieurs acteurs du MMC.

Chez les patients présymptomatiques, six protéines du MMC sont significativement modifiées. Chez les patients symptomatiques, quatorze protéines sont différentielles, dont une majorité surexprimée. Cette signature protéomique inclut notamment la MS, la CBS et la CSE, traduisant une activation coordonnée de la voie de la reméthylation et de la voie de la transsulfuration à un stade avancé, suggérant une mobilisation accrue du recyclage de l'homocystéine.

La CBS, enzyme limitante de la transsulfuration, est une protéine homotétramérique dépendante du pyridoxal-5'-phosphate (PLP, vitamine B6) et de l'hème. Bien que son expression soit classiquement considérée comme relativement constitutive, elle est finement régulée au niveau post-traductionnel et par le statut redox cellulaire (B. Murphy et al. 2019; Werge et al. 2021). Elle possède notamment un motif redox-sensible CXXC (Cys272–Cys275) capable de moduler son activité via la formation d'un pont disulfure (B. Murphy et al. 2019). Son activité est fortement stimulée par la S-adénosylméthionine (SAM), qui se lie au domaine régulateur C-terminal et lève l'inhibition intrastérique, augmentant de 2 à 5 fois la condensation de l'homocystéine avec la sérine (Werge et al. 2021). À l'inverse, une diminution de la SAM réduit l'activité de la CBS. La CBS peut également être activée en contexte de stress oxydant par S-glutathionylation, établissant un mécanisme de rétrocontrôle positif au sein de la voie de transsulfuration (B. Murphy et al. 2019). Par ailleurs, la sensibilité redox directe de la CBS, notamment via son groupement hème, la rend susceptible d'être modulée par des variations de NO ou de CO, ainsi que par l'état oxydatif mitochondrial (B. Murphy et al. 2019).

Le stress oxydant et la teneur en homocystéine sont les facteurs les plus importants modulant l'activité et l'expression de la CBS. Alors que la concentration en homocystéine n'influence que l'activité, le stress oxydant module l'expression et l'activité. Ainsi, des régulations transcriptionnelles de la CBS impliquant notamment Nrf2, HSF1, SP1/SP3, STAT1/STAT6 ou ATF6 ont été décrites en réponse à des stimuli oxydatifs ou inflammatoires (Sbodio et al. 2019c; Zuhra et al. 2020; Werge et al. 2021; Dong et al. 2023).

Ces éléments renforcent l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de la CBS observée dans notre protéome reflète une activation adaptative en réponse à un environnement pro-oxydant et hyperhomocystéinémique. L'activation de Nrf2, facteur clé de la réponse antioxydante, est particulièrement intéressante puisqu'il peut induire l'expression de CBS et de CSE tout en stimulant la synthèse et le recyclage du glutathion, cependant son activité et son expression sont perturbés dans la MH (Naia et Rego 2015; Werge et al. 2021). HSF1 est également impliqué dans l'induction de l'expression de la CBS en réponse au stress (Zuhra et al. 2020), cependant son expression est fortement diminuée dans les modèles *in vitro* et *in vivo* de la MH, dans les cellules souches pluripotentes humaines inductibles différenciées et chez les patients atteints de HD (Gomez-Pastor et al. 2017).

Le facteur de transcription ATF6 peut se lier au promoteur du gène *CBS* afin d'activer sa transcription en réponse à un déficit en H_2S. Dans la MH, la diminution de la production d'H_2S observée en lien avec la perturbation de la voie de la transsulfuration par la mHTT pourrait ainsi déclencher un mécanisme adaptatif visant à restaurer l'homéostasie du métabolisme soufré (B. Murphy et al. 2019; Dong et al. 2023). Le couple STAT1/STAT6 sensible au statut redox est également capable de moduler l'expression de la CBS. STAT6 l'active et STAT1 l'inhibe dans les cellules gliales de la maladie de Parkinson (Y. Liu et al. 2025). Or, nous avons montré dans notre protéome que STAT1 est une des protéines récurrente centrale chez le patient symptomatique, sa diminution d'expression pourrait être liée à l'augmentation de l'expression de la CBS dans nos cellules.

Concernant la CSE sa surexpression dans les fibroblastes des patients symptomatiques de la cohorte HO-HD diffère de ce qui a été montré dans la littérature. Ainsi, une réduction d'environ 90 % du niveau transcriptionnel de la CSE a été observée dans un modèle cellulaire de la maladie de Huntington (Q111), ainsi que dans le striatum de patients atteints de la maladie (Paul et Snyder 2014; Paul et al. 2014a). La régulation de la CSE diffère nettement de celle de la CBS. Contrairement à cette dernière, la CSE n'est pas constitutivement exprimée, son expression est hautement inductible par le stress oxydant, le stress du réticulum endoplasmique, l'inflammation, la privation nutritionnelle ou encore l'HHCY (Sbodio et al. 2019c; Werge et al. 2021). Sa transcription est régulée notamment par SP1 dans des conditions basales, par Nrf2 en réponse au stress oxydant, par ATF4 en réponse à une diminution en cystéine ou encore CREB et peut être modulée par des voies métaboliques spécifiques selon le tissu.

Cependant ces facteurs de transcription sont réprimés au niveau de leur expression ou de leur activité dans la MH (Naia et Rego 2015; B. Murphy et al. 2019; Sbodio et al. 2019b). D'autres facteurs de transcription pourraient être impliqués dans l'augmentation de l'expression de la CSE, comme FRX (Farnesoid X receptor) en réponse à la diminution d'H2S (B. Murphy et al. 2019). Le promoteur du gène CTH est également soumis à une régulation épigénétique par méthylation. Dans ce contexte, une altération du MMC peut perturber la production de SAM, principal donneur de groupements méthyle, et ainsi modifier les mécanismes de méthylation de l'ADN. Une telle perturbation pourrait conduire à une dérégulation du promoteur du gène *CTH* et favoriser une augmentation de l'expression de la CSE (Sbodio et al. 2019b; B. Murphy et al. 2019; Werge et al. 2021; Guéant et al. 2022).

De nombreuses modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation, la SUMOylation ou la sulfhydration participent également à la régulation de son activité (Sbodio et al. 2019b; Werge et al. 2021). Comme la CBS, la CSE dépend du PLP, rendant le statut en vitamine B6 déterminant pour le fonctionnement optimal de la voie de la transsulfuration, (Werge et al. 2021).

Dans notre étude, malgré l'augmentation de l'expression de la CBS, de la production de cystathionine et de la surexpression de la CSE au stade symptomatique, aucune augmentation de la cystéine ni du glutathion n'est observée. Une altération fonctionnelle de son activité (modifications post-traductionnelles, limitation en cofacteur, inhibition redox) semble l'hypothèse la plus plausible. Une mesure directe de l'activité enzymatique de la CSE ou un suivi de la production d'H_2S — molécule signal impliquée dans l'homéostasie mitochondriale et redox (B. Murphy et al. 2019) — permettrait de trancher l'hypothèse d'un « bouchon » fonctionnel au niveau de la CSE. En parallèle, l'exploration du devenir métabolique de la cystéine (notamment vers la taurine) pourrait préciser l'hypothèse d'une dérivation compensatoire.

Ainsi, l'activation coordonnée de la CBS et des régulateurs redox décrits dans la littérature (B. Murphy et al. 2019; Werge et al. 2021) s'intègre de manière cohérente avec nos données protéomiques et métabolomiques, suggérant qu'au stade symptomatique de la maladie de Huntington, la voie de transsulfuration est mobilisée dans une tentative d'adaptation au stress oxydant. Toutefois, cette réponse apparaît insuffisante pour restaurer le pool de glutathion, probablement en raison d'une altération de l'activité de la CSE.

B- Causes et conséquences fonctionnelles et structurelles de la N-HCY des protéines

L'augmentation de l'homocystéine observée chez les patients MH a pour conséquence majeure la formation d'homocystéine thiolactone (HTL) par une erreur d'édition de l'enzyme MARS (**Introduction - Figure 64 et Figure 65**). L'HTL se lie ensuite par N-homocystéinylation (N-HCY) au résidu lysine de certaines protéines, aboutissant à la formation de N-homocystamides fortement pro-oxydants.

Plusieurs travaux ont étudié la réactivité de l'HTL vis-à-vis de différentes protéines, qui dépend du nombre de lysines présentes et du point isoélectrique des protéines (M. Sharma et al. 2015a). Les protéines acides sont particulièrement sensibles aux altérations structurelles et fonctionnelles induites par l'HTL (G. S. Sharma et al. 2014). La plupart des protéines du cytosquelette étant de nature acide, elles pourraient être ciblées par la N-HCY. En effet, certaines protéines du cytosquelette, comme les filaments intermédiaires, la protéine tau, et l'actine, ont été identifiées comme N-HCY en cas d'*H*CY (Loureiro et al. 2009; Sontag et al. 2013).

La N-HCY entraîne l'inactivation des sites actifs enzymatiques, l'agrégation des protéines et leur perte de fonction. Cette modification post-traductionnelle est désormais reconnue comme un mécanisme clé dans le développement des maladies neurodégénératives et des protéinopathies humaines (M. Sharma et al. 2015a; Obeid et Herrmann 2006; Skovronsky et al. 2006). La N-HCY induit des changements conformationnels importants, favorisant la formation de feuillets β et la conversion amyloïdogène de protéines telles que la BSA, la caséine kappa, l'insuline, Tau, MAP1, DJ-1, l'α-synucléine, Aβ et la protéine prion (Bossenmeyer-Pourié et al. 2019a; Yousefi et al. 2012; Stroylova et al. 2012; Paoli et al. 2010; Zhou et al. 2022; Gao et al. 2024).

Dans la MH, la formation et la maturation des inclusions de mHTT sont des processus complexes, initialement dirigés par l'agrégation polyQ, mais impliquant également d'autres mécanismes liés aux mécanismes cellulaires altérés dans la maladie. Certaines modifications post-traductionnelles (PTM) dérégulées ou anormales de la mHTT augmentent sa susceptibilité à l'agrégation (Schaffert et Carter 2020; Lontay et al. 2020). Parmi ces PTM, on retrouve la phosphorylation, l'acétylation, l'ubiquitinylation, la SUMOylation, la palmitoylation et la myristoylation (Lontay et al. 2020).

1- La N-HCY : une nouvelle modification post-traductionnelle de la HTT

Le laboratoire NGERE a mis en évidence la N-HCY de la HTT sur la lysine 2514 chez le rat hyperhomocystéinémique, dans une séquence conservée à 100 % chez l'homme et la souris. Nous avons également confirmé cette N-HCY de la HTT chez l'homme, par Duolink® et immunoprécipitation dans des modèles de fibroblastes humains CblG (mutation de la méthionine synthase)(Données en cours de publication). Un des objectifs de la deuxième partie de ce travail de thèse était d'analyser la N-HCY de la HTT dans la cohorte HO-HD et de déterminer son lien avec le statut biochimique et/ou clinique du patient.

L'analyse Duolink® montre une N-HCY de la HTT significativement plus élevée chez les patients MH, quel que soit leur statut clinique ou biochimique, par rapport aux contrôles. Cette N-HCY corrèle positivement avec l'homocystéinémie et est accentuée chez les patients carencés en vitamine B6 et/ou hyperhomocystéinémique. Ces résultats sont tout à fait innovants puisqu'ils constituent une nouvelle modification post-traductionnelle de la HTT qui n'a jamais été publiée ni appréhendée dans la MH.

L'*H*HCY et la carence en vitamine B6 constituent ainsi des facteurs aggravants potentiels. L'accumulation d'anomalies du MMC pourrait contribuer à l'hétérogénéité des résultats observés entre les taux d'homocystéine et la N-HCY de la HTT, suggérant que le statut biochimique individuel module la relation entre homocystéinémie et N-HCY de la HTT. Deux hypothèses peuvent être avancées : d'une part, la N-HCY de la HTT jouerait un rôle dans la physiopathologie de la MH quel que soit le statut biochimique ; d'autre part, selon le statut *H*HCY/B6, la N-HCY aggraverait la maladie et contribuerait à la variabilité phénotypique.

2- Conséquences de la N-HCY sur la voie de la transsulfuration

Pour comprendre l'impact fonctionnel de la N-HCY de la HTT au regard des résultats du protéome et du métabolome du MMC nous avons analysé la régulation de la voie de la transsulfuration dans différentes lignées cellulaires (**Tableau XVI**) :

- **Les lignées HDFn + HCY thiolactone 100 µM** ont servi de contrôle positif pour la N-HCY en absence de mutation de la HTT. Nous avons observé une augmentation du nombre d'agrégats qui colocalisent avec l'HCY, ainsi qu'une interaction accrue de la HTT avec CBS et CSE, spécifique de la N-HCY. La N-HCY semble empêcher l'interaction de la HTT avec le facteur de transcription SP1, en accord avec l'augmentation de l'expression de l'ARNm de la CSE et de la CBS.

- **Les lignées contrôles de la cohorte HO-HD (absence de mutation, pas d'*H*HCY) ont servi de contrôles biologiques.** Aucune anomalie métabolique n'est rapportée. La croissance et la viabilité cellulaire sont correctes, avec une certaine hétérogénéité liée à l'âge des donneurs. Aucun marquage à l'HCY ni augmentation des agrégats n'est observé, confirmant l'absence d'*H*HCY. Les gènes CBS, SP1 et CTH sont significativement moins exprimés que dans les HDFn, en accord avec une diminution de la transcription liée à l'âge (Dey et al. 2023).

- **Les lignées MH de la cohorte HO-HD ont servi aux observations liées strictement à la mutation de la HTT sans *H*HCY.** La mutation de la HTT entraîne un mauvais repliement, une agrégation et une perte de fonction (Saudou et Humbert 2016). Les cellules présentent une diminution de croissance et de viabilité et une augmentation des agrégats colocalisés avec l'HCY. Le stress oxydant est accru (déficit glutathion/cystéine), en accord avec la littérature (A. Kumar et Ratan 2016). L'interaction HTT-CBS et HTT-SP1 est augmentée par rapport aux contrôles, confirmant que la mutation facilite ces interactions par gain de fonction. Ces résultats sont conformes à la littérature pour SP1 mais n'avaient jamais été montrés pour la CBS. L'interaction de la CBS avec la HTT ne modifie pas son activité enzymatique puisque quel que soit le profil biochimique du patient l'analyse du métabolome montre une augmentation de la production de cystathionine. La séquestration de SP1 par la mHTT n'empêche pas la transcription du gène *CTH*, et l'ARNm de la CSE est statistiquement plus exprimé, ces résultats sont contraire à ceux publiés dans les neuroprogéniteurs striataux Q111 et dans le modèle murins Q175 (Paul et al. 2014a; Sbodio et al. 2016; Paul et al. 2022b), ils confirment cependant ceux obtenus dans notre analyse du protéome et notre hypothèse de la mise en jeux d'autres facteurs de transcription dans cette régulation.

- Nous n'avons pas relevé d'augmentation statistique de l'interaction HTT-CSE cependant nous observons une diminution de son activité métabolique conduisant à une diminution de la production de cystéine et de glutathion certainement en lien avec sa liaison avec la mHTT telle que cela a été décrit précédemment (Paul et al. 2022a).

- **Les lignées MH + *H*HCY, ces cellules ont servi aux analyses des effets cumulatifs de la mutation de la HTT et de l'***H*HCY**.** Ces lignées ont été utilisé pour amener des éléments de réponse sur le rôle de l'*H*HCY et de la N-HCY de la HTT dans la potentialisation de la dysfonction mitochondriale et du stress oxydant que nous avons précédemment décrit. La croissance et la viabilité sont diminuées, avec une grande variabilité interindividuelle. L'*H*HCY induit une augmentation significative des agrégats qui colocalisent avec l'HCY. L'interaction HTT-CBS est accrue, comparées aux patients MH et aux contrôles mais ne perturbe pas son activité. L'interaction HTT-SP1 est fortement diminuée par rapport aux patients MH contrairement aux données de la littérature qui montre une augmentation de son interaction dans les lignées cellulaire Q111 et dans le modèle murin Q175 (Paul et al. 2014a, 2022a). Ces résultats suggèrent que la N-HCY empêche ou déplace l'interaction avec SP1, libérant potentiellement SP1 pour la transcription du gène *CTH*, ce qui est confirmée par l'expression accrue de la CSE dans l'analyse protéomique. De plus dans ce contexte d'*H*HCY l'interaction de la HTT avec la CSE est cette fois-ci statistiquement augmentée par rapport aux contrôles et aux patients MH, de manière conforme à la littérature (Paul et al. 2022a). Ceci suggère que la N-HCY de la HTT jouerait un rôle dans la séquestration de la CSE par la mHTT. Cette séquestration inhibe l'activité de la CSE (Paul et al. 2022a).Ainsi, la N-HCY de la HTT, surtout en contexte *H*HCY, accentue les interactions avec la CBS et la CSE, influence l'activité catalytique de la CSE et modifie la régulation de la transcription via SP1 qui cependant n'est pas le seul facteur de transcription impliqué dans l'expression de la CBS et de la CSE, aggravant le déficit du MMC observé chez les patients MH. L'accumulation de cystathionine, la diminution de cystéine et de glutathion confirment un effet « bouchon métabolique » au niveau de la CSE, lié non pas à un défaut d'expression mais à une inhibition accrue de son activité telle que cela a été rapporté dans la littérature (Paul et al. 2022a). L'ensemble de ces résultats et leur confrontation par rapport à la littérature existante ont été regroupé dans le **Tableau XVI.**

Tableau XVI : Synthèse comparative des conséquences moléculaires et cellulaires de la N-homocystéinylation de la huntingtine normale et mutée.

Pas de mutation de la HTT = Effet de la N-HCY de la HTT Lignée HDFn+HCY	**Mutation de la HTT Pas d'*H*HCY = Effet de la mutation de la HTT Lignées MH**	**Mutation de la HTT et *H*HCY =Effet de la mutation et de la N-HCY de la HTT Lignées MH+*H*HCY**
+ 100 µM d'HTL dans le milieu de culture	Moyenne âge: 51 ans Moyenne HCY : 13 µM Population normale entre 40 et 60 ans : 10,5µM	Moyenne âge: 54 ans Moyenne HCY: 22 µM
+ Agrégats qui colocalisent avec l'HCY En lien avec le rajout d'homocystéine thiolactone	**++ Agrégats qui colocalisent avec l'HCY** En lien avec mutation HTT et une homocystéinémie plus importante que dans une population contrôle	**+++ Agrégats qui colocalisent avec l'HCY** Effet potentialisé mutation HTT et *H*HCY
+ Interaction HTT-CBS : Confirmation existence interaction HTT-CBS (Boutell el al., 1998). Interaction augmentée par la N-HCY de la HTT. Ne perturbe pas l'activité Pas encore montré dans la littérature.	**++ Interaction HTT-CBS** La mutation de la HTT augmente sa liaison à la CBS. Pas encore montré dans la littérature. Ne perturbe pas l'activité de la CBS : Cystathionine augmentée	**+++ interaction HTT-CBS** Effet potentialisé mutation HTT et *H*HCY Ne perturbe pas l'activité de la CBS : Cystathionine augmentée Activité CBS stimulée par stress oxydant ++ (Persa et al ; 2004)
+ Interaction HTT-CSE : Confirmation existence interaction HTT-CSE (Paul et al., 2022). Interaction augmentée par la N-HCY de la HTT. Pas encore montré dans la littérature.	**Interaction HTT-CSE= contrôle** Pas d'effet de la mutation sur l'interaction HTT-CSE ? Inverse de ce qui a été montré par Paul et al., 2022. Diminution de l'activité moins marquée mais présente : accumulation cystathionine (Patient S14 (RAS) présente le taux de cystathionine le plus faible entre tous les statut biochimique)	**++ Interaction HTT-CSE** : Interaction en lien avec la N-HCY de la HTT. Pas encore montré dans la littérature Diminution de l'activité de la CSE Accumulation +++ de cystathionine = défaut d'utilisation par la CSE (Paul et al., 2022)
- - Interaction HTT-SP1 : Interaction diminuée par la N-HCY de la HTT. Pas encore montré dans la littérature.	**++ Interaction HTT-SP1** Effet de la mutation, Résultat conforme à la littérature. (Sbodio et al., 2019, Paul et al ;, 2022)	**Interaction HTT-SP1= contrôle** Déplacement de l'action de la mutation ? La N-HCY de la HTT ne permet plus la liaison à SP1 ? Pas encore montré dans la littérature.
++ expression ARNm CBS, CSE et SP1 par rapports aux contrôles En lien avec homocystéine et induction du stress oxydant qui augmente expression acteurs de la voie de la transsulfuration (Jakubowski, 2019 ; Murphy et al., 2019 ; Sbodio et al., 2019)	**Augmentation d'expression ARNm CSE et CBS par rapport aux contrôles**. Inverse à la littérature pour CSE (Sbodio 2016 et Paul 2022) Conforme aux données du protéome	**++ expression ARNm CBS et CSE par rapport aux contrôles** Conforme avec diminution interaction HTT-SP1 Conforme au protéome Tentative de réponse supplémentaire au stress oxydant induit par l'HCY ?

En conclusion, nos résultats démontrent que l'altération du métabolisme des monocarbones (MMC) constitue un facteur clé de la physiopathologie de la maladie de Huntington. Les troubles du MMC, l'HHCY associée, et la N-HCY de la HTT, entraînent une cascade de dysfonctionnements moléculaires potentialisant les effets de la mHTT : une dysfonction mitochondriale progressive et globale, ainsi qu'une activation incomplète de la voie de la transsulfuration, avec accumulation de cystathionine et déficit en cystéine/glutathion majorant le stress oxydant. Ces altérations se traduisent au niveau cellulaire par une augmentation des agrégats protéiques et une perturbation des interactions de la HTT avec des régulateurs clés tels que SP1 et CBS/CSE, expliquant notamment les anomalies spécifiques de la voie de la transsulfuration.

Certaines de nos données sur les conséquences de la mutation de la HTT dans la régulation de la voie de la transsulfurration contredisent celles de la littérature (Paul et al. 2014a; Sbodio et al. 2016, 2019b; Paul et al. 2022a). Par exemple, nous ne retrouvons pas de diminution ou de perte d'expression de la CSE ni d'augmentation de son interaction avec mHTT en dehors du contexte HHCY. Inversement, nos données semblent montrer que l'expression des acteurs de la voie de la transsulfuration, CBS et CSE, est fortement augmentée quel que soit le statut biochimique tandis que l'interaction HTT-CSE est uniquement perturbée en contexte HHCY. L'équipe de Sbodio et collaborateur ont principalement utilisé des modèles murins *in vitro* (cellules Q111) et *in vivo* (*HdhQ111* et Q175) avec l'avantage cependant de travailler sur des neurones. Nos résultats obtenus chez l'Homme, peuvent être corrélés au statut neurologique et biochimique du patient, et sont robustes car basés sur l'analyse de 32 lignées de patients en métabolome et protéome et sur 6 lignées par groupe de patients pour l'analyse de la voie de la transsulfuration. L'obtention de cellules iPSCs à partir des lignées de fibroblastes et leur différentiation en MSN dopaminergique permettrait d'avoir un modèle neuronal tout en gardant la spécificité génétique de chaque patient et constituerait un modèle pertinent pour confirmer nos résultats.

Ainsi, dans le contexte de la MH, les anomalies du MMC ne se limitent pas à une simple perturbation métabolique : elles semblent amplifier la toxicité de la HTT mutée, favorisent l'agrégation protéique et contribuent directement à la variabilité phénotypique ainsi qu'à la progression de la maladie. La N-HCY des protéines est une modification post-traductionnelle produisant des homocystamides dont la nature chimique par elle-même est pro-oxydante (Hieronim Jakubowski 2019).

De nombreuses protéines peuvent être N-HCY en condition *H*HCY, participer ainsi au stress oxydant et aux dommages cellulaires par la perte de leur fonction. Ces résultats soulignent l'importance du MMC comme levier potentiel de modulation thérapeutique et source de nouvelles pistes de biomarqueurs, tout en fournissant un cadre solide pour comprendre les conséquences moléculaires et cellulaires d'une altération métabolique spécifique à la MH (**Figure 92**).

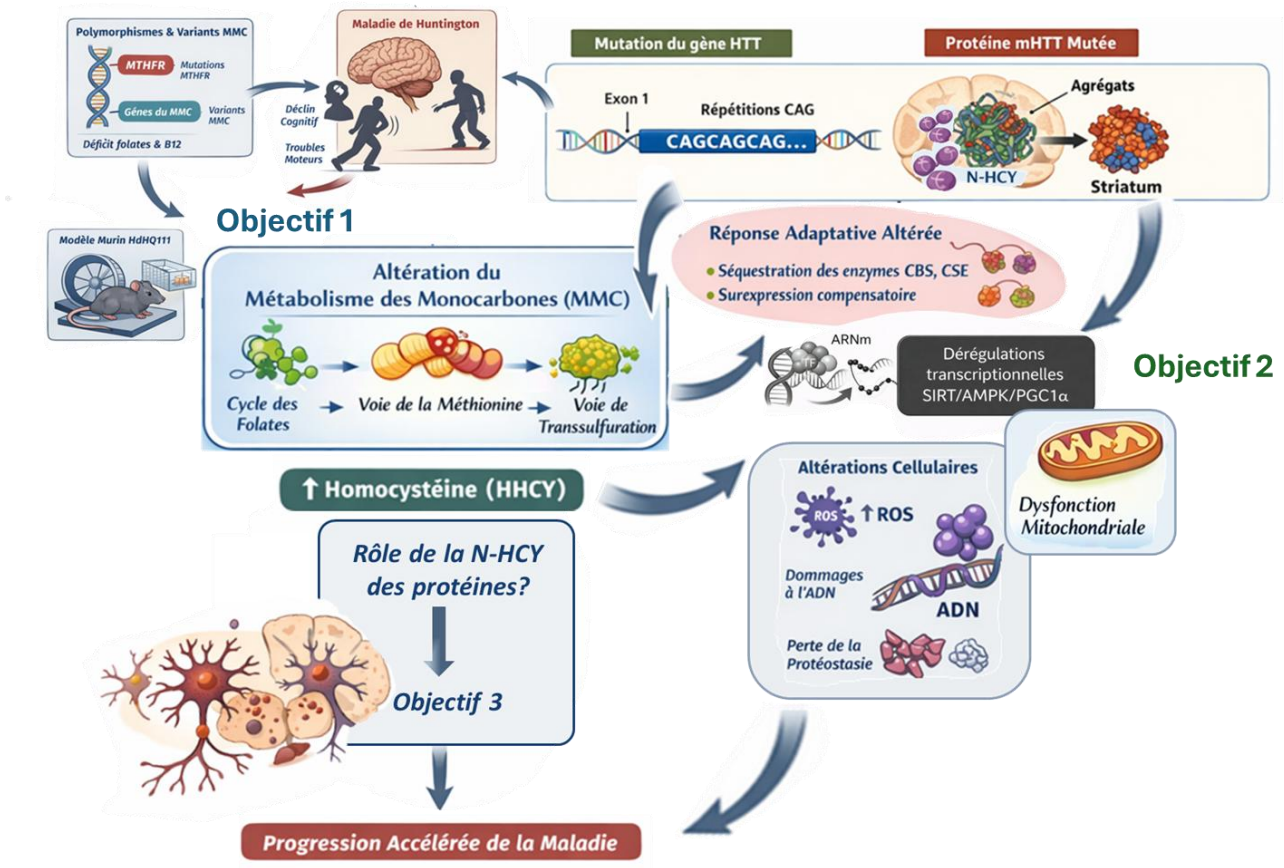


Figure 92 : Schéma synthétique des mécanismes proposés reliant la dérégulation du MMC à la progression de la MH. *La mutation du gène HTT conduit à la production de la mHTT, sujette à l'agrégation. En parallèle, des facteurs génétiques (ex. polymorphismes de MTHFR) et environnementaux (carences en vitamines B6/B9/B12) induisent une altération du MMC, entraînant une H*HCY. *L'augmentation de l'homocystéine favorise la formation d'homocystéine thiolactone, responsable de la N-*HCY *des protéines, notamment de la HTT. Cette modification post-traductionnelle potentialise l'agrégation de la mHTT et modifie ses interactions avec les enzymes de la voie de la transsulfuration (CBS, CSE) ainsi qu'avec des régulateurs transcriptionnels tels que SP1. En réponse, une activation compensatoire de la voie de la transsulfuration est observée (surexpression de CBS et CSE), mais celle-ci reste inefficace, conduisant à un déséquilibre redox caractérisé par une accumulation de cystathionine et un déficit en cystéine et glutathion. Ces altérations s'accompagnent d'une augmentation du stress oxydant (ROS), de dommages à l'ADN, d'une perte de protéostasie et d'une dysfonction mitochondriale, impliquant notamment des dérégulations transcriptionnelles (SIRT1/AMPK/PGC1α). L'ensemble de ces mécanismes converge vers une amplification des processus neurodégénératifs et contribue à la progression accélérée de la maladie, ainsi qu'à la variabilité clinique observée entre les patients.*

VII- Matériels et Méthodes

A- Protéostat®

La détection des agrégats protéiques a été réalisée à l'aide du kit PROTEOSTAT® Aggregasome Detection (Enzo Life Sciences, réf. ENZ-51035-K100)(**Fiche 6 : Analyses des agrégats cellulaires – Proteostat ®**).

Les cellules ont été ensemencées à une densité de 2 × 10^4 cellules/mL dans des chambres LabTek® à 8 puits (Thermo Fisher Scientific, Rochester, NY, USA ; réf. 154941). Deux témoins biologiques ont été réalisés à partir de fibroblastes humains néonataux (HDFn) : un témoin négatif non traité et un témoin positif traité avec 100 µM de MG-132, un inhibiteur du protéasome, afin d'induire l'accumulation d'agrégats protéiques. Les cellules ont été fixées au paraformaldéhyde (PFA) à 4 %, perméabilisées avec une solution de Triton X-100 à 0,01 %, puis bloquées dans une solution contenant 5 % de BSA et 5 % de sérum de veau fœtal (SVF). Une immunocytofluorescence dirigée contre l'homocystéine (HCY) a ensuite été réalisée, avant la détection des agrégats protéiques à l'aide du kit PROTEOSTAT®, selon les recommandations du fournisseur.

Après montage et séchage des lames, les acquisitions ont été réalisées par microscopie confocale à l'aide d'un microscope Nikon Eclipse C2, au grossissement ×60. L'ensemble des images a été analysé à l'aide du logiciel Matlab associé à l'outil Blobfinder (Freeware, The Center for Image Analysis, Université d'Uppsala, Suède).

B- Immunocytochimie

Dans cette étude, les anticorps primaires utilisés étaient dirigés contre la HTT (MAB2166, Merk Millipore, dilution 1/200) et contre l'homocystéine (AP02035SU-N, CliniSciences, dilution 1/750). Les anticorps secondaires étaient Alexa Fluor 488 anti-mouse (Ab150109, Abcam, dilution 1/1000, signal vert) et Alexa Fluor 594 anti-rabbit (Ab150062, Abcam, dilution 1/1000, signal rouge) (**Fiche 4 : Immunocytochimie**).

Les fibroblastes ont été ensemencés à 4 × 10^4 cellules/mL dans des LabTek® 8 puits (Thermo Fisher Scientific, ref. 154941). Les cellules ont été fixées au paraformaldéhyde (PFA) 4 %, perméabilisées avec du Triton X-100 0,01 % et bloquées avec une solution de BSA (Bovine Serum Albumin) 1 %. La coloration des noyaux a été effectuée au DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole, dilution 1/3000 dans eau ultrapure). Le montage des lames a été réalisé à l'aide du Fluoromount-GTM (Invitrogen, ref. 00-4958-02). Les images ont été acquises en microscopie confocale (Nikon Eclipse C2) avec un grossissement ×60.

C- Duolink®

Pour les expériences, les fibroblastes ont été ensemencés à 2 × 10^4 cellules/mL dans des LabTek® 8 puits (Thermo Fisher Scientific, ref. 154941) (**Fiche 5 : Proximity Ligation Assay (PLA) – Duolink ®**). Huit puits ont été ensemencés avec des HDFn (fibroblastes néonataux humains) : quatre puits ont servi de témoins expérimentaux (deux témoins biologiques négatifs et deux témoins positifs traités avec 100 µM d'homocystéine). Le PLA a été réalisé à l'aide du kit Duolink® (Sigma-Aldrich, Ref : DUO92004/DUO92002) conformément aux recommandations du fabricant. Les cellules ont été fixées au paraformaldéhyde (PFA 4 %), perméabilisées avec Triton X-100 0,01 % et bloquées avec la solution de blocage fournie dans le kit. Les anticorps primaires utilisés étaient dirigés contre la HTT (MAB2166, Merk Millipore, dilution 1/200) et contre l'homocystéine (AP02035SU-N, CliniSciences, dilution 1/750). Les étapes de ligation et d'amplification ont été réalisées selon le protocole Duolink® In Situ Detection Reagents Orange (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France). Les noyaux ont été marqués au DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole). Après montage et séchage, les images ont été acquises en microscopie confocale en MaxIP et analysées à l'aide du logiciel Matlab/Blobfinder (Freeware, The Center for Image Analysis, Université d'Uppsala, Suède).

D- Microscopie

Les images d'immunocytochimie ont été acquises à l'aide d'un microscope confocal Nikon Eclipse C2, piloté par le logiciel NIS-Elements, à un grossissement ×60 avec immersion à l'huile. Les acquisitions ont été réalisées avec une vitesse de balayage de ¼ d'image par seconde, une résolution de 2048 × 2048 pixels et une calibration spatiale de 0,03 µm/pixel.

Des stacks en profondeur ont été acquis pour chaque champ, puis projetés en maximum d'intensité (Maximal Intensity Projection, MaxIP) afin d'améliorer la qualité du signal et d'assurer la reproductibilité des analyses quantitatives. Cinq projections MaxIP ont été réalisées par puits et utilisées pour les analyses ultérieures.

E- RT-qPCR

L'extraction des ARN totaux à partir des culots cellulaires a été réalisée à l'aide du kit NucleoSpin® RNA Plus (Macherey-Nagel, Hoerdt, France ; réf. 740984.50), conformément aux recommandations du fournisseur (**Fiche 7 : RT-qPCR**). L'ensemble des étapes a été effectué à température ambiante. La quantité et la pureté des ARN ont été évaluées par mesure de l'absorbance à 230 nm, 260 nm et 280 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific). L'intégrité des ARN a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose, suivie d'une acquisition d'image à l'aide d'un système de trans-illumination (E-Box-CX5.TS-Edge, Vilber, Collégien, France ; réf. 20200179). La rétrotranscription (RT) des ARN en ADN complémentaire (ADNc) a été réalisée à l'aide du kit PrimeScript™ RT Master Mix (Takara, Saint-Quentin-en-Yvelines, France ; réf. RR036B), selon les instructions du fabricant. La PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR) a été effectuée à l'aide du kit TB Green™ Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus) (Takara, Saint-Quentin-en-Yvelines, France ; réf. RR820B), conformément aux recommandations du fournisseur. Les gènes IPO8 et TBP ont été utilisés comme gènes de référence pour la normalisation des données. Chaque échantillon a été analysé en triplicat technique pour chaque gène étudié. Les amplifications ont été réalisées à l'aide d'un thermocycleur CFX Connect (Bio-Rad, Hercules, CA, États-Unis), et les analyses ont été conduites à l'aide du logiciel Bio-Rad CFX Maestro. L'expression relative des gènes a été déterminée selon la méthode ΔΔCq.

F- Protéomique

L'étude protéomique a été réalisée par la plateforme ProFi (Strasbourg Grand Est) sur des fibroblastes issus de patients ainsi que sur des cortex murins provenant de notre modèle animal (**Fiche 2 : Étude protéique (Plateforme ProFi – Strasbourg)**. L'extraction des protéines a été effectuée à l'aide d'un tampon RIPA, suivie d'un dosage protéique par la méthode BCA, avec une concentration minimale requise de 1 µg/µL. Après réception des échantillons par la plateforme, les protéines ont été digérées enzymatiquement, puis préparées selon la méthode SP3 (Single-Pot Solid Phase-enhanced Sample Preparation). Les échantillons ont ensuite été analysés par nanoLC-MS/MS.

L'identification et la quantification des protéines ont été réalisées à l'aide du logiciel DIA-NN (version 2.2.0 Academia). Pour l'analyse des échantillons humains, la base de données UniProtKB/Swiss-Prot a été utilisée, comprenant 20 299 entrées humaines (version du 10 avril 2025). Les identifications ont été validées en appliquant un taux de fausses découvertes (FDR) inférieur à 1 % aux niveaux peptidique et protéique. L'analyse différentielle des protéines a été réalisée à l'aide du logiciel open-source ProStaR (version 1.36.2). Seules les protéines quantifiées dans au moins 80 % des échantillons d'une même condition ont été conservées pour l'analyse. Les intensités ont été transformées en $\log_2$, normalisées, puis les valeurs manquantes ont été imputées. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test t de Limma, et les valeurs de p ont été ajustées selon la méthode de Benjamini–Hochberg afin de contrôler le taux de fausses découvertes (FDR).

G- Analyses Statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées via le logiciel GraphPad. La normalité et l'égalité des variances, ont d'abord été vérifiées (Test de Shapiro-Wilk). Pour comparer 3 groupes biologiques ou plus, dans le cas d'un test paramétrique, une ANOVA est réalisée, à un ou deux facteurs en fonction de l'expérience. Si la p-value est inférieure à 0,05, alors un test de comparaison multiple est réalisé grâce au test de Tukey. Dans le cas d'un test non paramétrique, un test de Kruskal-Wallis est réalisé. Si la p-value est inférieure à 0,05, alors un test de comparaison multiple est réalisé grâce au test de Dunn. Pour comparer 2 groupes biologiques, dans le cas d'un test paramétrique, un test t de Student est réalisé. Dans le cas d'un test non paramétrique, un test de Mann-Whitney est réalisé. Une différence sera considérée comme significative lorsque la p-value sera inférieure à 0,05.

Objectif 3 : Existe-il un profil spécifique de protéines N-HCY pouvant être utilisé pour le développement de nouveaux biomarqueurs ?

Dans la continuité de nos résultats mettant en évidence un rôle du MMC et de l'*H*HCY dans la physiopathologie de la maladie de Huntington, nous avons approfondi l'analyse en nous intéressant directement à la N-HCY des protéines. Plus précisément, nous avons exploré le profil global de N-HCY des protéines au sein de notre cohorte de patients et dans le modèle murin. Cette approche vise à dépasser l'étude ciblée de la N-HCY de la HTT pour évaluer l'ampleur de cette modification post-traductionnelle dans la MH. En effet, si la N-HCY de la HTT constitue un mécanisme clé susceptible d'amplifier sa toxicité, l'hyperhomocystéinémie chronique pourrait également affecter un ensemble plus large de protéines impliquées dans des processus cellulaires critiques, contribuant ainsi à la déstabilisation globale de l'homéostasie cellulaire.

Au-delà d'une simple description globale, cette stratégie permet d'explorer l'hypothèse selon laquelle certains profils de N-HCY pourraient être spécifiques d'un stade clinique (patients présymptomatiques versus symptomatiques) et/ou associés à un statut biochimique particulier, notamment en contexte d'hyperhomocystéinémie (*H*HCY). L'identification de signatures protéiques N-homocystéinylées différentielles pourrait ainsi contribuer à mieux comprendre la variabilité phénotypique observée dans la maladie de Huntington. Elle ouvre également des perspectives translationnelles majeures : ces protéines modifiées pourraient constituer de nouveaux biomarqueurs stratifiant les patients selon leur profil métabolique, voire représenter des cibles thérapeutiques potentielles visant à moduler la N-HCY ou ses conséquences fonctionnelles.

Cette cartographie des protéines N-HCY s'inscrit donc dans une démarche intégrative, reliant altération métabolique, modification post-traductionnelle et expression clinique, afin de mieux appréhender les mécanismes moléculaires sous-jacents à la progression de la maladie.

Afin de mener cette étude, nous avons de nouveau travaillé sur les fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD. La même analyse a été réalisée sur le cortex du modèle murin précédemment décrit. Ces échantillons permettent d'obtenir une vision globale des profils protéiques N-HCY chez les patients, tout en offrant un premier aperçu des altérations survenant au niveau cérébral à partir des échantillons corticaux murins. Cette étude a été menée en collaboration avec Christine Schaeffer, directrice technique de la Plateforme Protéomique Strasbourg Grand Est, au sein du Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique (LSMBO) de l'Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC).

I- Analyse du protéome N-homocystéinylé des fibroblastes des patients de la cohorte HO-HD

L'analyse protéomique a permis d'identifier 112 sites de N-HCY correspondant à 97 protéines distinctes, certaines présentant plusieurs sites modifiés. 73 sites N-HCY ont été retenus pour réaliser une analyse différentielle et statistique de l'abondance des peptides N-HCY afin de comparer leur niveau de modification entre les différents groupes de la cohorte (**Figure 93**).

Comme précédemment, nous avons d'abord comparé l'ensemble des patients atteints de la maladie de Huntington (présymptomatiques et symptomatiques) aux contrôles, afin d'évaluer l'impact global de la N-HCY indépendamment des sous-groupes cliniques. 23 sites correspondant à 20 protéines ont été retrouvés statistiquement modifiés. Dans le groupe MH, 16 sites correspondant à 14 protéines étaient significativement plus N-HCY que chez les contrôles (**Figure 93-B**). Parmi celles-ci, nous avons retrouvé la DST, la protéine ANHAK, la TFRC, les MAP kinases MAP4K5 et MAP3K4 ainsi que l'ACSF3. La DST (Dystonine) et l'ANHAK (Neuroblast differentiation-associated protein) sont les protéines les plus statistiquement modifiées (FC=+ 3,86 ; p= $1{,}55E^{-25}$ et FC=+2,66 ; p= $7.94E^{-15}$ respectivement).

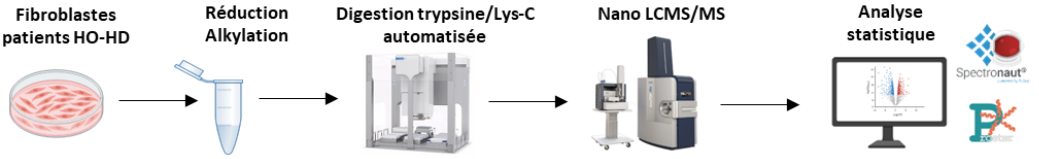
La DST et l'ANHAK sont des protéines organisatrices du cytosquelette neuronal (Sundararaj et al. 2021; Fortugno et al. 2019). TFRC est le récepteur de la transferrine, ce qui en fait un marqueur clé de l'homéostasie du fer cellulaire puisque cette protéine médie l'endocytose de la transferrine chargée en fer et constitue donc la porte d'entrée principale du fer dans la cellule. De plus, le fer est lié au métabolisme mitochondrial car ce dernier est utilisé pour synthétiser les centres Fe-S, cofacteurs indispensables de la chaîne respiratoire (Li et al. 2020; Gammella et al. 2017). MAP3K4 et MAP4K5 sont deux kinases en amont de la voie JNK/p38 (S. K. Singh et al. 2023; Perry et al. 2022).

Ces MAP3K/4K intègrent des signaux de stress oxydant, inflammatoire et métabolique et conditionnent l'activation soutenue des MAPK de stress JNK et p38, connues pour réguler à la fois l'homéostasie énergétique, la signalisation insulinique, la réponse au stress mitochondrial et les décisions survie/apoptose (Gehart et al. 2010; Ng et al. 2024).

L'ACSF3 (Malonate--CoA ligase ACSF3, mitochondrial). Cette enzyme associe le malonate au coenzyme A dans la mitochondrie, empêchant l'effet inhibiteur du malonate sur la succinate déshydrogénase au niveau du cycle de Krebs et du complexe II de la chaine respiratoire (Bowman et Wolfgang 2019). Ces résultats confirment l'augmentation significative de la N-HCY des protéines chez les patients MH, déjà suggérée par l'analyse ciblée en Duolink de la N-HCY de la HTT. Ils confortent également notre hypothèse initiale selon laquelle la N-HCY ne se limite pas à la HTT mais affecte un ensemble plus large de protéines dans la MH, ce qui implique le dysfonctionnement de réponses physiologiques déjà connu dans la MH, tel qu'un défaut de l'organisation du cytosquelette, de l'homéostasie mitochondriale ou du stress oxydant.

En comparant séparément les patients présymptomatiques aux contrôles, nous avons observé que sur les 73 sites retenus, 5 sites, correspondant à 5 protéines, sont significativement différents pour cette comparaison avec 3 protéines différentiellement N-HCY chez les présymptomatiques (**Figure 93-B**). L'ATP6V1E1, est la sous-unité E1 du domaine V1 de la V-ATPase, une pompe à protons qui acidifie les compartiments intracellulaires tel que les endosomes ou les lysosomes. Elle est donc notamment indispensable au trafic vésiculaire et à la dégradation protéique (Damme et al. 2017; Q. Song et al. 2020). Nous avons aussi montré la N-HCY de CDK1, une kinase du cycle cellulaire indispensable pour l'entrée en mitose et la progression en phase G2/M (Massacci et al. 2023). Enfin, AKAP13n est également N-HCY, cette protéine est l'échafaudage d'ancrage de la PKA qui participe à l'organisation locale des signaux Rho-GTPase et de remodelage du cytosquelette (Massacci et al. 2023).

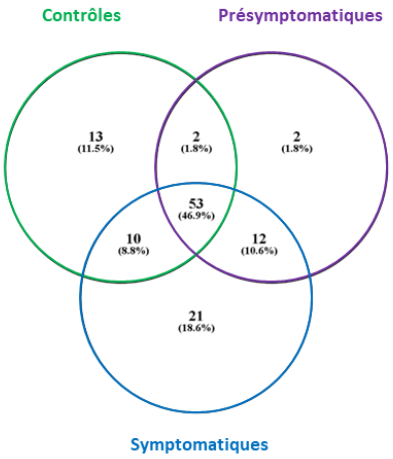
A



B

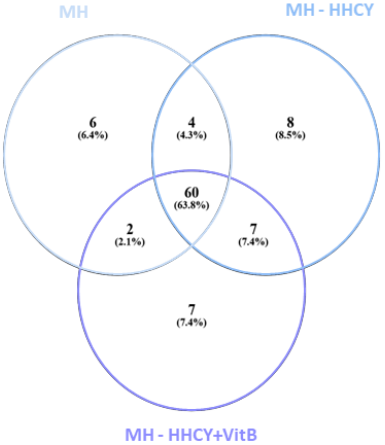
Comparaison	Nombre de sites N-HCY	Nombre de protéines associées	pvalue	Sites spécifiques Groupe 1	Sites spécifiques Groupe 2
Contrôles VS **Huntington**	73	23	0,005	7 (Contrôles)	16 (Huntington)
Contrôles VS **Présymptomatiques**	73	5	0,001	2 (Contrôles)	3 (Symptomatiques)
Contrôles VS **Symptomatiques**	73	21	0,003	6 (Contrôles)	15 (Symptomatiques)
Présymptomatiques VS **Symptomatiques**	73	15	0,003	1 (Présymptomatiques)	14 (Symptomatiques)

C



Statut clinique	Gène	Protéine
Contrôles	TBCA	Tubulin-specific chaperone A
	IL31	Interleukin-31
	ABHD12	Lysophosphatidylserine lipase ABHD12
	AHCY	Adenosylhomocysteinase
	MMP3	Stromelysin-1
	PDIA5	Protein disulfide-isomerase A5
	GYS1	Glycogen [starch] synthase, muscle
	DHX15	ATP-dependent RNA helicase DHX15
	OAS3	2'-5'-oligoadenylate synthase 3
	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
	KIF4A	Chromosome-associated kinesin KIF4A
	RAPGEF6	Rap guanine nucleotide exchange factor 6
	MTOR	Serine/threonine-protein kinase mTOR
Présymptomatiques	MTPAP	Poly(A) RNA polymerase, mitochondrial
	CORO1C	Coronin-1C
Symptomatiques	LDHA	L-lactate dehydrogenase A chain
	TFRC	Transferrin receptor protein 1
	HSPA5	Endoplasmic reticulum chaperone BiP
	MYH9	Myosin-9
	ARCN1	Coatomer subunit delta
	VASP	Vasodilator-stimulated phosphoprotein
	DAB2	Disabled homolog 2
	AMPD2	AMP deaminase 2
	PPP3CA	Protein phosphatase 3 catalytic subunit alpha
	STX3	Syntaxin-3
	CAMK2D	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit delta
	SPTAN1	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1
	EIF2B1	Translation initiation factor eIF2B subunit alpha
	RBM15B	Putative RNA-binding protein 15B
	COQ8A	Atypical kinase COQ8A, mitochondrial
	PALLD	Palladin
	TBC1D31	TBC1 domain family member 31
	NT5DC2	5'-nucleotidase domain-containing protein 2
	RDH14	Retinol dehydrogenase 14
	EPS15L1	Epidermal growth factor receptor substrate 15-like 1
	TLN1	Talin-1

D



Statut clinique	Gène	Protéine
MH	LDHA	L-lactate dehydrogenase A chain
	HSPA5	Endoplasmic reticulum chaperone BiP
	PPP3CA	Protein phosphatase 3 catalytic subunit alpha
	PALLD	Palladin
	NT5DC2	5'-nucleotidase domain-containing protein 2
	TLN1	Talin-1
MH-HHCY	MYH9	Myosin-9
	ARCN1	Coatomer subunit delta
	DAB2	Disabled homolog 2
	EIF2B1	Translation initiation factor eIF2B subunit alpha
	PUM1	Pumilio homolog 1
	PUM1	Pumilio homolog 1
	ZNF423	Zinc finger protein 423
	COQ8A	Atypical kinase COQ8A, mitochondrial
MH-HHCY+VitB	VASP	Vasodilator-stimulated phosphoprotein
	STX3	Syntaxin-3
	SPTAN1	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1
	PBXIP1	Pre-B-cell leukemia transcription factor-interacting protein 1
	TBC1D31	TBC1 domain family member 31
	PLIN2	Perilipin-2
	RDH14	Retinol dehydrogenase 14

Figure 93 : Analyse différentielle et profils spécifiques de N-homocystéinylation dans les fibroblastes de la cohorte HO-HD selon le statut clinique et biochimique. *(A) Schéma de la méthode utilisée pour étudier la N-homocystéinylation (N-*HCY*) dans les fibroblastes des patients. (B) Tableau récapitulatif des comparaisons cliniques : pour chaque contraste (Contrôles vs Huntington, Contrôles vs Présymptomatiques, Contrôles vs Symptomatiques, Présymptomatiques vs Symptomatiques), sont indiqués le nombre total de sites N-*HCY *identifiés, le nombre de sites différentiels, la valeur de p et le nombre de sites spécifiques à chaque groupe, révélant une augmentation progressive de la N-*HCY *au stade symptomatique. (C) Diagramme de Venn et tableau associé : distribution des protéines N-*HCY *partagées ou spécifiques selon le statut clinique. Treize protéines sont spécifiques aux contrôles, deux aux présymptomatiques et vingt-et-une aux symptomatiques. Douze protéines sont communes aux deux sous-groupes cliniques et constituent des candidats pour le suivi longitudinal de la progression. (D) Diagramme de Venn et tableau associé : distribution des protéines N-*HCY *selon le statut biochimique des patients symptomatiques (MH, MH-H*HCY*, MH-H*HCY*+VitB). Six protéines sont spécifiques aux patients sans anomalies biochimiques, huit aux patients H*HCY *et sept aux patients H*HCY *avec carence en vitamine B6. Dans l'ensemble, cette figure met en évidence (i) une augmentation quantitative de la N-*HCY *au stade symptomatique et (ii) l'existence de signatures protéiques spécifiques ou partiellement partagées selon le statut clinique et métabolique, suggérant leur potentiel comme biomarqueurs de progression ou de stratification biologique dans la maladie de Huntington.*

En revanche, en comparant les patients symptomatiques aux contrôles nous avons observé que sur les 73 sites retenus, 21 sites, correspondant à 19 protéines sont significativement différents. Sur ces 21 sites 15 sites, soit 71% des sites, correspondants à 13 protéines sont statistiquement plus N-HCY chez les patients symptomatiques (**Figure 93-B**). On retrouve parmi ces protéines en première et deuxième position la DST et l'AHNAK, ainsi que d'autres protéines précédemment décrites (MAP3K4 et MAP4K5, TFRC et ACSF3) mais également l'AMPD2 (Adénosine monophosphate désaminase 2) qui intervient dans la régulation du métabolisme de l'adénosine, des glucides et des lipides (Haiyan Yang et al. 2023).

La comparaison du niveau de N-HCY des protéines entre les patients présymptomatiques et symptomatiques met en évidence 15 sites statistiquement N-HCY de manière différentielle. 1 seul site (PTPN11) est plus N-HCY chez les patients présymptomatiques et 14 sites, correspondants à 13 protéines sont plus N-HCY chez les patients symptomatiques. Parmi les protéines les plus modifiées chez les patients symptomatiques on retrouve en premier MAP4K5 puis SRPRB (Signal recognition particle receptor subunit beta) une protéine qui permet l'ancrage de la SRP (Signal recognition particle) dans la membrane du RE. La SRP est nécessaire pour l'adressage des ribosomes natifs au RE (Pool et al. 2002). Plusieurs protéines impliquées dans la régulation de processus cellulaires majeurs sont aussi modifiées. Ces altérations concernent notamment des protéines du cytosquelette (TPX2, AHNAK, TPM4, GOLGA3, TBC1D31), du système autophagie-lysosome (VAT1, SPG11), ainsi que des acteurs du métabolisme énergétique (AMPD2, TFRC, ACSF3).

Ces observations mettent en avant, l'impact du statut clinique sur la N-HCY puisque les patients symptomatiques présentent une augmentation statistiquement très importante du niveau de N-HCY des protéines par rapport aux patients présymptomatiques.

En revanche, la comparaison en fonction du statut biochimique des patients symptomatiques (RAS, *H*HCY et *H*HCY-B6) n'a pas mis en évidence de différences statistiquement significatives. Cette absence de résultat pourrait s'expliquer par le faible effectif de chaque sous-groupe, ainsi que par l'importante hétérogénéité interindividuelle déjà observée pour la N-HCY de la HTT.

Nous nous sommes ensuite interrogés sur l'existence éventuelle de protéines spécifiquement et non pas différentiellement N-HCY en fonction du stade clinique (présymptomatique versus symptomatique) et/ou du statut biochimique des patients. L'identification de protéines modifiées exclusivement dans un sous-groupe, et absentes dans un autre, permettrait en effet d'envisager l'élaboration de biomarqueurs associés à la progression clinique de la MH ou à l'impact du statut métabolique.

Parmi les 73 sites N-HCY identifiés, deux protéines sont spécifiquement N-HCY chez les patients présymptomatiques, dont la polymérase mitochondriale MTPAP, responsable de la polyadénylation des ARN mitochondriaux et la coronine-1C, protéine régulatrice du cytosquelette d'actine. Chez les patients symptomatiques, vingt-et-une protéine présentent des sites N-HCY spécifiques de ce stade clinique, dont l'HSPA5 (BIP), protéine chaperonne majeure du RE et un marqueur clé du stress du réticulum endoplasmique (UPR) (**Figure 93-C**). La PPP3CA, ou calcineurine A, est une phosphatase sérine/thréonine dépendante du calcium qui joue un rôle clé dans la régulation de la plasticité synaptique et la survie neuronale en modulant la phosphorylation de nombreuses protéines impliquées dans la transmission synaptique et l'excitabilité neuronale. Elle agit notamment comme une régulatrice majeure des récepteurs glutamatergiques et d'autres protéines essentielles à la plasticité synaptique et à la mémoire (Baumgärtel et Mansuy 2012). De plus, PPP3CA est impliquée dans la synthèse de l'acide rétinoïque, un médiateur important de la plasticité synaptique homéostatique (Arendt et al. 2015). De nombreuse protéines du cytosquelette sont également spécifiquement N-HCY (SPTAN1, VASP, Syntaxin-3, Myosin-9, Palladin, Talin-1…).

Ces résultats mettent en avant une aggravation du statut de N-HCY des protéines avec la progression de la MH. Par ailleurs, douze protéines N-homocystéinylées sont communes aux patients présymptomatiques et symptomatiques. Ces protéines partagées pourraient constituer des candidats d'intérêt pour le développement de biomarqueurs permettant de suivre l'évolution de la maladie (**Figure 93-C**).

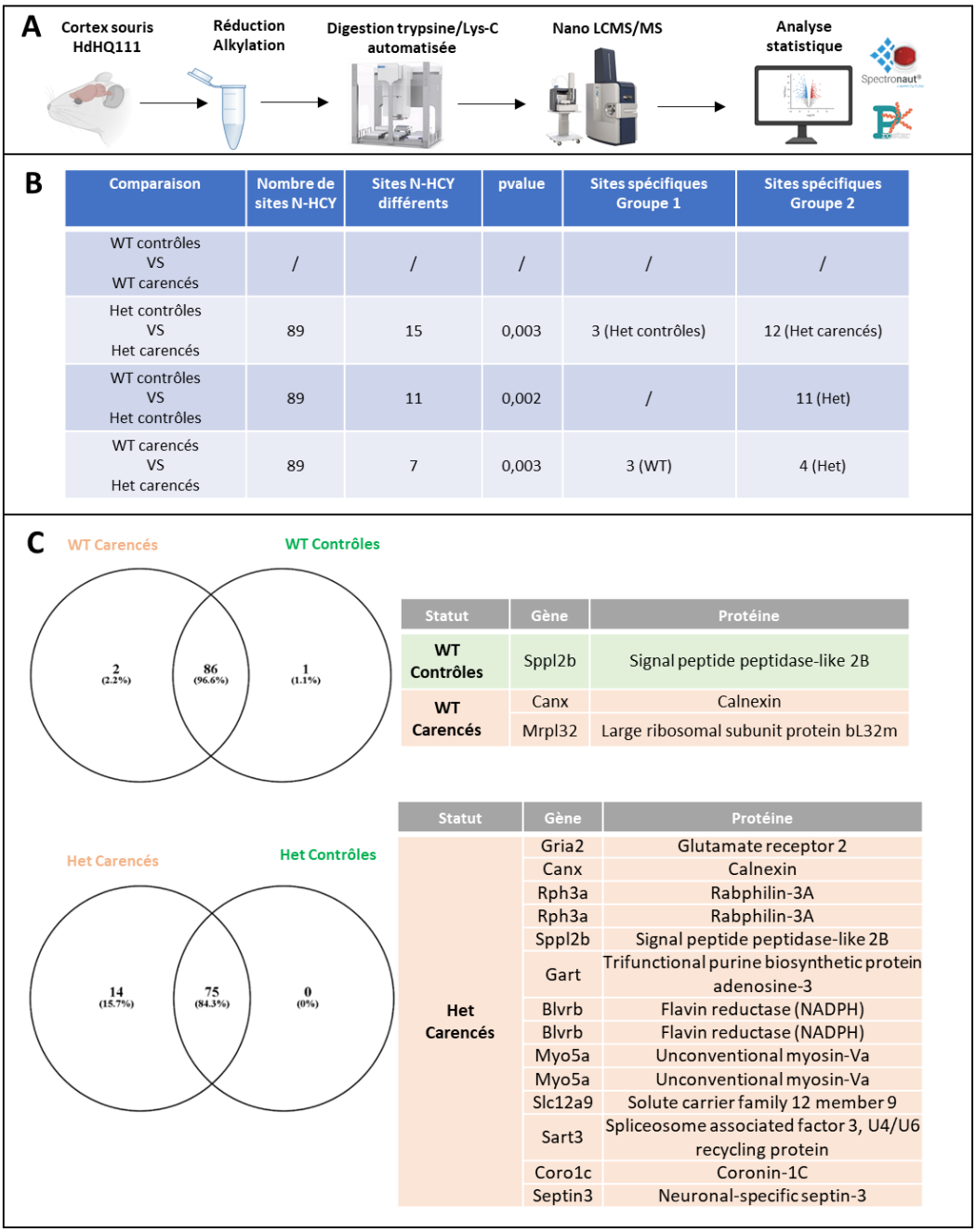
Ces résultats nous ont conduits à approfondir l'hypothèse d'un profil spécifique de N-HCY en fonction du statut biochimique des patients atteints de la MH (**Figure 93-D**). Nous avons ainsi réitéré l'analyse en stratifiant les patients selon leur statut métabolique. Les patients sans anomalies biochimiques (MH) montrent six protéines spécifiquement N-HCY, dont, à nouveau, la calcineurine A ainsi que l'HSPA5 (BIP). Cette protéine chaperonne de la famille des heat shock proteins (HSP), joue un rôle crucial dans le maintien de la protéostasie en participant au repliement correct des protéines et à la réponse UPR (C. Hu et al. 2022). Les patients présentant une *H*HCY isolée (MH-*H*HCY) montrent huit protéines spécifiquement N-HCY, dont EIF2B1, une sous-unité du complexe eIF2B, central dans la régulation de la traduction et la réponse intégrée au stress (ISR) (Garriga-Canut et al. 2012) ; PUM1 (pumilio 1), une protéine de régulation post-transcriptionnelle, impliquée dans la stabilité et la traduction des ARNm neuronaux. PUM1 joue un rôle crucial dans la neurogenèse, la survie et la différenciation des cellules neuronales (M. Zhang et al. 2017). Enfin, les patients présentant une double anomalie biochimique (*H*HCY associée à une carence en vitamine B6) possèdent également un profil protéique N-HCY spécifique, comprenant huit protéines. Parmi elles, la SPTAN1 (spectrine α1) est un composant essentiel du cytosquelette membranaire qui joue un rôle clé dans le maintien de l'intégrité neuronale et axonale, contribuant à la stabilité structurelle nécessaire au bon fonctionnement des neurones (Lorenzo et al. 2023a). VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) régule la dynamique de l'actine en favorisant l'assemblage des filaments d'actine dans les épines dendritiques, ce qui est crucial pour leur formation, leur morphologie et la plasticité synaptique. Ces mécanismes d'organisation du cytosquelette d'actine sont fondamentaux pour le développement neuronal, l'apprentissage et la mémoire (Lin et al. 2010).

Dans l'ensemble, l'analyse du protéome N-HCY met en évidence une augmentation significative de la N-HCY dans la MH, avec un nombre plus important de sites et de protéines modifiés chez les patients, en particulier au stade symptomatique. La comparaison du niveau de N-HCY entre présymptomatiques et symptomatiques suggère une progression quantitative de la N-HCY des protéines au cours de l'évolution clinique. Si l'analyse quantitative globale du niveau de N-HCY des protéines en fonction du statut biochimique ne révèle pas de différence statistiquement significative, la recherche de profils spécifiques montre néanmoins l'existence de protéines exclusivement N-HCY selon le stade clinique ou le statut métabolique. Certaines de ces protéines sont impliquées dans le métabolisme, l'organisation du cytosquelette ou dans des processus liés à la réponse au stress cellulaire et à la régulation neuronale. Ces résultats décrivent ainsi un paysage différentiel de N-HCY associé à la MH, modulé à la fois par le stade clinique et par le statut métabolique.

II- Analyse du protéome N-homocystéinylé des cortex des souris *HdhQ111*

Dans une démarche analogue à celle adoptée pour la cohorte HO-HD, cette approche exploratoire avait pour objectif de cartographier les modifications associées à la N-HCY dans un modèle murin de la MH présentant une *H*HCY, en s'appuyant cette fois sur l'analyse de tissus cérébraux. Ainsi, l'analyse protéomique a été réalisée sur le cortex de souris WT et hétérozygotes, soumises ou non à une carence en vitamines B9 et B12. Au total, 89 sites N-HCY correspondant à 81 protéines distinctes ont été identifiés (**Figure 94**).

La comparaison des animaux WT contrôles aux WT carencés n'a révélé aucune différence significative (**Figure 94-B**), indiquant l'absence d'effet notable de la carence en vitamines B9/B12 — et donc de l'hyperhomocystéinémie associée — chez les animaux sauvages. En revanche, chez les souris hétérozygotes, la carence a conduit à l'identification de 15 protéines différentiellement N-HCY, dont 12 présentaient une augmentation de la N-HCY dans le groupe hétérozygote carencé (**Figure 94-B**). Parmi celles-ci, figurent la flavine réductase (NADPH), identifiée avec deux sites N-HCY, enzyme impliquée dans les réactions de réduction NADPH-dépendantes et dans la régulation du statut redox (Haque et al. 2014); la septine 3, protéine neuronale jouant un rôle dans la formation et la stabilité des synapses (Ageta-Ishihara et al. 2025); ainsi que GRIA2, sous-unité GluA2 du récepteur AMPA au glutamate, acteur central de la plasticité synaptique (Hassan et al. 2019). Ces résultats mettent en évidence un impact combiné de la carence en vitamines B9/B12 et du génotype muté sur l'augmentation de la N-HCY des protéines au sein du cortex.



B

Comparaison	Nombre de sites N-HCY	Sites N-HCY différents	pvalue	Sites spécifiques Groupe 1	Sites spécifiques Groupe 2
WT contrôles VS WT carencés	/	/	/	/	/
Het contrôles VS Het carencés	89	15	0,003	3 (Het contrôles)	12 (Het carencés)
WT contrôles VS Het contrôles	89	11	0,002	/	11 (Het)
WT carencés VS Het carencés	89	7	0,003	3 (WT)	4 (Het)

C

Statut	Gène	Protéine
WT Contrôles	Sppl2b	Signal peptide peptidase-like 2B
WT Carencés	Canx	Calnexin
	Mrpl32	Large ribosomal subunit protein bL32m

Statut	Gène	Protéine
Het Carencés	Gria2	Glutamate receptor 2
	Canx	Calnexin
	Rph3a	Rabphilin-3A
	Rph3a	Rabphilin-3A
	Sppl2b	Signal peptide peptidase-like 2B
	Gart	Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3
	Blvrb	Flavin reductase (NADPH)
	Blvrb	Flavin reductase (NADPH)
	Myo5a	Unconventional myosin-Va
	Myo5a	Unconventional myosin-Va
	Slc12a9	Solute carrier family 12 member 9
	Sart3	Spliceosome associated factor 3, U4/U6 recycling protein
	Coro1c	Coronin-1C
	Septin3	Neuronal-specific septin-3

Figure 94 : Analyse différentielle et profils spécifiques de N-homocystéinylation dans les cortex du modèle murin HdhQ111 en fonction du génotype et de la carence. *Cette figure synthétise l'analyse différentielle du protéome N-HCY du cortex des souris HdhQ111 en fonction du génotype et de la carence. (A) Schématisation de la méthode utilisée pour étudier le protéome N-HCY. (B) Tableau récapitulatif des comparaisons. Le tableau présente, pour chaque comparaison, le nombre total de sites N-HCY identifiés, le nombre de sites différentiellement N-HCY, la valeur de p associée, ainsi que le nombre de sites spécifiques à chacun des groupes comparés. Ces analyses mettent en évidence une augmentation progressive de la N-HCY en fonction du génotype et de la carence. (C) Diagramme de Venn – Stratification selon le génotype et la carence, ainsi que le tableau des protéines associées. Représentation des protéines N-homocystéinylées partagées ou spécifiques entre WT contrôles et carencés, hétérozygotes contrôles et carencés. Deux protéines sont spécifiquement N-HCY chez les WT carencés, une protéine est spécifiquement N-HCY chez les WT contrôles. Quatorze protéines présentent des sites N-HCY exclusivement détectés chez les hétérozygotes carencés et aucune chez les hétérozygotes contrôles. Dans son ensemble, cette figure met en évidence (i) une augmentation quantitative de la N-homocystéinylation chez les hétérozygotes amplifiés par le régime carencé et (ii) l'existence de signatures protéiques spécifiques suggérant un potentiel intérêt en tant que biomarqueurs de progression et/ou de stratification biologique dans la maladie de Huntington.*

La comparaison des animaux WT et hétérozygotes contrôles a permis d'identifier 11 sites N-HCY correspondant à 6 protéines, toutes présentant une augmentation de la N-HCY chez les hétérozygotes (**Figure 94-B**). Parmi ces protéines figurent à nouveau la flavine réductase (NADPH) et GRIA2, mais également la myosine Va. Cette myosine est impliquée dans le transport des récepteurs NMDA vers les épines dendritiques hippocampiques (Gong et al. 2024), suggérant un impact potentiel du génotype sur les mécanismes de trafic synaptique. Par ailleurs, la Rabphilin-3A, protéine impliquée dans la régulation de l'exocytose des neurotransmetteurs, présente deux sites de N-HCY, ce qui indique une potentielle altération de la fonction synaptique (Abramian et al. 2024). Cependant, la protéine la plus différentiellement N-HCY est la SLC12A9 (Solute carrier family 12 member 9 ; FC = 9,44 et p = $1.564E^{-08}$), il s'agit d'une protéine lysosomale qui préserve l'homéostasie lysosomiale en contrôlant les niveaux d'ammonium et de chlorure (Levin-Konigsberg et al. 2025).

Enfin, la comparaison entre les animaux WT carencés et hétérozygotes carencés (**Figure 48, B**), permet d'évaluer l'effet combiné du génotype et du régime carencé. Cette analyse a mis en évidence sept protéines supplémentaires différentiellement N-HCY. Quatre étaient plus N-HCY chez les hétérozygotes carencés, dont GRIA3, sous-unité GluA3 des récepteurs AMPA (Pokharna et al., 2025) et CLIP1 (CAP-Gly domain-containing linker protein 1/ CLIP170) qui est une protéine d'amarrage de la dynactine aux microtubules pour le recrutement de la dynéine et divers cargos, favorisant l'initiation du transport rétrograde (Baldin et al. 2026), tandis que trois protéines étaient plus N-HCY chez les WT carencés, dont l'actine cytoplasmique 1.

Ces résultats nous ont encouragés à émettre l'hypothèse de l'existence d'un profil protéique N-HCY spécifique à chaque groupe. Ainsi, chez les WT contrôles, une seule protéine N-HCY est identifiée : la protéase intramembranaire SPPL2B. Cette protéine, localisée dans la membrane plasmique des neurones, est abondante dans l'hippocampe et le cortex, et intervient notamment dans la croissance neuronale, la plasticité synaptique et la neuroinflammation (Badman et al. 2025). Chez les WT carencés, deux protéines N-HCY ressortent de l'analyse : la calnexine et la sous-unité mitochondriale ribosomale bL32m.

Chez les hétérozygotes, aucune protéine N-HCY n'est spécifique aux animaux non-carencés. En revanche, 14 protéines sont identifiées chez les animaux carencés, dont Gria2, la septine 3, spécifiques des neurones et la coronine 1C également identifiée spécifiquement chez les patients présymptomatiques (**Figure 94-C**). Une protéine N-HCY est partagée par les WT carencés et les hétérozygotes carencés : il s'agit de la calnexine, une protéine chaperonne indispensable au repliement des protéines nouvellement synthétisées.

Pris dans leur globalité, les résultats de protéomique mettent en évidence un effet du génotype ainsi que de la carence sur la N-HCY des protéines.

La carence en vitamines B9/B12 et l'*H*HCY associée, n'induit pas de modifications significatives chez les animaux WT, mais entraîne, chez les hétérozygotes, une augmentation du nombre de protéines différentiellement N-HCY. De même, en condition non carencée, le génotype muté est associé à une augmentation de la N-HCY pour plusieurs protéines. L'effet combiné du génotype et du régime carencé renforce cette tendance. L'ensemble des comparaisons montre ainsi un impact du génotype MH sur le profil de N-HCY corticale, modulé par l'*H*HCY associée à la carence. Les hétérozygotes carencés présentent systématiquement le nombre le plus élevé de protéines N-HCY de manière différentielle ou spécifiques, soulignant une interaction entre altération génétique et statut métabolique.

Comme pour les résultats obtenus in vitro à partir de fibroblastes de patients, ces données de protéomique, cette fois obtenues à partir de tissus corticaux, suggèrent de nouveaux potentiels biomarqueurs dans la maladie de Huntington. Cependant, l'analyse du protéome global n'a pas fourni de résultats statistiquement exploitables, et l'analyse des protéines N-HCY n'a identifié que peu de protéines différentielles. De nouvelles analyses protéomiques sont prévues dans notre modèle murin, avec un plus grand nombre d'individus par groupe et l'étude de deux tissus différents : le cortex et le striatum.

III- Discussion

Plusieurs travaux ont cherché à caractériser la réactivité de l'homocystéine thiolactone (HTL) vis-à-vis des protéines. Cette réactivité dépend notamment du nombre de résidus lysine accessibles ainsi que du point isoélectrique des protéines cibles (G. S. Sharma et al. 2014). Il a été montré que les protéines de nature acide sont particulièrement sensibles aux altérations structurelles et fonctionnelles induites par l'HTL (M. Sharma et al. 2015a). Cette observation est particulièrement pertinente dans le contexte neuronal, puisque de nombreuses protéines du cytosquelette présentent un caractère acide, suggérant une vulnérabilité accrue à la N-homocystéinylation (N-HCY). En cohérence avec cette hypothèse, plusieurs protéines du cytosquelette, dont des filaments intermédiaires, la protéine Tau et l'actine, ont été identifiées comme N-HCY en situation d'hyperhomocystéinémie (Loureiro et al. 2009; Sontag et al. 2013).

Sur le plan mécanistique, la N-HCY induit des conséquences majeures sur la structure et la fonction des protéines. Elle peut entraîner l'inactivation de sites actifs enzymatiques, une perte de fonction et une augmentation de l'hydrophobicité favorisant l'agrégation. Elle est désormais considérée comme un mécanisme contribuant au développement des maladies neurodégénératives et des protéinopathies humaines (M. Sharma et al. 2015a; Herrmann et Obeid 2011; Skovronsky et al. 2006; Guéant et al. 2022). D'un point de vue conformationnel, la N-HCY favorise des réarrangements structuraux marqués, notamment une augmentation du contenu en feuillets β, facilitant la conversion amyloïdogène. Ce phénomène a été décrit pour de nombreuses protéines telles que la BSA, la caséine κ, l'insuline, Tau, MAP1 et la protéine prion (Paoli et al. 2010; Stroylova et al. 2012; Yousefi et al. 2012; Bossenmeyer-Pourié et al. 2019b; Witucki et Jakubowski 2023).

Dans la maladie de Huntington, la formation et la maturation des inclusions de mHTT constituent des processus complexes. Bien que l'agrégation soit initialement déclenchée par l'expansion polyQ, elle est fortement modulée par d'autres mécanismes cellulaires, notamment par des modifications post-traductionnelles (PTM) dérégulées qui augmentent la susceptibilité de la mHTT à l'agrégation (Schaffert et Carter 2020; Lontay et al. 2020). Parmi ces PTM figurent la phosphorylation, l'acétylation, l'ubiquitinylation, la SUMOylation, la palmitoylation et la myristoylation (Lontay et al. 2020). Dans ce contexte, la contribution potentielle de la N-HCY à la dynamique d'agrégation de la mHTT apparaissait comme une question particulièrement pertinente à laquelle nous avons répondu dans la deuxième partie de cette étude.

Cependant, selon les données de la littérature il paraissait évident que la HTT n'était pas la seule protéine N-HCY. Les objectifs de cette troisième partie étaient d'analyser ce protéome N-homocystéinylé dans les fibroblastes de patients MH ainsi que dans le modèle *HdhQ111* HHCY.

Nos résultats mettent en évidence une N-HCY de protéines appartenant à différents réseaux fonctionnels, tant dans les fibroblastes de patients que dans le cortex de souris *HdhQ111*. Il convient toutefois de rappeler que les matrices biologiques diffèrent, les fibroblastes cutanés ayant été utilisés chez les patients tandis que le cortex, une des régions cérébrales directement atteinte dans la maladie, a été étudié chez la souris. Malgré cette différence, les fibroblastes constituent un modèle reconnu pour l'étude des maladies neurodégénératives. Leur accessibilité, leur capacité à reproduire certaines altérations mitochondriales observées dans les neurones et la présence de dysfonctionnements similaires à ceux décrits dans les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Huntington et la SLA soutiennent leur pertinence expérimentale (Olesen et al. 2022). Les fibroblastes issus de patients reproduisent également des anomalies lysosomales et mitochondriales, offrant une plateforme robuste pour le criblage thérapeutique (Leite et al. 2025). Leur profil d'expression génique inclut des voies liées au stress cellulaire et à la neurodégénérescence, et leur conversion directe en neurones fonctionnels permet de conserver l'âge biologique du patient, un paramètre déterminant pour modéliser des pathologies à début tardif (M.-L. Liu et al. 2016; Sun et al. 2024).

Dans les deux modèles utilisés dans cette étude, la N-HCY concerne des protéines impliquées dans la transmission synaptique. Chez les patients symptomatiques, des protéines telles que PPP3CA, PUM1, SPTAN1 et STX3 sont modifiées, tandis que chez les souris hétérozygotes, les sous-unités Gria2 et Gria3 des récepteurs AMPA ainsi que la septine 3 sont principalement touchées. Bien que ces protéines ne soient pas toutes directement associées à la MH dans la littérature actuelle, leur altération pourrait amplifier les effets délétères liées à la mutation de la HTT, PPP3CA, qui code pour la calcineurine Aα, joue un rôle central dans le maintien de l'équilibre entre excitation et inhibition et dans la régulation des récepteurs glutamatergiques. Des mutations de cette protéine sont associées à des troubles neurodéveloppementaux sévères avec épilepsie (C. T. Myers et al. 2017), et son activité est essentielle à la stabilité des circuits neuronaux (Huang et al. 2022).

Les protéines Gria2 et Gria3 codent pour des sous-unités des récepteurs AMPA, déterminants majeurs de la transmission excitatrice rapide et de la plasticité synaptique. Des variants gain-de-fonction ont été associés à des troubles neurodéveloppementaux sévères (Sjøstrøm et al. 2025), et ces sous-unités sont impliquées dans plusieurs pathologies neurodégénératives, dont la MH, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer (Priyadarshini et al. 2025; Troshev et al. 2025). Par ailleurs, la HTT interagit avec de nombreuses protéines impliquées dans le trafic synaptique, et sa forme mutée perturbe l'exocytose, l'endocytose ainsi que le transport et le renouvellement des récepteurs GABAA, AMPA et NMDA (Yuen et al. 2012). La N-HCY des sous-unités AMPA, associée à celle de la myosine Va impliquée dans le transport des récepteurs NMDA vers les épines dendritiques (Gong et al. 2024), pourrait ainsi potentialiser les altérations glutamatergiques précoces et contribuer aux déficits cognitifs observés avant les atteintes motrices.

Au-delà des altérations synaptiques, la N-HCY touche des protéines impliquées dans l'organisation et la dynamique du cytosquelette. Chez les patients symptomatiques, RHOC, AHNAK et DST présentent une N-HCY accrue. RHOC, membre de la famille des GTPases Rho, régule la dynamique des filaments d'actine (Ridley 1995) et sa dérégulation est associée à plusieurs maladies neurodégénératives, dont la MH (Schmidt et al. 2022). Elle pourrait contribuer à la neurodégénérescence en modulant le stress oxydatif, l'inflammation et les dysfonctionnements mitochondriaux (V. Sharma et al. 2025). AHNAK et DST, bien que non directement reliées à la MH, participent respectivement à l'organisation du cytosquelette et à l'intégrité mécanique cellulaire. Leurs modifications par N-HCY sont parmi les plus importantes chez les patients symptomatiques et pourrait altérer la stabilité structurale et amplifier la vulnérabilité neuronale. Ainsi, des mutation et/ou des altérations fonctionnelles de la DST sont impliquées dans les axonopathies centrales, la dystonie, les neuropathies périphériques, l'ataxie, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Seehusen et al. 2016; Elliotson 1831; Sakaria et al. 2022). Il a été montré que la protéine ANHAK peut interagir avec la HTT pour l'organisation de l'architecture présynaptique, l'exocytose des vésicules et la modulation des canaux calciques. De plus, l'expression d'ANHAK est perturbée dans la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (E. Wang et al. 2025; Yao et al. 2014; Sundararaj et al. 2021; Feng et al. 2022).

La N-HCY concerne également des acteurs majeurs de la protéostasie. RBM28, impliquée dans la maturation de l'ARN ribosomique et donc dans la biogenèse ribosomique (Thibault et al. 2021), CBLB, ligase E3 ubiquitine participant au ciblage des protéines mal repliées vers le protéasome (Tang et al. 2023), et ETF1, facteur de terminaison de la traduction assurant la reconnaissance correcte des codons stop (Guo et al. 2023), sont modifiées dans nos modèles. A ceci s'ajoute la N-HCY de VAT1 et SPG11 impliquées dans le système autophagie-lysosome. L'altération de ces protéines pourrait perturber simultanément la synthèse, le contrôle qualité et la dégradation des protéines, exacerbant les défauts de protéostasie déjà décrits dans la MH. Les mutations du gène *SPG11* (spatacsin) sont responsables d'une forme sévère de paraplégie spastique héréditaire et à la sclérose latérale amyotrophique. La perte de fonction de SP11 est associée à une atteinte fonctionnelle du complexe lysosome-autophagosome, une atteinte du trafic du cholestérol et de l'homéostasie calcique dans le neurone (Boutry et al. 2019).

Les données confirment également l'implication du compartiment mitochondrial. ACSF3, enzyme clé de la synthèse du malonyl-CoA mitochondrial nécessaire à la mtFAS, est indispensable au maintien de la respiration mitochondriale et de la flexibilité métabolique. Sa déficience entraîne une diminution de la lipoylation mitochondriale et des altérations énergétiques significatives, comme démontré dans des fibroblastes de patients déficients (Tucci et al. 2021; Wehbe et al. 2019; Bowman et al. 2017). TFRC, en contrôlant l'importation du fer nécessaire aux complexes respiratoires, influence également la morphologie mitochondriale via des voies telles que JNK, et sa dysfonction peut induire un stress oxydatif mitochondrial (Senyilmaz et al. 2015; Klemmensen et al. 2024; Y. Liu et al. 2025). Bien qu'aucun lien direct avec la MH n'ait été établi, leur N-HCY pourrait contribuer aux déficits bioénergétiques caractéristiques de la pathologie.

Enfin, des protéines directement impliquées dans l'homéostasie rédox sont également N-HCY dans les deux modèles. La flavine réductase, enzyme NADPH-dépendante catalysant la réduction de multiples substrats, apparaît doublement N-HCY (Haque et al. 2014). Sa modification pourrait induire une perte de fonction et une agrégation, entraînant un déséquilibre rédox susceptible d'aggraver la neurodégénérescence par augmentation du stress oxydatif et diminution des capacités énergétiques neuronales (Tang et al. 2013).

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la N-HCY ne constitue pas un événement isolé mais un mécanisme transversal susceptible d'amplifier des vulnérabilités déjà présentes dans la maladie de Huntington. En ciblant simultanément les réseaux synaptiques, cytosquelettiques, protéostatiques, mitochondriaux et rédox, elle pourrait agir comme un facteur aggravant systémique contribuant à la progression de la neurodégénérescence.

Nos résultats montrent également qu'un profil protéique spécifiquement N-homocystéinylé peut être distingué en fonction du statut clinique et biochimique des patients. Cette observation suggère que la N-HCY ne constitue pas uniquement un phénomène diffus, mais pourrait refléter des états physiopathologiques distincts au cours de l'évolution de la maladie.

Chez les patients présymptomatiques, deux protéines apparaissent spécifiquement N-HCY : MTPAP et CORO1C. De plus, la N-HCY de la CORO1C a également était identifiée spécifiquement dans le cortex des souris *HdhQ111* hétérozygotes carencées. Cette signature précoce met en évidence, dès les stades antérieurs à l'expression clinique des symptômes, une atteinte du métabolisme mitochondrial et de la dynamique du cytosquelette d'actine. MTPAP (mitochondrial poly(A) polymerase) est une enzyme mitochondriale responsable de la polyadénylation des ARN mitochondriaux, un processus essentiel à la maturation et au maintien de l'intégrité des extrémités 3'. Cette modification conditionne la stabilité des ARN mitochondriaux et leur traduction, contribuant directement au maintien de la fonction mitochondriale. L'inactivation partielle de MTPAP entraîne un raccourcissement des queues poly(A), une diminution des ARNm mitochondriaux, une altération de la synthèse protéique mitochondriale ainsi qu'une perturbation du potentiel membranaire et de la respiration cellulaire (Pajak et al. 2019; Nagaike et al. 2005).

Par ailleurs, MTPAP interagit avec d'autres enzymes impliquées dans le métabolisme des ARN mitochondriaux, soulignant son rôle central dans la régulation coordonnée de la stabilité et du turnover des ARN mitochondriaux (Wang et al. 2014). Dans un contexte où la dysfonction mitochondriale constitue un mécanisme majeur de la maladie de Huntington (Jurcau 2022; A. Jiang et al. 2023), sa N-HCY pourrait refléter un déséquilibre bioénergétique précoce. CORO1C (coronin 1C), quant à elle, est une protéine liant l'actine impliquée dans la régulation du turnover des réseaux d'actine branchée, notamment au niveau des lamellipodes. Elle co-localise avec le complexe Arp2/3 et participe au remodelage dynamique du cytosquelette. Son absence entraîne une augmentation de la densité d'actine branchée et une diminution du renouvellement des filaments, perturbant la

migration cellulaire dirigée. CORO1C module également la distribution et l'activation de Rac1, une petite GTPase essentielle à la régulation du cytosquelette (Williamson et al. 2014; King et al. 2022). Bien que son implication spécifique dans la MH demeure peu documentée, son rôle dans l'organisation cytosquelettique suggère qu'une altération pourrait influencer le transport axonal et la connectivité synaptique, deux processus déjà altérés dans la maladie (Jurcau 2022; A. Jiang et al. 2023). Ainsi, la présence de MTPAP et CORO1C parmi les protéines spécifiquement N-HCY chez les patients présymptomatiques pourrait traduire des perturbations mitochondriales et cytosquelettiques précoces, précédant l'apparition des manifestations cliniques. Ces protéines pourraient donc constituer des biomarqueurs potentiels. À ce titre, MTPAP a déjà été proposée comme biomarqueur sanguin dans le suivi de la dépression par Mamdani *et al*. ce qui renforce l'intérêt de son évaluation dans notre contexte, même si des validations complémentaires restent indispensables (Mamdani et al. 2022).

Chez les patients symptomatiques, vingt-et-une protéine apparaissent spécifiquement N-HCY, parmi lesquelles HSPA5, EIF2B1 et PPP3CA. Cette signature confirme l'installation de perturbations majeures de l'homéostasie protéique et de la régulation des récepteurs glutamatergiques. HSPA5, également connue sous le nom de BiP ou GRP78, est une chaperonne de la famille Hsp70 localisée dans le réticulum endoplasmique. Elle participe au repliement des protéines naissantes et joue un rôle central dans la réponse aux protéines mal repliées (UPR), en modulant l'autophagie et l'apoptose afin de préserver l'homéostasie cellulaire (Wang et al. 2017).

Des perturbations de l'expression de HSPA5/BiP/GRP78 ont été relevés dans des modèles murins de la MH (HdHQ175 et R6/1) et associés à une hypersensibilité au stress du RE induit par la mHTT (Vodicka et al. 2016; Espina et al. 2023; Lajoie et Snapp 2011). Les chaperonnes de la famille Hsp70 jouent un rôle déterminant dans le maintien de la protéostasie et la gestion des agrégats protéiques, processus central dans la pathologie caractérisée par l'accumulation de huntingtine mutante (Panda et al. 2023). Des modifications post-traductionnelles des chaperonnes ont d'ailleurs été décrites dans les régions cérébrales affectées par la MH, suggérant leur implication dans la progression de la maladie (Panda et al. 2023). EIF2B1, sous-unité alpha du complexe eIF2B, intervient comme facteur d'échange de nucléotides guanine (GEF) en recyclant eIF2-GDP en eIF2-GTP, étape indispensable à l'initiation de la traduction (Bogorad et al. 2017).

Des mutations des sous-unités d'eIF2B, dont EIF2B1, sont responsables d'une leucodystrophie(Leukoencephalopathy with vanishing white matter (VWM disease), caractérisée par une activation chronique de la réponse intégrée au stress (ISR) et une diminution de la synthèse protéique conduisant à des dommages neuronaux (Hanson et al. 2022; Fogli et Boespflug-Tanguy 2006). La N-HCY d'EIF2B1 pourrait ainsi contribuer à une altération de la régulation traductionnelle, aggravant le stress cellulaire dans la MH. Parmi les protéines spécifiquement N-HCY chez les patients symptomatiques, seule TFRC a déjà été proposée comme biomarqueur, notamment dans l'hypertension artérielle pulmonaire où son expression est augmentée dans les tissus pulmonaires et le sérum (Jiakai Yang et al. 2024). Là encore, son intérêt dans la MH devra être confirmé par des études dédiées.

Au-delà du statut clinique, l'analyse du statut biochimique révèle un profil spécifique chez les patients MH présentant une hyperhomocystéinémie. Huit protéines sont spécifiquement N-HCY dans ce sous-groupe, dont PUM1, qui apparaît doublement modifiée. PUM1 est une protéine liant l'ARN impliquée dans la régulation post-transcriptionnelle de l'expression génique. Elle agit principalement comme répresseur en modulant la stabilité et la traduction des ARNm cibles, bien qu'elle puisse dans certains contextes favoriser leur expression (Goldstrohm et al. 2018). PUM1 est impliquée dans plusieurs pathologies neurodégénératives. Elle régule notamment l'expression de l'alpha-synucléine (SNCA), suggérant un rôle potentiel dans la maladie de Parkinson (Cabaj et al. 2025).

De plus, une haploinsuffisance de PUM1 entraîne une augmentation des niveaux d'Ataxin1, induisant une neurodégénérescence proche de l'ataxie spinocérébelleuse de type 1 (Gennarino et al. 2015). PUM1 a également été proposée comme biomarqueur potentiel dans le diagnostic de la leptospirose (Fish-Low et al. 2024). Sa double N-HCY dans un contexte d'*H*HCY pourrait donc entraîner des conséquences fonctionnelles significatives sur la régulation post-transcriptionnelle. Dans notre modèle *HdhQ111 H*HCY, la protéine Rph3a (Rabphilin-3A) est spécifiquement doublement N-HCY dans le cortex des hétérozygotes carencés. Cette protéine est impliquée dans de nombreux processus de régulation du cytosquelette neuronal et dans l'exocytose des neurotransmetteurs (Abramian et al. 2024). Elle interagit avec l'α-synucléine dans la stabilisation des épines dendritiques, dans la maintenance des récepteurs glutamatergiques NMDA à la synapse et sa perte de fonction a été rapportée dans la maladie de Parkinson (Ferrari et al. 2022).

Une perte de son expression a également été observée dans la maladie d'Alzheimer (Tan et al. 2014). Dans la MH une diminution de son expression a été retrouvée dans le cortex des patients et dans le modèle R6/1 elle est associée à une altération de la transmission synaptique concomitante de l'apparition des premiers symptômes de la maladie (Smith et al. 2005, 2007).

Enfin, chez les patients MH présentant une hyperhomocystéinémie associée à une carence en vitamine B, sept protéines sont spécifiquement N-HCY. Parmi elles figurent des protéines impliquées dans la dynamique de l'actine, comme VASP, ainsi que des protéines neuronales telles que SPTAN1 et STX3. Si ces dernières n'ont pas été exploitées comme biomarqueurs, PLIN2, également identifiée dans ce sous-groupe, a déjà été utilisée comme biomarqueur sérique (Alpaydin et al. 2025). PLIN2 est une protéine associée aux gouttelettes lipidiques, régulant le métabolisme lipidique intracellulaire et la formation de ces structures.

Elle protège les gouttelettes lipidiques de l'autophagie et sa diminution favorise le catabolisme des lipides, avec des effets protecteurs dans certaines pathologies métaboliques comme la stéatose hépatique (Tsai et al. 2017). Elle est également impliquée dans le vieillissement cérébral, la neuroinflammation et les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer, où son expression augmente et corrèle avec des marqueurs inflammatoires tels que l'IL-6 (Conte et al. 2022). Sa N-HCY dans un contexte combiné d'HHCY et de carence vitaminique pourrait refléter une altération conjointe du métabolisme lipidique et de l'environnement inflammatoire neuronal.

Ainsi, l'identification de signatures protéiques N-HCY spécifiques selon le statut clinique et biochimique ouvre des perspectives intéressantes pour la recherche de biomarqueurs stratifiés. Bien que ces observations nécessitent des validations complémentaires afin d'établir leur robustesse et leur pertinence clinique, elles suggèrent que la N-HCY pourrait constituer un marqueur dynamique de l'évolution physiopathologique dans la maladie de Huntington.

En conclusion, l'ensemble de ces données positionne la N-HCY comme un mécanisme pathogénique transversal susceptible d'interagir de manière synergique avec les altérations mises en jeu par la mHTT dans la MH. Au-delà d'un simple phénomène biochimique associé à l'hyperhomocystéinémie, la N-HCY apparaît comme une modification post-traductionnelle capable d'impacter simultanément plusieurs nœuds fonctionnels critiques : transmission synaptique, dynamique cytosquelettique, protéostasie, régulation traductionnelle, métabolisme mitochondrial et homéostasie rédox. En ciblant des protéines intégrées à ces réseaux interdépendants, elle pourrait amplifier la vulnérabilité neuronale induite par la mHTT et contribuer à la diminution des capacités d'adaptation cellulaire.

La mise en évidence de profils protéiques spécifiquement N-HCY selon le stade clinique et le statut biochimique renforce l'hypothèse d'un processus dynamique et évolutif, modulé par la sévérité des altérations du métabolisme des monocarbones. Cette dimension métabolique suggère que la N-HCY ne constitue pas un événement accessoire, mais s'inscrit dans une dérégulation systémique susceptible d'influencer la progression de la pathologie.

Ainsi, la N-HCY pourrait représenter à la fois un facteur aggravant de la cascade neurodégénérative et un indicateur biologique permettant de stratifier l'évolution physiopathologique de la maladie. Si des validations complémentaires demeurent indispensables pour confirmer la robustesse et la spécificité des signatures identifiées, ces résultats ouvrent des perspectives translationnelles notables. Celles-ci concernent non seulement le développement de biomarqueurs dynamiques, mais également l'exploration d'approches thérapeutiques visant à restaurer l'homéostasie métabolique et protéique. Une telle stratégie pourrait dépasser le cadre strict de la maladie de Huntington et s'étendre à d'autres pathologies associées à une hyperhomocystéinémie, dans lesquelles la N-HCY pourrait constituer un déterminant pathogénique commun (**Figure 95**).

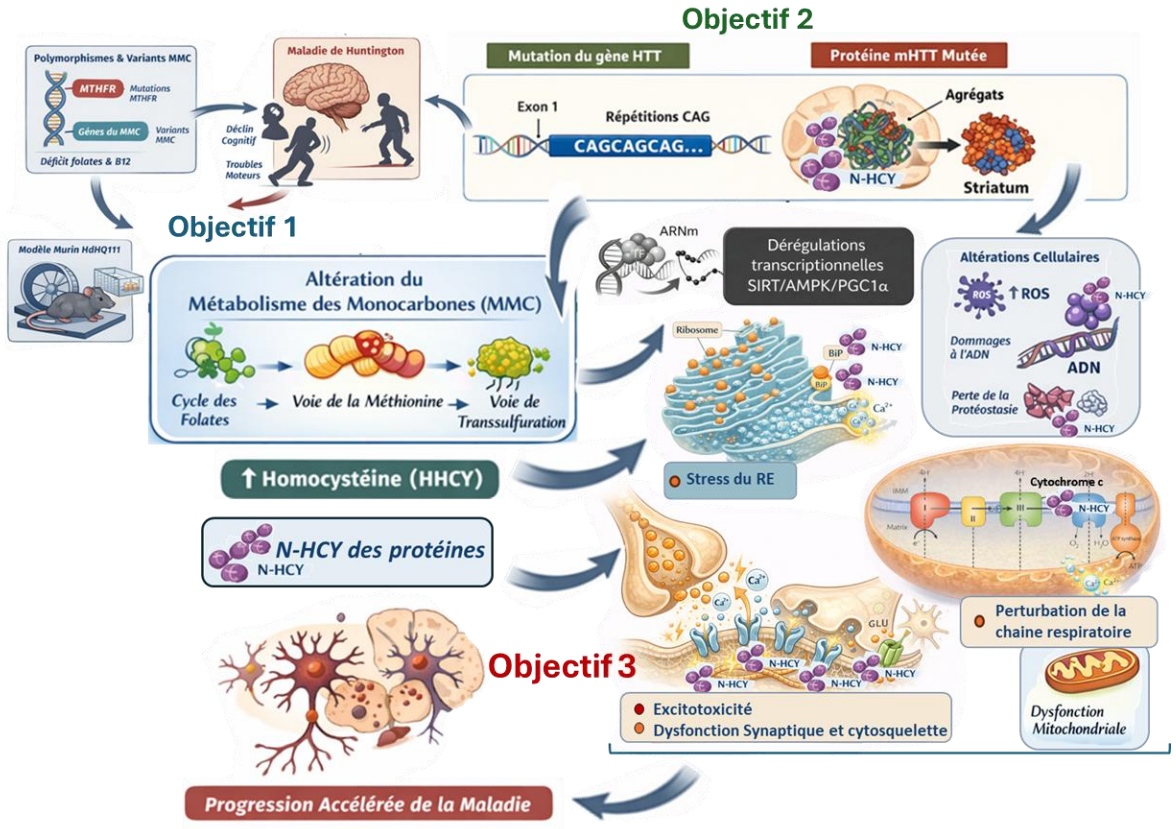


Figure 95 : Schéma synthétique illustrant le rôle de la N-HCY des protéines comme mécanisme central amplifiant les altérations cellulaires dans la MH. *L'altération du MMC, liée à des facteurs génétiques et nutritionnels, conduit à une* HHCY *favorisant la formation d'homocystéine thiolactone et la N-*HCY *des protéines. La N-*HCY *agit comme un modulateur transversal en affectant de multiples réseaux fonctionnels. Elle favorise l'agrégation protéique, perturbe la protéostasie et induit un stress du réticulum endoplasmique. Elle contribue également à des dérégulations transcriptionnelles (SIRT1/AMPK/PGC1α) et à une augmentation du stress oxydant, associée à des dommages à l'ADN. Au niveau mitochondrial, la N-*HCY *participe à la perturbation de la chaîne respiratoire et à la dysfonction énergétique. Au niveau neuronal, elle affecte la transmission synaptique et la dynamique du cytosquelette, favorisant l'excitotoxicité et les dysfonctionnements synaptiques précoces. L'ensemble de ces altérations converge vers une amplification de la vulnérabilité neuronale et une accélération de la progression de la maladie. Ce modèle souligne le rôle de la N-*HCY *comme mécanisme pathogénique systémique, reliant dysrégulation métabolique, stress cellulaire et neurodégénérescence, et suggère son potentiel en tant que biomarqueur dynamique et cible thérapeutique.*

Discussion Générale

Les travaux menés au cours de cette thèse visaient à comprendre les conséquences d'une altération du métabolisme des monocarbones (MMC) dans la physiopathologie de la maladie de Huntington (MH). Pour répondre, trois objectifs complémentaires ont été développés : (1) Un dysfonctionnement du MMC peut-il participer à l'explication de la grande variabilité phénotypique de la MH ? (2) Quelles sont les conséquences moléculaires et cellulaires d'une altération du MMC dans la MH ? et enfin (3) Existe-t-il des biomarqueurs spécifiquement liés à l'altération du MMC dans la MH ?

Nos résultats montrent que plus de 60 % des patients de notre étude clinique présentent une anomalie du MMC, d'origine alimentaire et/ou génétique, ou par altération directe du MMC via l'action de la mHTT. Au sein de cette même cohorte, près d'un patient sur deux présente une hyperhomocystéinémie (HHCY), de plus même les patients qui ne sont pas HHCY présentent une homocystéinémie statistiquement supérieure à celle de la population contrôle, certainement en lien avec le rôle de la mHTT dans la voie de la transsulfuration, tel que cela a été confirmé par notre analyse du métabolome du MMC. De plus, parmi les 10 patients qui ont pu bénéficier de l'analyse génétique du MMC, nous avons observé pour 5 patients la présence de polymorphismes hétérozygotes de la *MTHFR* (cycle des folates) qui s'accompagnaient d'une HHCY. En règle générale, ces polymorphismes à l'état hétérozygote n'impactent qu'à hauteur de 30% l'activité de la MTHFR et ne sont pas associés à une HHCY (Zappacosta et al. 2014; Nefic et al. 2018; Araszkiewicz et al. 2025). Toutefois, dans la MH, où une altération de la voie de la transsulfuration est observée, un ralentissement concomitant du cycle des folates peut affecter la reméthylation de l'homocystéine, entraînant ainsi son accumulation chez les patients. Chez les patients HHCY, l'apparition des symptômes débute par des troubles dysexécutifs avant l'apparition des symptômes moteurs. De plus, la progression des symptômes moteurs est plus rapide dans chez ces patients. Ces observations suggèrent l'existence d'un lien entre les anomalies du MMC — et l'HHCY qui leur est associée — et l'aggravation du dysfonctionnement synaptique et de la perte neuronale observée chez ces patients.

Ainsi, au cours de notre étude nous avons observé que la MH et les perturbations du MMC convergent vers des altérations moléculaires communes, contribuant aux processus pathologiques.

I- Dans la MH les perturbations du MMC peuvent être associées à une exacerbation des dommages à l'ADN

La MH résulte d'une mutation au sein du gène *HTT*, caractérisée par un nombre anormal de répétition de triplets CAG au niveau de l'exon 1. La principale conséquence est la synthèse d'une protéine mutée dysfonctionnelle avec un pouvoir cytotoxique lié à son agrégation massive, notamment au sein du striatum. A ce mécanisme pathologique, s'ajoutent les expansions de triplets qualifiés d'expansions somatiques dans certaines cellules périphériques mais également au niveau central. Les expansions somatiques sont principalement médiées par un mécanisme lié à la réparation de l'ADN, en particulier par la voie de réparation des mésappariements (mismatch repair, MMR), avec des gènes comme *MSH3, PMS2* et *FAN1* jouant un rôle modificateur important (Lee et al. 2025). Au niveau central, ces expansions favorisent la toxicité cellulaire en induisant une perte progressive des fonctions neuronales et en activant des voies de sénescence et d'apoptose, ce qui conduit à la mort des neurones striataux (Bates 2025).

Le MMC est essentiel à la synthèse des bases nucléotidiques indispensables à la réplication et/ou à la réparation de l'ADN. Une altération du MMC, qu'elle soit d'origine alimentaire (carence en folates ou vitamines B) ou génétique (mutations des enzymes du cycle), entraîne une diminution de la synthèse d'ADN, une instabilité génomique accrue et une réduction du potentiel de méthylation de l'ADN et des protéines associées telles que les histones (Guéant et al. 2022; Mellor et al. 2025). Ces perturbations résultent notamment d'une baisse de la disponibilité des précurseurs pour la biosynthèse des purines et pyrimidines ainsi que d'une diminution de S-adénosylméthionine, le principal donneur de groupes méthyle pour les réactions de méthylation épigénétique (Petrova et al. 2023; Clare et al. 2019). Le MMC régule aussi la méthylation de l'ADN, un processus clé pour le maintien de l'intégrité génomique et la régulation génique, ce qui explique pourquoi son dysfonctionnement peut conduire à une instabilité chromosomique (Clare et al. 2019; Asai et al. 2020 ; Guéant et al., 2022, Mellor et al., 2025). L'HHCY associée aux défauts du MMC participe à l'oxydation des bases puriques et pyrimidiques, pouvant entraîner des mutations ponctuelles et des dommages à l'ADN (Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025; Koklesova et al. 2021). Dans ce contexte, les mécanismes de réparation de l'ADN jouent un rôle central dans la dynamique des expansions somatiques des répétitions CAG.

En particulier, le système MMR qui reconnait les boucles d'ADN formées au niveau des répétitions CAG et, au lieu de les corriger efficacement, peut paradoxalement favoriser leur expansion. Par ailleurs, la voie de réparation par excision de bases (Base Excision Repair, BER), activée notamment en réponse aux lésions oxydatives, contribue également à cette instabilité. Les dommages de l'ADN induisent des cycles répétés de réparation qui augmentent la probabilité d'erreurs au sein des régions répétées. Ainsi, l'interaction entre altérations du MMC, stress oxydant et dysfonctionnement des voies de réparation de l'ADN constitue un facteur clé pouvant favoriser l'instabilité génomique et les expansions somatiques dans la MH (Bates 2025; Mellor et al. 2025; Castillo et al. 2025).

II- Dans la MH les anomalies du MMC potentialisent les dysrégulations transcriptionnelles

La mHTT peut interférer directement avec plusieurs facteurs de transcription ou coactivateurs tel que CREB, CBP, PGC1-α ou encore SP1 soit en altérant leur expression soit en inhibant leur activité entraînant ainsi une perturbation de l'expression génique et des voies de signalisation intracellulaire associées. Par exemple, la répression de CREB par la mHTT entraine une diminution de l'expression de la protéine régulatrice TORC1 dans le striatum des patients atteints de la MH, ce qui conduit à une réduction de l'expression du BDNF se traduisant par des défauts de survie cellulaire et de plasticité synaptique (Naia et Rego 2015).

Les perturbations du MMC sont susceptibles de potentialiser les dysrégulations transcriptionnelles induites par la mHTT au niveau des mêmes acteurs transcriptionnels (Guéant et al. 2022). En accord avec cette observation, nos analyses protéomiques réalisées au sein de la cohorte HO-HD révèlent que la transition du stade présymptomatique au stade symptomatique est associée à une modification significative de l'expression de plus de 500 gènes supplémentaires.

Parmi ces gènes nous avons mis en avant, une surexpression significative des enzymes du cycle de la méthionine (MS), du cycle des folates (MTHFD2) et de la voie de la transsulfuration (CBS et CSE) chez les patients symptomatiques, d'autant plus marquée en contexte HHCY. L'hypothèse serait une réponse adaptative au contexte HHCY par une surexpression de ces enzymes afin de recycler l'HCY de manière plus efficace.

Nous avons montré que cette réponse adaptative est altérée en situation HHCY par une séquestration accrue de la CBS et la CSE par la mHTT conduisant à une diminution de la production de molécules clés de la défense antioxydante (cystéine, H2S et glutathion) (Singh et al. 2019, Paul et al., 2022). Ainsi, les altérations du MMC, associées à l'HHCY, apparaissent comme des facteurs aggravants de la MH participant à la dérégulation de l'expression génique et à l'augmentation du stress oxydant.

III- Une perturbation du MMC majore le stress oxydant et la perte de l'homéostasie protéique dans la MH

L'HCY est un acide aminé dit pro-oxydant, notamment par la génération de stress oxydant via son groupe sulfhydrile très réactif et la production de ROS (espèces réactives de l'oxygène) (Jacobsen 2000; Sharma et al. 2021). Elle augmente également l'activité de certaines enzymes, comme la NADPH oxydase, favorisant ainsi la production de ROS, tout en inhibant spécifiquement l'activité des enzymes antioxydantes clés telles que la superoxyde dismutase (SOD), les catalases et les péroxydases, contribuant ainsi à une accumulation de peroxydes et à un déséquilibre redox cellulaire (Outinen et al. 1999; Smith et Refsum 2016; Araszkiewicz et al. 2025).

Au-delà de son action pro-oxydante propre, l'HCY participe au stress oxydant par un trouble de la protéostasie. En effet, la formation d'homocystamides par la N-HCY des protéines présente une double répercussion, elle induit un stress oxydant via la formation de fonctions amides et entraîne également l'agrégation ainsi que la perte de fonctions des protéines modifiées. L'agrégation des protéines impliquées contribue à l'altération de la protéostasie déjà en place dans la MH (D'Egidio et al. 2025). Selon la fonction des protéines modifiées elle s'accompagne également de perturbations de voies de signalisation et/ou de systèmes cellulaires potentiellement déjà affectés par la mHTT ou propre au rôle de la protéine N-HCY, participant ainsi à la progression des dysfonctionnements cellulaires.

Parmi ces protéines on retrouve la HTT, dont le niveau de N-HCY est directement corrélé avec l'homocystéinémie du patient, impactant d'autant plus tous les mécanismes pathologiques liés à la mutation de cette protéine dans la MH. Nos résultats suggèrent chez les patients MH HHCY que la N-HCY de la mHTT potentialise sa mutation gain de fonction et augmente la séquestration des deux enzymes de la voie de la transsulfuration, la CBS et la CSE.

Cette modification n'altère pas l'activité de la CBS mais inhibe la CSE, ce qui se manifeste par un « bouchon métabolique » se traduisant par une accumulation de la cystathionine, produit par la CBS, et une diminution de la cystéine et du glutathion. Cette perte de pouvoir antioxydant chez les patients est également retrouvée chez les souris *HdhQ111* HHCY.

Nos résultats de protéomique mettent également en évidence une N-HCY des kinases MAPK chez les patients de la cohorte HO-HD : les MAP4K5 et MAP3K4, décrites comme des médiateurs dans la transduction du signal vers les kinases JNK et p38, qui sont fortement impliquées dans la réponse au stress oxydant (McCubrey et al. 2006; Martine Torres et Forman 2003). Les altérations du MMC, l'HHCY et la N-HCY des protéines altèrent ainsi l'homéostasie redox à tous les niveaux, que ce soit au niveau des mécanismes antioxydants ou bien au niveau de la formation de ROS.

Au-delà de la N-HCY, l'HCY thiolactone, par la génération de ROS, peut également oxyder, carbonyler ou encore nitrater les acides aminés protéiques (Araszkiewicz et al. 2025). Ces réactions favorisent également la perte de fonction et l'agrégation des protéines touchées. Ces modifications, accentuées par le contexte HHCY, altère une protéostasie cellulaire déjà bien fragilisée par les mécanismes pathologiques de la mHTT. En effet, la mHTT altère le bon fonctionnement du système ERAD contribuant ainsi à l'accumulation de protéines mal repliées qui ne seront pas prise en charge par le système UPS ou l'autophagie (Hui Yang et al. 2010). Des altérations du système UPS, de la réponse UPR, du système ERAD et le stress du RE ont été également associées à des perturbations du MMC dans de nombreux modèles *in-vitro* et *in vivo* (Rose Ghemrawi et al. 2019; Kosgei et al. 2020; Guéant et al. 2022; Mauricio Torres et al. 2025; Matmat et al. 2026).

De plus, l'autophagie est altérée par la séquestration dans les inclusion de p62 par mHTT, ce qui aboutit à la formation d'autophagosomes vides, reflétant un défaut de chargement des cargos cellulaires (Valionyte et al., 2020; J. Yang et al. 2021). Enfin, la mHTT séquestre des protéines chaperonnes, tel que Hsp90 ou encore le complexe TRiC/CCT, favorisant l'accumulation de protéines mal repliées et une altération accentuée du système UPS (Baldo et al. 2012; Darrow et al. 2015). Chez les patients symptomatiques nous avons montré la N-HCY de l'HSPA5 (BIP) une protéine chaperonne de la famille heat shock proteins (HSP) qui joue un rôle majeur dans la réponse UPR (C. Hu et al. 2022) et EIF2B1, une sous-unité du complexe eIF2B, central dans la régulation de la traduction et la réponse intégrée au stress (ISR) (Garriga-Canut et al. 2012) confirmant une altération de la protéostasie en contexte HHCY.

Ainsi, une perturbation du MMC et une HHCY non régulée va majorer le stress oxydant et les altérations de la protéostasie qui constituent des mécanismes centraux de la physiopathologie de la MH (Guedes-Dias et al. 2016; Jurcau 2021, 2022).

IV- Une perturbation du MMC potentialise le dysfonctionnement mitochondrial dans la MH

Les anomalies du MMC potentialisent les effets de la mHTT sur l'inhibition de SIRT1/AMPK/PGC-1α, affectant également la transcription des gènes impliqués dans le métabolisme énergétique et la fonction mitochondriale et aggravant ainsi les dommages cellulaires (Guéant et al. 2022; Matmat et al. 2026). Les voies mises en jeux par ces protéines jouent un rôle clé dans la régulation du stress oxydatif en modulant plusieurs voies antioxydantes, notamment via l'activation de PGC-1α, FOXO, et la réduction de la NADPH oxydase, ce qui protège les cellules contre les dommages mitochondriaux et inflammatoires (Kosgei et al. 2020). Or, la mHTT inhibe directement SIRT1 et PGC1α entraînant une altération de leurs voies de signalisation, mais aussi plus spécifiquement un défaut d'activation de NRF2, un facteur clé dans la réponse antioxydante, facilitant ainsi l'accumulation de ROS (Jin et al. 2013, Naia et Rego., 2015). Dans le MMC la diminution de synthèse de SAM (donneur universel de méthyle) inhibe l'activité de PGC1α par une hypométhylation directe de PGC1α, ainsi qu'une hypométhylation indirecte médiée par l'inhibition de SIRT1 (Kosgei et al. 2020; Guéant et al. 2022; Matmat et al. 2026). Tandis que l'HCY réprime directement la voie NAD^+/SIRT1 dans les neurones (Chai et al. 2025).

D'autres mécanismes liant la MH, le MMC et le stress oxydant via le métabolisme mitochondrial sont également mis en jeu. En effet, nous avons montré par analyse protéomique une N-HCY de la NADPH dans le cortex des souris hétérozygotes HHCY du modèle *HdhQ111*, marquant, encore un peu plus le déséquilibre oxydatif. En ce qui concerne l'HCY, elle joue également un rôle direct, dans la production de stress oxydant via le métabolisme mitochondrial. En effet, dans un contexte HHCY, ce qui est le cas pour 58% des patients de la cohorte HO-HD, l'HCY perturbe l'homéostasie mitochondriale, en favorisant la libération du cytochrome c et en inhibant les complexes enzymatiques I-III, augmentant ainsi la production de ROS (Chen et al. 2017). Finalement, dans le cerveau, une hyperhomocystéinémie chronique modifie spécifiquement le métabolisme mitochondrial et perturbe la réponse adaptative via NRF2 (Dos Santos et al. 2019).

L’altération du métabolisme mitochondrial dans la MH contribue à la neurodégénérescence. La mHTT perturbe la fonction mitochondriale en altérant la dynamique mitochondriale, induisant une fragmentation excessive, perturbant la fusion notamment via son interaction avec DRP1 et le transport mitochondrial, ce qui compromet l’homéostasie énergétique (Sawant et al. 2021). La mHTT, via son interaction avec SIRT1, altère les voies PGC1α, FOXO3a, AMPK et CREB, impactant ainsi la transcription de gènes modulant la biogenèse mitochondriale (*NRF2* et *TFAM*) et l’expression des enzymes de la β-oxydation et du cycle de Krebs (Fão et Rego 2021; Szablewski, 2025). De plus, des déficiences marquées des complexes II, III et IV de la chaîne respiratoire ont été observées dans le striatum des patients MH contribuant à une production réduite d’ATP, ainsi qu’un effondrement global du métabolisme énergétique cellulaire, aggravé par un stress oxydant accru et une altération du contrôle qualité mitochondrial via une mitophagie défectueuse (Carmo et al. 2018).

Nos résultats mettent en évidence des altérations mitochondriales précoces, détectables dès le stade présymptomatique, affectant le transport de la chaîne d’électrons, la production d’ATP et la β-oxydation des acides gras. À un stade symptomatique, ces dysfonctionnements s’intensifient et s’étendent à l’ensemble des fonctions mitochondriales, incluant la chaîne respiratoire, le potentiel de membrane mitochondriale, la biogenèse, ainsi que l’homéostasie des protéines mitochondriales (import, dégradation et traduction), et perturbent également les processus métaboliques tels que le cycle de Krebs, reflétant une atteinte globale de la fonction mitochondriale. Dans ce contexte, l’HHCY aggrave ces dysfonctionnements mitochondriaux en altérant l'activité des complexes II et III de la chaîne respiratoire, notamment via la N-HCY du cytochrome c ce qui intensifie la dette mitochondriale. Cette altération perturbe la phosphorylation oxydative et augmente le stress oxydant contribuant à une production accrue de radicaux libres et à une défaillance énergétique cellulaire (Shuang et al. 2017). De plus, l'HHCY favorise la fragmentation mitochondriale en activant la protéine DRP1, voie déjà altérée par la mHTT, ce qui accentue la fission mitochondriale et aggrave les dommages mitochondriaux (Kowluru et Mohammad 2022).

Finalement, l’altération de la fonction mitochondriale dans la cohorte HO-HD a été associée à la N-HCY des protéines CDK1, TFRC et ACSF3. Ces modifications post-traductionnelles perturbent l’homéostasie mitochondriale en affectant des processus clés tels que la biogenèse, la dynamique et la qualité mitochondriale (Kaplan et al. 2020; L. Ye et al. 2025).

L'ensemble de ces mécanismes met en lumière le rôle central du dysfonctionnement mitochondrial dans la physiopathologie de la MH, processus clé de la neurodégénérescence, dont la sévérité est exacerbée par les altérations du MMC et l'hyperhomocystéinémie associée.

V- Dans la MH une perturbation du MMC majore l'excitotoxicité calcique et la perturbation de la plasticité synaptique

Au-delà de l'impact de la MH et du MMC sur l'homéostasie mitochondriale, le métabolisme énergétique, le stress oxydant et l'instabilité génomique, la mHTT ainsi que l'HHCY affectent également directement la fonction neuronale. En effet, la mHTT altère la maturation des synapses et la neurotransmission contribuant ainsi à la neurodégénérescence (Parsai et al. 2025; Tang 2018).

Les anomalies du MMC et l'HHCY associée, participe à l'augmentation d'influx Ca^{2+} et par conséquent à l'excitotoxicité car l'HCY est un agoniste des récepteurs NMDA (González-Cota et al. 2024). De plus, l'inhibition de la voie SIRT1 par l'HCY et la mHTT, altère la différenciation, la prolifération ainsi que la survie neuronale. La désacétylase SIRT1 joue un rôle majeur dans la régulation de la survie cellulaire, de la différenciation neuronale et du métabolisme énergétique, et sa diminution favorise des processus neurodégénératifs (Al-kuraishy et al. 2023). Cette inhibition impacte les voies impliquant PPARα et le facteur neurotrophique BDNF, essentielles à la neuroprotection et à la plasticité neuronale (Mishra et al. 2021; Fujita et Yamashita 2018). La N-HCY de protéines essentielles dans les neurones a été mise en évidence par les analyses protéomiques dans la cohorte HO-HD. Parmi ces protéines modifiées figurent ANHAK qui interagit avec la HTT dans l'organisation des synaptosomes, l'exocytose des vésicules et la régulation des flux calcique à la synapse, PPP3CA, impliquée dans la régulation de l'influx calcique, et STX3, une protéine SNARE jouant un rôle dans la fusion membranaire synaptique (Yao et al., 2014, Sundararaj et al., 2021; Favaro et al. 2024; Lorenzo et al. 2023a; Tebbe et al. 2026). Des modifications similaires ont été observées dans le cortex de souris *HdhQ111* hétérozygotes, avec notamment la N-HCY de protéines comme Gria2 et Gria3, qui sont des sous-unités des récepteurs AMPA (Salpietro et al. 2019), ainsi que la septine 3, une autre composante du cytosquelette neuronal jouant un rôle dans la stabilisation des synapse (Lorenzo et al. 2023b ; Ageta-Ishihara et al., 2025). La Rabphilin-3A est doublement N-HCY, cette protéine est impliquée dans la régulation de l'exocytose des vésicules, dans la stabilisation des épines dendritique et dans le maintien des récepteurs glutamatergiques NMDA au niveau synaptique (Abramian et al. 2024).

La perte d'expression de cette protéine dans des modèles murins de la MH a été associée à l'apparition des symptômes moteurs (R. Smith et al. 2005, 2007; Abramian et al. 2024). Sa diminution d'expression et/ou sa perte de fonction a été rapportée dans la maladie de Parkinson et d'Alzheimer (Tan et al. 2014; Ferrari et al. 2022). De même, nous avons montré la N-HCY de la myosine Va, une protéine jouant un rôle clé dans le transport actif de cargos nécessaires à la fonction synaptique et à la plasticité. Elle transporte notamment les récepteurs NMDA dans les neurones de l'hippocampe (Gong et al. 2024). Les mécanismes de plasticité synaptique hippocampique, potentialisation et dépression à long terme (LTP et LTD) mettent en jeu la dynamique des récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA à la synapse (Hassan et al. 2023). Les perturbations liées à la N-HCY des acteurs de cette plasticité pourrait donner les premiers éléments de réponse pour expliquer l'entrée cognitivo-comportementale dans la maladie des patients HHCY de la cohorte HO-HD.

Nous avons également mis en évidences la N-HCY de nombreuses protéines du cytosquelette, telle que la dystonine, la spatacsin, la myosin-9, la syntaxine-3, la palladine, la taline, SPTAN1, la CORO1C et VASP. La spectrine SPTAN1 est particulièrement importante car elle organise le cytosquelette neuronal et son dysfonctionnement est lié à divers troubles neurologiques (Lorenzo et al. 2023b). La CORO1C est une protéine de liaison à l'actine qui joue un rôle majeur dans les neurones, notamment en régulant la dynamique du cytosquelette nécessaire à la formation des filopodes et des neurites (Joshi et al. 2025). VASP intervient dans la croissance axonale et la navigation des cônes de croissance en réponse à des signaux de guidage comme la netrine-1 (Drees et Gertler 2008).

Ainsi, l'interaction entre la pathologie de la MH et les perturbations du MMC contribue à amplifier les altérations neuronales. L'accumulation d'homocystéine et l'inhibition de SIRT1, associées à la présence de mHTT, perturbent la régulation du calcium, la plasticité synaptique, le cytosquelette et le transport intracellulaire, favorisant l'excitotoxicité et les processus neurodégénératifs. Ces perturbations pourraient accroître la neurodégénérescence préexistante, contribuant ainsi à l'aggravation rapide de la maladie observée chez les patients HHCY de la cohorte HO-HD.

Pris dans leur globalité nos résultats mettent en évidence un lien étroit entre la MH et les altérations du MMC (**Figure 96**). En favorisant l'accumulation d'homocystéine, les anomalies du MMC contribuent à l'instabilité génomique, au stress oxydant et aux dysfonctionnements mitochondriaux, amplifiant des mécanismes déjà impliqués dans la physiopathologie de la MH.

Ces perturbations se répercutent également sur la fonction neuronale, notamment en altérant la plasticité synaptique, l'homéostasie calcique et l'organisation du cytosquelette, contribuant ainsi à la progression de la neurodégénérescence. L'identification de ces interactions souligne l'importance du MMC et de l'HHCY comme facteurs modulateurs potentiels de l'expression clinique de la maladie et ouvre de nouvelles perspectives, tant pour une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques que pour l'identification de biomarqueurs et de cibles thérapeutiques, notamment à travers les profils spécifiques de protéines modifiées par N-homocystéinylation.

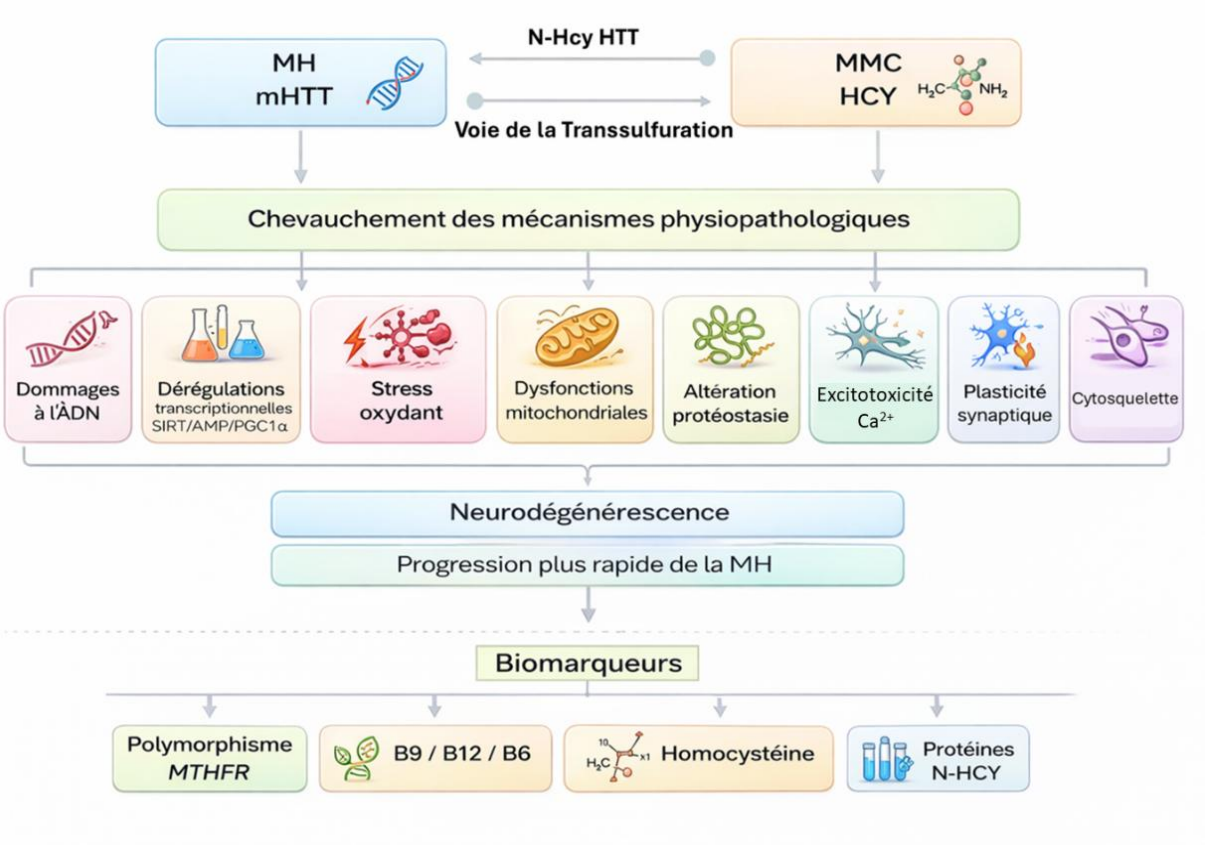


Figure 96 : Interaction entre la maladie de Huntington et le métabolisme des monocarbones : convergence vers des mécanismes physiopathologiques communs. *Ce schéma illustre l'interaction bidirectionnelle entre la maladie de Huntington (MH), via la huntingtine mutée (mHTT), et le métabolisme des monocarbones (MMC), incluant le métabolisme de l'homocystéine (*HCY*) et la voie de la transsulfuration. Les altérations du MMC, d'origine génétique, nutritionnelle ou induites par la mHTT, conduisent à une accumulation d'homocystéine et à des modifications post-traductionnelles des protéines (N-homocystéinylation). La MH et les perturbations du MMC convergent vers des mécanismes physiopathologiques communs : dommages à l'ADN, dérégulations transcriptionnelles, stress oxydant, dysfonctionnements mitochondriaux, altération de la protéostasie, excitotoxicité calcique, défauts de plasticité synaptique et désorganisation du cytosquelette. Cette synergie pathologique contribue à une neurodégénérescence accélérée et à une progression plus rapide de la maladie. Enfin, plusieurs biomarqueurs associés à ces altérations sont proposés, notamment les polymorphismes de MTHFR, les vitamines du groupe B (B9, B12, B6), l'homocystéinémie et les protéines N-homocystéinylées, soulignant l'intérêt du MMC comme facteur modulateur et cible potentielle dans la MH.*

Conclusion - Perspectives

La MH présente une très grande **variabilité phénotypique**, tant en ce qui concerne **l'âge** d'apparition des symptômes que leur **sévérité** et leur **vitesse** d'évolution, et ce pour un nombre relativement identique de triplets CAG. Cette variabilité phénotypique laisse supposer l'intervention de **facteurs environnementaux**, parmi lesquels le **métabolisme des monocarbones** (MMC), dont l'implication a déjà été décrite dans d'autres maladies neurodégénératives (Sharma et al. 2015b; Smith et al. 2018).

Ce projet a mis en évidence que la majorité des patients de notre cohorte présentait une **anomalie du MMC** (63 %), entraînant une **hyperhomocystéinémie** (HHCY) plus ou moins marquée. Celle-ci résulte probablement de la **diversité des voies de régulation** impliquées dans ce métabolisme, telles que les carences alimentaires en vitamines B et/ou la présence de polymorphismes affectant les enzymes du cycle, tel que celui de la MTHFR. Cette HHCY a été **corrélée positivement à la vitesse d'évolution des symptômes moteurs ainsi qu'à la N-homocystéinylation** (N-HCY) **de la huntingtine chez les patients**, suggérant ainsi un lien potentiel entre les anomalies du MMC, l'HHCY associée et la MH.

La huntingtine mutée (mHTT), les anomalies du MMC et l'HHCY associée semblent agir de **manière synergique** et **délétère** sur plusieurs mécanismes cellulaires, notamment la stabilité génomique, le stress oxydant, le métabolisme mitochondrial et l'homéostasie neuronale. En effet, la mHTT et les défauts du MMC favorisent une **instabilité génomique** en affectant le métabolisme des acides nucléiques, depuis la synthèse des nucléotides jusqu'aux mécanismes de réparation de l'ADN. Les anomalies du MMC entraînent notamment un **défaut de synthèse des bases puriques** et **pyrimidiques** ainsi qu'un **déficit en donneur universel de méthyle** (SAM), conduisant à une instabilité chromosomique (Mellor et al. 2025).

La MH résulte d'une mutation caractérisée par une expansion anormale de triplets CAG au sein du gène *HTT*. Il a été montré dans la MH des **expansions somatiques de ce nombre de triplet** dans les tissus périphériques et centraux, **en particulier dans le striatum**. Ces expansions somatiques, étroitement associées à la progression de la maladie, sont principalement médiées par des **mécanismes de réparation de l'ADN** (Bates 2025). Les dommages à l'ADN induits par des altérations du MMC entraînent des cycles répétés de réparation, augmentant la probabilité d'erreurs au niveau des régions répétées, et pourraient ainsi accélérer la **dynamique des expansions somatiques et la progression de la maladie**.

À cette instabilité génomique s'ajoute un **stress oxydant prédominant**, alimenté par le caractère **pro-oxydant de l'HCY** ainsi que par une **altération de la protéostasie liée à la N-HCY** des protéines. La protéostasie est déjà fortement compromise par les inclusions de mHTT, mais également par un défaut de clairance via les systèmes ERAD et **l'autophagie**, résultant à la fois de l'action de la mHTT et de la **séquestration de protéines chaperonnes** (Hui Yang et al. 2010; Darrow et al. 2015). De plus, la synthèse du glutathion est altérée par l'interaction de la mHTT avec les enzymes de la voie de la transsulfuration (CBD et CSE), ainsi que par les anomalies du MMC, dont cette voie fait partie (Paul et al. 2022a).

Une **compensation par le métabolisme énergétique cellulaire apparaît limitée**, celui-ci étant lui-même altéré à la fois par la mHTT, par les anomalies du MMC et l'HHCY associée. La mHTT perturbe la **dynamique mitochondriale**, en favorisant une fragmentation excessive, en altérant les processus de fusion via son interaction avec DRP1 et en perturbant le transport mitochondrial, compromettant ainsi **l'homéostasie énergétique** (Sawant et al. 2021). Parallèlement, **le MMC et l'HHCY associée** contribuent à ces **dysfonctionnements mitochondriaux**, altérant la chaine respiratoire, notamment via la N-HCY du cytochrome c, la production d'ATP et potentialisant la fragmentation mitochondriale.

À ces altérations s'ajoute **l'impact direct de la mHTT sur la fonction neuronale** en affectant la maturation synaptique, la neurotransmission et en favorisant l'agrégation protéique cytotoxique. Ces processus interfèrent avec la transcription génique et le transport de l'ARN, contribuant ainsi à la **neurodégénérescence**. Par ailleurs, les anomalies du MMC et l'HHCY participent également à la **dysfonction neuronale**, notamment en augmentant les influx de Ca^{2+} et l'excitotoxicité, l'homocystéine agissant comme agoniste des récepteurs NMDA, perméables au calcium. La N-HCY de protéines impliquées dans le cytosquelette neuronal, la régulation du calcium, la communication synaptique, les récepteurs AMPA ou encore la différenciation neuronale perturbe la régulation calcique, la plasticité synaptique, le cytosquelette et le transport intracellulaire, favorisant ainsi **l'excitotoxicité**, les **processus neurodégénératifs** et les **dérégulations fonctionnelles associées**.

À l'interface entre la MH et le MMC se trouve la protéine **SIRT1**, dont l'activité est inhibée à la fois par la mHTT et par l'HHCY. Cette protéine se situe **en aval de nombreuses voies de signalisation**, notamment PGC1α, AMPK, FOXO et CREB, impliquées entre autres dans la régulation du stress oxydant — notamment via NRF2 —, la transcription de gènes de la **biogenèse mitochondriale**, l'expression d'enzymes de la synthèse lipidique et de la β-oxydation, ainsi que dans la régulation de la survie cellulaire, de la différenciation neuronale et du métabolisme énergétique. Ainsi, ces mécanismes, déjà altérés dans la MH, apparaissent d**'autant plus perturbés chez les patients atteints de MH présentant une anomalie du MMC et une HHCY associée**.

Dans leur ensemble, nos résultats mettent en évidence **la présence d'anomalies du MMC dans la MH** et suggèrent qu'elles **amplifient les effets délétères de la mHTT**, contribuant ainsi à l'**aggravation des symptômes et à progression plus rapide de la maladie**.

Ce nouvel angle d'étude de la MH ouvre des perspectives vers l'exploration **d'axes métaboliques émergents**, notamment les voies SIRT1/AMPK/PGC-1α/CREB. Il suggère également l'identification de **nouveaux biomarqueurs potentiels**, en particulier via des profils spécifiques de protéines N-HCY mesurables dans le sang, offrant ainsi de nouvelles possibilités pour le suivi de la maladie et le développement d'approches thérapeutiques visant à réduire l'HHCY et ses conséquences délétères.

Ces perspectives apparaissent d'autant plus pertinentes que les taux d'HCY et vitamines du groupe B ne font actuellement pas partie des paramètres biologiques systématiquement surveillés dans le suivi médical des patients atteints de la MH. Nos résultats pourraient ainsi encourager la mise en place d'un **dépistage précoce d'une éventuelle HHCY et/ou carence en vitamines B**, dès la phase présymptomatique, afin de prévenir une potentielle aggravation des symptômes **chez les individus porteurs de l'expansion pathologique**. Nos travaux suggèrent également que le dépistage du **polymorphisme *MTHFR*** pourrait présenter un intérêt clinique chez les patients atteints de la MH, en raison de sa fréquence allélique élevée (40 à 50 %). Bien que le portage hétérozygote soit généralement asymptomatique, nos résultats suggèrent qu'il est associé, chez les patients MH, à une HHCY, et pourrait ainsi représenter un **facteur de risque d'aggravation de la maladie**.

Dans cette optique, des stratégies thérapeutiques pourraient s'inscrire dans une approche complémentaire aux traitements déjà disponibles ou en cours de développement, notamment les **thérapies géniques ou les oligonucléotides antisens** (ASO). Une telle approche pourrait contribuer à retarder l'apparition des symptômes et à améliorer la prise en charge et le suivi des patients (**Figure 97**).

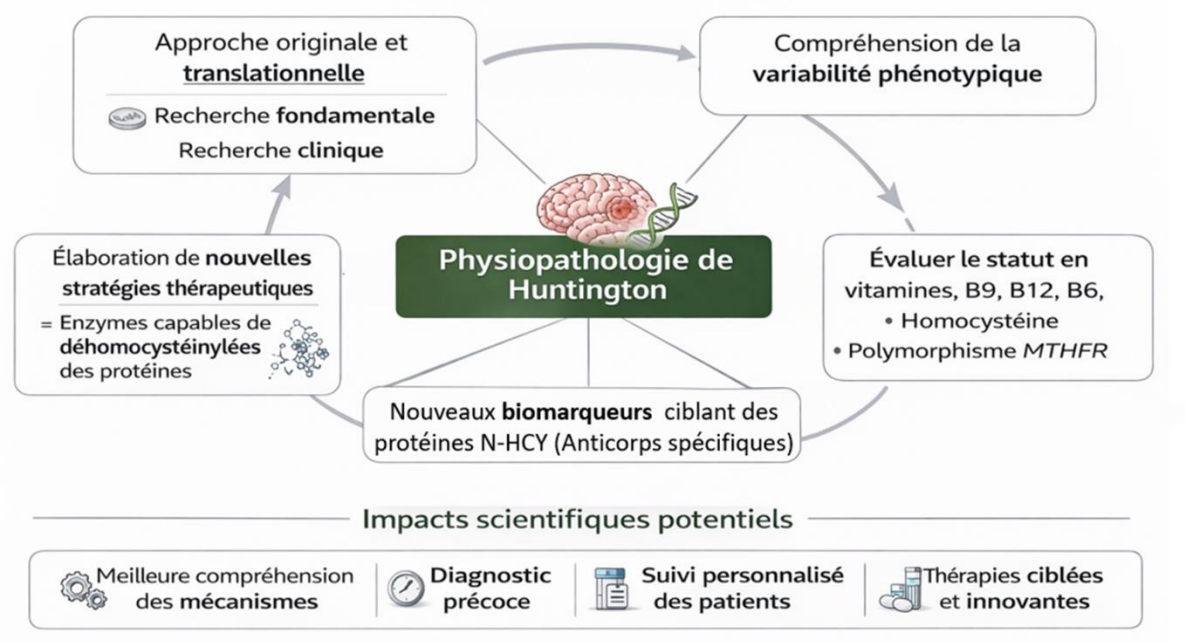


Figure 97 : Apports translationnels de l'étude du métabolisme des monocarbones dans la maladie de Huntington : de la compréhension physiopathologique aux perspectives diagnostiques et thérapeutiques. *Ce schéma synthétise les retombées translationnelles des travaux menés sur l'implication du métabolisme des monocarbones (MMC) dans la physiopathologie de la maladie de Huntington (MH). L'approche intégrative, combinant recherche fondamentale et clinique, met en évidence le rôle du MMC dans la variabilité phénotypique de la maladie. L'évaluation du statut métabolique des patients (vitamines B9, B12, B6, homocystéine) ainsi que l'identification de polymorphismes génétiques tels que MTHFR permettent d'affiner la compréhension des profils individuels. Ces travaux ouvrent la voie à l'identification de nouveaux biomarqueurs, notamment les protéines N-homocystéinylées (N-HCY), détectables par des outils spécifiques, et à l'élaboration de stratégies thérapeutiques innovantes visant à limiter la N-homocystéinylation ou à restaurer l'homéostasie du MMC. Dans ce contexte, le MMC apparaît comme un levier clé pour améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques, favoriser un diagnostic plus précoce, permettre un suivi personnalisé des patients et développer des thérapies ciblées dans la MH.*

Ainsi, le projet REDHUNT (Réduire les atteintes de la maladie de Huntington en ciblant les protéines N-HCY) s'inscrit dans ces objectifs. Ce projet reposera sur deux modèles expérimentaux : un modèle de neurones striataux différenciés à partir de cellules iPSC dérivées de fibroblastes de patients, ainsi que le modèle murin *HdhQ111* soumis à une carence en vitamines B9 et B12. Le développement d'anticorps spécifiques des formes N-HCY des protéines identifiées fera l'objet d'évaluations précliniques dans ces modèles.

À ce jour, aucune enzyme capable de reverser la N-HCY des protéines (dé-N-HCY) n'a été identifiée chez l'Homme. Cependant, des études récentes ont montré que la bactérie *Salmonella enterica* possède une enzyme, la sirtuine COB2, capable de dé-N-HCY les résidus lysine (Mei et al. 2016). L'analogue de cette sirtuine chez l'homme serait la désacétylase SIRT1, dont l'activité est impactée dans la MH et dans les anomalies du MMC. Dans cette perspective, un **activateur pharmacologique de SIRT1**, en cours d'évaluation au laboratoire, sera testé dans nos modèles cellulaires et murins de la maladie de Huntington afin d'en évaluer le potentiel thérapeutique. Par ailleurs, une approche combinée sera envisagée en ciblant également la **paraoxonase 1 (PON1**), enzyme capable de réduire les taux d'homocystéine-thiolactone et ainsi de **limiter la formation de protéines N-HCY** (Hieronim Jakubowski 2024b).

De plus, des études récentes ont mis en évidence un impact délétère de la maladie de Huntington **dès les stades précoces du neurodéveloppement** (Humbert et Barnat 2022; Braz et al. 2022). Ces altérations pourraient être initialement compensées par la plasticité cérébrale, jusqu'à son épuisement au cours du vieillissement, ce qui contribuerait à l'apparition tardive des symptômes caractéristiques de la maladie. Dans ce contexte, nous avons développé un modèle de carence gestationnelle en vitamines B9 et B12 chez la souris *HdhQ111*. Ce protocole comprend une **analyse cinétique du développement embryonnaire** avec des prélèvements d'embryons aux stades E12 et E19, certains ayant reçu une injection d'EdU afin de suivre la prolifération cellulaire et d'étudier les altérations neurodéveloppementales précoces. Après la naissance, les animaux sont répartis en deux groupes expérimentaux. Le premier groupe est soumis à une batterie de tests comportementaux précoces et sacrifié à J65 pour analyses tissulaires. Le suivi phénotypique permettra d'évaluer l'apparition éventuelle de symptômes précoces, ainsi que les altérations du MMC par une analyse métabolomique du plasma. Des analyses protéomiques, génomiques et métabolomiques seront également réalisées sur des microdissections de demi-cerveaux, complétées par des analyses histologiques visant notamment à détecter les protéines N-HCY et à caractériser les interactions de la HTT sur les coupes cérébrales.

Il est à noter qu'après le sevrage, les animaux reçoivent un régime alimentaire standard. Le second groupe suit le même protocole expérimental mais est sacrifié à l'âge de six mois, afin d'évaluer l'évolution des altérations au cours de la progression de la maladie.

Cette étude permettra ainsi de **confirmer les mécanismes liés à la maladie de Huntington** dès les **stades précoces du neurodéveloppement**, ainsi que la potentielle synergie délétère avec les altérations du MMC et l'HHCY associée.

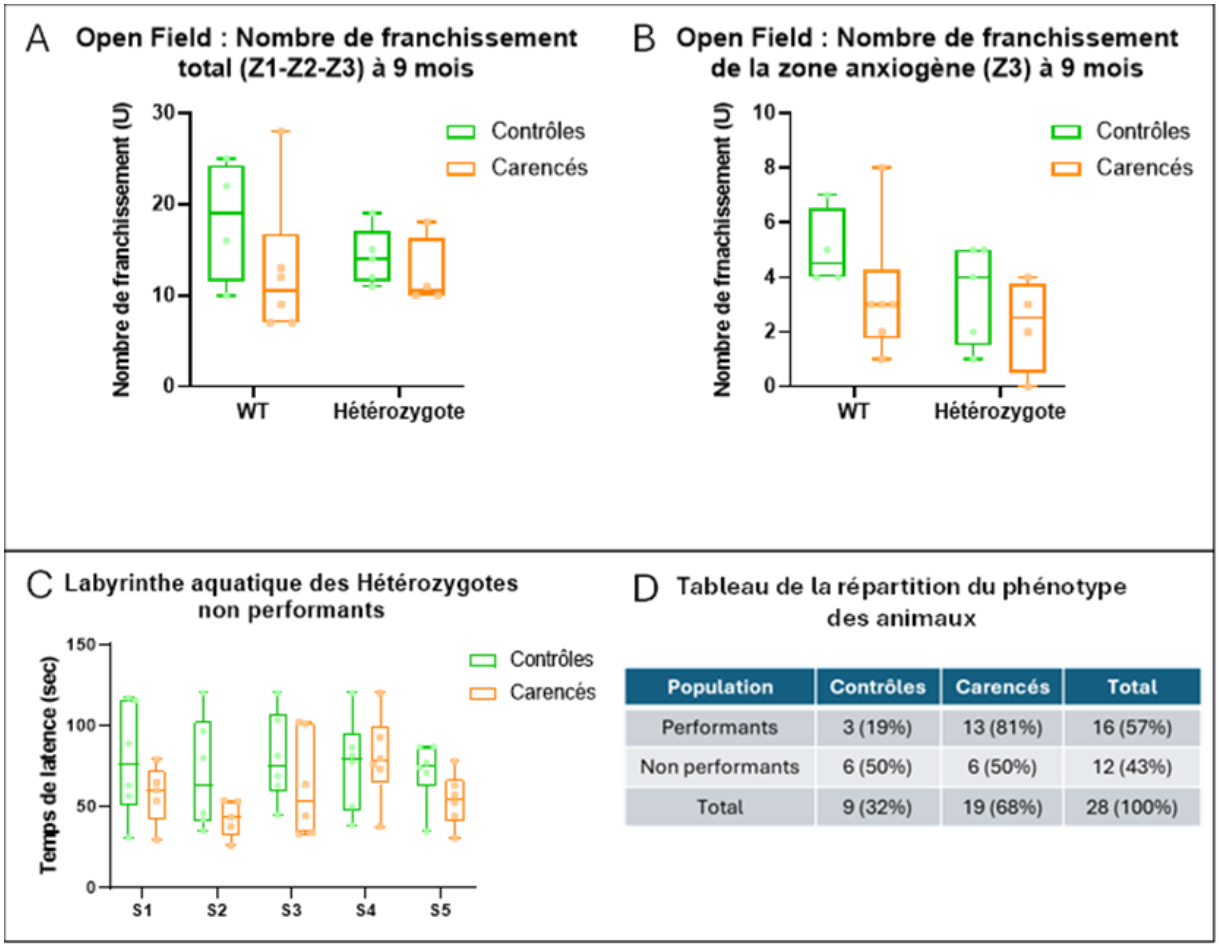
À terme, ce modèle pourrait également servir de plateforme pour l'évaluation de stratégies thérapeutiques, dans la continuité du projet REDHUNT si celui-ci se révèle concluant.

Annexes

I- Données supplémentaires :

A- Comportements modèle murin *HdhQ111*

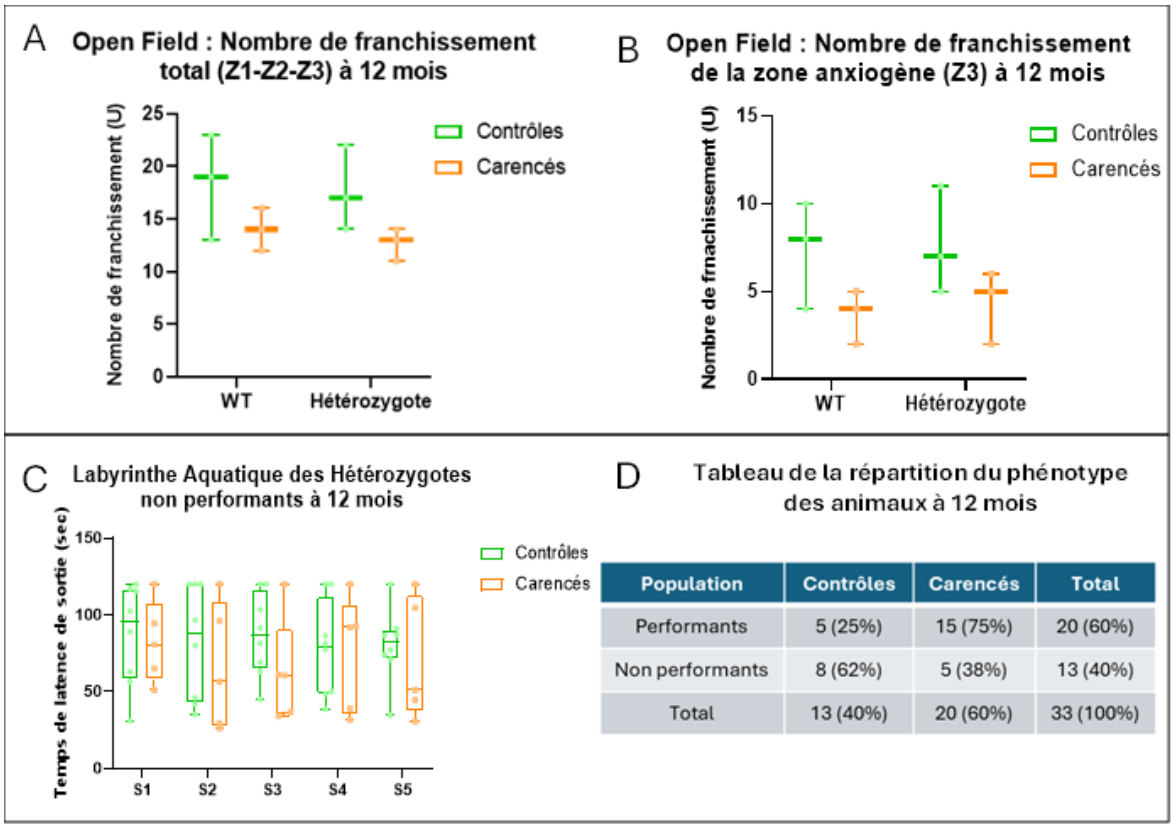
1- Profil comportemental complété des souris *HdhQ111* à 9 mois



Population	Contrôles	Carencés	Total
Performants	3 (19%)	13 (81%)	16 (57%)
Non performants	6 (50%)	6 (50%)	12 (43%)
Total	9 (32%)	19 (68%)	28 (100%)

Figure 98 : Etude comportementale complète des souris HdhQ111 à 9 mois. *(A-B) Résultats complémentaires du test d'Open Field pour suivre les symptômes moteurs. Nous montrons ici qu'à 9 mois d'âge les animaux ne présente pas de différence significative, ni en fonction du génotype ni en fonction du régime en ce qui concerne, le nombre de franchissement total (A) et le nombre de franchissement de la zone anxiogène (B). Ne mettant en avant aucune atteinte motrice à ce stade. Effectifs : WT contrôles : n=4, WT carencés : n=6, Het contrôles : n=5 et Het carencés : n=4. Analyses statistiques et graphique réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA). (C-D) Résultats complémentaires du test du labyrinthe aquatique utilisé pour suivre les symptômes cognitifs. Nous montrons ici que (C) les animaux hétérozygotes non performants ne montre pas de diminution du temps de latence de sortie au cours des sessions prouvant l'inefficacité d'apprentissage/mémorisation de ces animaux. (D) Le tableau présente les effectifs dans les différentes populations pour les hétérozygotes performants. Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA, *p-value<0.05, **p-value<0.01 et ***p-value<0.001).*

2- Profil comportemental complété des souris *HdhQ111* à 12 mois



Population	Contrôles	Carencés	Total
Performants	5 (25%)	15 (75%)	20 (60%)
Non performants	8 (62%)	5 (38%)	13 (40%)
Total	13 (40%)	20 (60%)	33 (100%)

Figure 99 : Etude comportementale complète des souris HdhQ111 à 12 mois. *(A-B) Résultats complémentaires du test d'Open Field pour suivre les symptômes moteurs. Nous montrons ici qu'à 12 mois d'âge les animaux ne présente pas de différence significative individuelle, surement dû à un effectif faible dans chaque groupe, ni en fonction du génotype ni en fonction du régime en ce qui concerne, le nombre de franchissement total (A) et le nombre de franchissement de la zone anxiogène (B). En revanche, l'analyse par Anova à deux facteurs a montré un effet global du régime pour le nombre de franchissement total, p=0.0478. De même, pour le nombre de franchissement de la zone anxiogène, p=0.0426. Mettant en avant un impact global du régime sur les performances motrices à ce stade. Effectifs : WT contrôles : n=3, WT carencés : n=3, Het contrôles : n=3 et Het carencés : n=3. Analyses statistiques et graphiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA). (C-D) Résultats complémentaires du test du labyrinthe aquatique utilisé pour suivre les symptômes cognitifs. Nous montrons ici que (C) les animaux hétérozygotes non performants ne montre pas de diminution du temps de latence de sortie au cours des sessions prouvant l'inefficacité d'apprentissage/mémorisation de ces animaux. (D) Le tableau présente les effectifs dans les différentes populations pour les hétérozygotes performants. Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA).*

3- Profil comportemental complété des souris *HdhQ111* à 15 mois

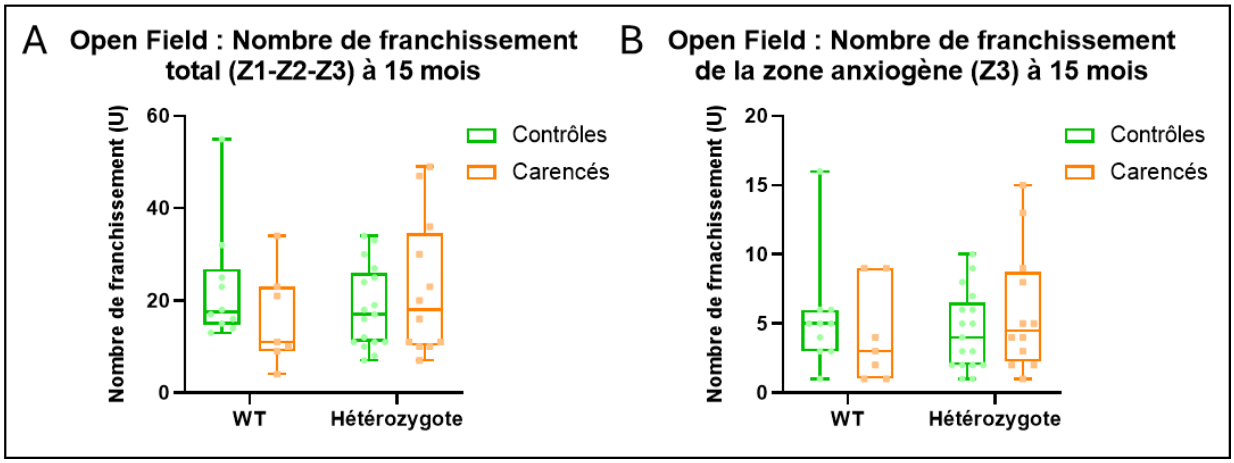


Figure 100 : Etude comportementale complète des souris HdhQ111 à 15 mois. *(A-B) Résultats complémentaires du test d'Open Field pour suivre les symptômes moteurs. Nous montrons ici qu'à 15 mois d'âge les animaux ne présente pas de différence significative, ni en fonction du génotype ni en fonction du régime en ce qui concerne, le nombre de franchissement total (A) et le nombre de franchissement de la zone anxiogène (B). Graphiques et statistiques réalisés sur GraphPad (Two-way ANOVA).*

B- Répartition des patients de la cohorte HO-HD

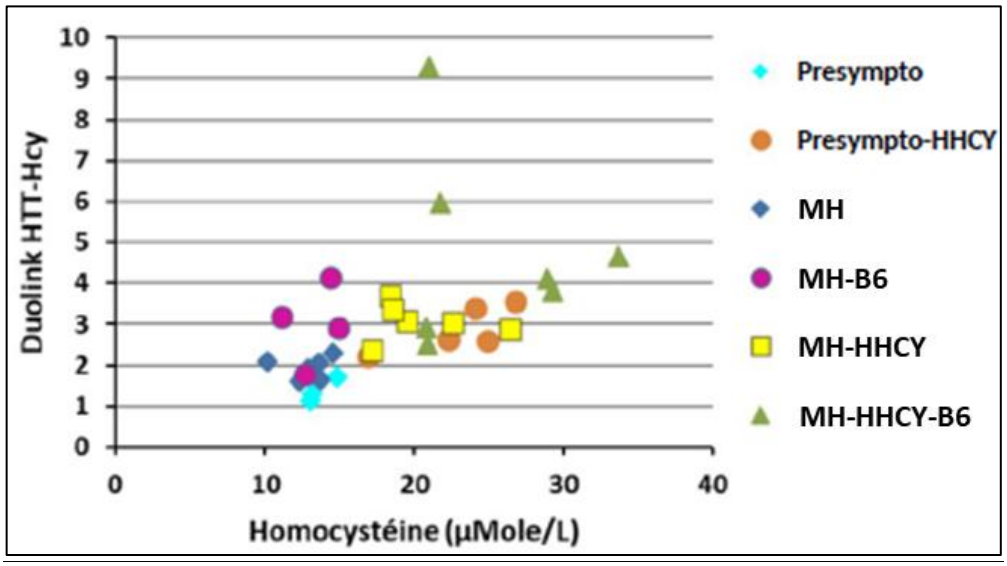


Figure 101 : Représentation de la relation entre les niveaux plasmatiques d'homocystéine (µmol/L) et la N-homocystéinylation de la HTT (Duolink HTT-HCY) chez les patients. *Chaque symbole correspond à un individu, coloré selon son statut biochimique : présymptomatique (bleu clair), présymptomatique avec hyperhomocystéinémie (orange), symptomatique (bleu foncé), symptomatique avec déficit en vitamine B6 (violet), symptomatique avec hyperhomocystéinémie (jaune) et symptomatique avec hyperhomocystéinémie et déficit en vitamine B6 (vert). Cette distribution met en évidence la variabilité interindividuelle et la tendance à une élévation concomitante de la N-homocystéinylation de la HTT et de l'homocystéinémie avec l'accumulation des anomalies biochimiques. Figure réalisée sur Excel.*

II- Fiches Méthodes :

A- Fiche 1 : Culture cellulaire

1- Culture quotidienne

Les cellules ont été cultivées dans du milieu DMEM-high glucose (Dulbecco's Modified Eagle Medium) contenant 4500mg/L de glucose (Sigma Aldrich, ref :D6429) que nous supplémentons avec 1% d'antibiotique : Streptomycine (Sigma Aldrich, ref :P4333) et Pénicilline (Sigma Aldrich, ref : S8636), 1% pyruvate (Sigma Aldrich, ref :1408) et 10% SVF (Sérum de Veau Fœtal) décomplémenté (Sigma Aldrich, ref : P30-3306). Ce milieu est changé deux fois par semaine. Les conditions d'incubation regroupent une atmosphère humide à 37°C et 5% de CO2. De manière quotidienne les cellules sont cultivées dans différentes tailles de boites de culture, T75 (75cm^2) ou T150 (150cm^2) en fonction des analyses qui suivent. On ne laisse pas les cellules excéder 80% de confluence pour éviter l'inhibition de contact.

2- Trypsination

- Retirer milieu de culture
- Rincer le tapis cellulaire avec du PBS 1X stérile
- Ajouter le bon volume de trypsine (Tableau 1)
- Incuber sous condition de culte pendant 7 minutes
- Inhiber l'action de la trypsine en ajoutant le bon volume de SVF ou de milieu de culture (Tableau 1)
- Réaliser une dizaine d'arc de cercle avec la suspension cellulaire afin de récolter un maximum de cellules
- Transférer la suspension cellulaire dans un Falcon 15 ou 50mL
- Centrifuger 5 minutes à 200g à T°C ambiante
- Eliminer le surnageant
- Resuspendre le culot cellulaire dans le volume de milieu adapté. Dilution au 1/3 voir au 1/6 pour les cellules de patients et minimum au 1/10 pour les HDFn

Support de culture	Surface en cm^2	DMEM (mL)	PBS 1X (mL)	Trypsine (mL)	Milieu de culture pour inactivation de la trypsine	SVF pour inactivation de la trypsine
24/4 puits	1.9	0.5	0.5	0.5	2.5	0.5
6 puits	9.6	3	1.5	0.5	2.5	0.5
T25	25	5	2.5	1	5	1
P100	57	10	5	2	10	2
T75	75	15	7.5	3	15	3
T150	150	25	12.5	6	30	6

Tableau 1 : Récapitulatif des différents volumes à utiliser en fonction du support de culture

3- Culots

Nous avions besoin de réaliser des culots pour la protéomique (T150), les RT-qPCR (T75) et le LCMS-MS (T75).

- Retirer milieu de culture
- Rincer le tapis cellulaire avec du PBS 1X stérile
- Ajouter le bon volume de trypsine (Tableau 1)
- Incuber sous condition de culte pendant 7 minutes
- Inhiber l'action de la trypsine en ajoutant le bon volume de SVF ou de milieu de culture (Tableau 1)
- Réaliser une dizaine d'arc de cercle avec la suspension cellulaire afin de récolter un maximum de cellules
- Transférer la suspension cellulaire dans un Falcon 15 ou 50mL
- Centrifuger 5 minutes à 200g à T°C ambiante
- Eliminer le surnageant
- Resuspendre le culot cellulaire dans 5 mL de PBS 1X stérile
- Centrifuger à 200g pendant 5 minutes à T°C ambiante
- Retirer le surnageant
- Resuspendre le culot dans 1 mL de PBS 1X stérile
- Transférer la suspension cellulaire dans un Eppendorf de 1.5 mL
- Centrifuger à 200g pendant 5 minutes à T°C ambiante
- Retirer le surnageant
- Congeler le culot cellulaire à -80°C

4- Congélation/décongélation

Congélation

- Trypsiner les cellules
- Reprendre le culot cellulaire dans 400 µL de DMEM-high glucose
- Transférere les 400 µL de suspension cellulaire dans un cryotube de 1 mL
- Ajouter goutte à goutte un mélange de 600 µL contenant 500 µL de SVF et 100 µL de DMSO (Sigma Aldrich, ref : D8418)
- Placer le cryotube dans une boite de congélation à isopropanol et placer la boite à -80°C pendant 24h
- Transférer le cryotube dans de l'azote liquide

Décongélation

- Déposer 12mL de DMEM-high glucose dans un tube Falcon de 15 mL
- Décongeler le cryotube par friction entre les mains jusqu'au dernier glaçon
- Décontaminer l'extérieur du tube à l'éthanol 70%
- Transférer la suspension cellulaire dans le Falcon
- Homogénéiser délicatement par retournement
- Centrifuger 5 minutes à 200g à T°C ambiante
- Eliminer le surnageant
- Reprendre le culot cellulaire dans le volume de milieu DMEM adapté au support de culture (Tableau 1)

B- Fiche 2 : Étude protéique (Plateforme ProFi – Strasbourg)

1- Extraction RIPA

- Travailler sur glace
- Décongeler l'aliquot de RIPA (Congélateur Immuno) et mettre la centrifugeuse à 4°C
- Reprendre le culot dans 300 µL de RIPA pour un culot de T150
- Lysé le culot cellulaire par broyage mécanique en utilisant une seringue de 1 mL et une aiguille 26G (15 A/R)
- 2*15 minutes d'ultrasons à 4°C (checker T°C de l'eau et ajouter qq glaçon si nécessaire)
- Centrifugé à 20 000g pendant 30 minutes à 4°C
- Récupérer le surnageant et l'homogénéiser
- Prélever 25 µL pour le dosage
- Conserver le tout à -80°C (y compris le culot afin de pouvoir refaire l'extraction si cette dernière n'a pas marché)

Réactif	Fournisseur	Référence	Masse molaire	Concentration d'utilisation
Chlorure de sodium (NaCl)	Sigma	S7653	58.44 g/mol	9 g/L
Igepal CA630	Sigma	I8896	603 g/mol	1%
Sodium DéoxyCholate (DOC)	Sigma	D6750	414.55 g/mol	0.5%
Sodium DodecylSulfate (SDS)	Sigma	L4509	288.38 g/mol	0.1%
Tris (Trizma) 50mM-HCl pH7.6	Sigma	93350	121.14 g/mol	5%
QSP le volume souhaité avec H2O MQ				

Tableau 2 : Composition du tampon RIPA

Il faut rajouter extemporanément :

Réactif	Fournisseur	Référence	Masse molaire	Concentration d'utilisation
Sodium orthovanadate (Na_3VO_4)	Sigma	S6508	183.91 g/mol	1%
Phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF)	Sigma	P7626	174.19 g/mol	1%
Protease Inhibitor Cocktail (PIC)	Sigma	P8340	Ready to use	1%

Tableau 3 : Inhibiteur de protéases et protecteur des modifications post-traductionnelles

2- Dosage : Méthode BCA Assay

- Préparer la gamme étalon qui doit être déposer en triplicats (préparer pour chaque dilution 100 µL) dans des Eppendorfs de 1.5mL

Concentration finale (µg/mL)	Volume de BSA (µL)	Volume de RIPA (µL)
0	0	25
96	1.2	23.8
200	2.5	22.5
400	5	20
800	1	15
1200	15	10
1600	20	5
2000	25	0

Tableau 4 : Réalisation de la gamme étalon de BSA

- Vortexer et centrifuger brièvement
- Diluer au 1/10 les échantillons (10 µL dans 90 µL de RIPA)
- Déposer en triplicat 25 µL de la gamme dans une plaque 96 puits
- Déposer ensuite en triplicat 25 µL de chaque échantillon
- Préparer de travail en mélangeant 50 volumes de réactif A (BCA) et 1 volume de réactif B ($CuSO_4$) (Interchim UP40840A)

Calcul du volume final de réactif de travail = gamme (8*3) + échantillons (nbr d'échantillons*3)
=x*200 µL (arrondir au chiffre au-dessus)
Calcul volume réactif A = volume réactif B*50
Calcul volume réactif B = Volume final / 51

- Répartir 200 µL de réactif de travail dans tous les puits utilisés
- Couvrir la plaque d'aluminium et incuber 30 minutes à 37°C
- Mesurer l'absorbance à 570nm sur un spectromètre

3- Conditionnement envoie protéomique

- Vérification que toutes les concentrations sont bien sup à 1 µg/µL
- Commande de carboglace
- Transport de tous les tubes en carboglace au centre de protéomique ProFi à Strasbourg

4- Analyse protéomique

Elle vise à identifier quantifier et caractériser les protéines dans l'échantillon concernant la N-HCY.
Elle se décompose en plusieurs étapes :

- La digestion des protéines-Préparation SP3 (Single-Plot Solid Phase-enhanced Sample Preparation). Cette étape est réalisée à 10 µg d'extrait protéique et de manière automatisé sur la plateforme Bravo AssayMap (Agilent). Elle réunit une réduction des protéines (12 mM de dithiothreitol (DTT) pendant 30 min à 37 °C) ainsi qu'une alkylation (40 mM d'iodoacétamide pendant 30 min à 25 °C). Cela permet de rompre les ponts disulfures et d'exposer les sites de digestion enzymatique dans un premier temps et d'empêcher la reconstitution de ces derniers en bloquant les

thiols libres. Les protéines sont ensuite précipitées et absorbées sur des billes magnétiques carboxylées (Sera-Mag Speed Beads no. 45152105050250 et 65152105050250, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). C'est une alternative sans colonne à la précipitation classique, les protéines sont fixées sur les billes et les contaminants restent en solution. Les billes ont été rajouté à un ratio 20:1 (v/v). Après fixation des protéines sur les billes avec 50% d'acétonitrile (ACN) pendant 8 min à RT, le surnageant est retiré puis les billes sont lavées plusieurs fois (80% éthanol suivi de 100% d'ACN) sur support magnétique. Les protéines fixées aux billes ont ensuite été remises en suspension dans une solution de bicarbonate d'ammonium 0,1 M avant une digestion enzymatique sur la nuit (rapport enzyme/protéine de 1:20) à 1 000 tr/min à 37 °C en utilisant un mélange de trypsine/Lys-C Mass Spec Grade (Promega, Madison, USA). La digestion a été stoppée par addition d'acide trifluoroacétique (TFA) pour atteindre un pH final < 2 pour inactiver l'action de la trypsine et précipiter les débris. Le pH acide permet de stabiliser les peptides et empêcher toute réaction d'oxydation ou d'échange de thiols. Le mélange de peptides est ensuite centrifugé et le surnageant est soumis à une étape de SPE (solide phase extraction) avec un protocole automatisé à l'aide de cartouche contenant une phase C18. Cette étape est nécessaire pour obtenir un échantillon pur compatible avec le LCMS-MS. Les échantillons ont ensuite été évaporés dans centrifugeuse sous vide pour être repris dans une solution 2% ACN, 0,1% FA pour être prêt à être injecter.

- **Analyse nanoLCMS-MS.** Pour chaque réplica, 1 µL (environ 360 ng de protéines) d'échantillon est prélevé et analysé par séparation chromatographique sur le système nanoElute (Bruker Daltonics) couplé à un spectromètre de masse timsTOF Pro 2 (Bruker Daltonics) équipé d'une source CaptiveSpray opérant en mode positif (1 600V, 180°C). Ce spectromètre de haute résolution avec séparation ionique Trapped Ion Mobility (TIMS) est excellent pour les modifications PTM. Les peptides ont été chargés sur une colonne de piégeage HPLC Acclaim™ PepMap™ 100 C18 (70 mm × 75 µm × 3 µm ; Thermo Fisher) avec 98 % de solvant A (H_2O, 0,1 % FA) et 2 % de solvant B (ACN, 0,1 % FA). La séparation a ensuite été réalisée sur une colonne Aurora Ultimate C18 (250 mm x 75 µm x 1,6 µm ; IonOpticks) à un débit de 200 nL/min avec un gradient allant de 2% à 95% de solvant B en 55 min. Les données de spectrométrie de masse ont été acquises en mode DIA (Data Independent Acquisition), se traduit par une capture systématique de toutes les fenêtres de masse, ici 29 fenêtres de 25 *m/z* et une gamme de masse allant de 100 à 1700 *m/z*, permettant une quantification robuste.

- **Traitements des données et analyse statistiques.** L'identification et la quantification des protéines a été effectuée avec le logiciel DIA-NN 2.2.0 Academia[i]. La base de données humaines utilisée, comprend les entrées humaines de UniProtKB/Swiss-Prot, soit 20 299 entrées (au 10 avril 2025). Les paramètres de recherche incluaient la trypsine comme enzyme, avec une tolérance de 2 sites de clivage manqué. L'oxydation de la méthionine et l'acétylation N-terminale des protéines ont été définies comme modifications variables, et la carbamidométhylation des cystéines comme modification fixe. La tolérance de masse a été fixée à 15 ppm pour les ions précurseurs et à 15 ppm pour les ions fragments, une longueur minimale de 7 AA était exigée. Les résultats d'identification ont été validés en appliquant un FDR<1% aux niveaux peptidique et protéique.

L'analyse différentielle des protéines a été réalisée avec le logiciel open-source ProStaR (v1.36.2)[ii]. Seules les protéines quantifiées dans au moins 80 % des échantillons d'une condition ont été conservées. Les intensités ont été transformées en $\log_2$, normalisées, puis les valeurs manquantes imputées. L'analyse différentielle a été réalisée à l'aide du test t de Limma, et les valeurs p ont été ajustées selon la procédure de Benjamini–Hochberg afin de contrôler le taux de fausses découvertes (FDR).

Sources :

[1] Müller, T.; Kalxdorf, M.; Longuespée, R.; Kazdal, D. N.; Stenzinger, A.; Krijgsveld, J. Automated sample preparation with SP3 for low-input clinical proteomics. *Molecular systems biology* **2020**, *16* (1), e9111. DOI: https://doi.org/10.15252/msb.20199111 (acccessed 2023/10/09).

[1] Demichev, V., Messner, C.B., Vernardis, S.I., Lilley, K.S., Ralser, M., 2020. DIA-NN: neural networks and interference correction enable deep proteome coverage in high throughput. Nat. Methods 17, 41–44. https://doi.org/10.1038/s41592-019-0638-x

[1] Wieczorek, S. *et al.* DAPAR & ProStaR: Software to perform statistical analyses in quantitative discovery proteomics. *Bioinformatics* **33**, 135–136. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw580 (2017).

C- Fiche 3 : Étude métabolomique

1- Extraction PBS 0.1X

- Travailler sur glace
- Préparer la volume adéquate de PBS 0.1X à partir du 1X stock (Congélateur Immuno) et mettre la centrifugeuse à 4°C
- Reprendre le culot dans 200 µL de RIPA pour un culot de T75 (environ 100 µL PBS 0.1X pour 10 µL de culot cellulaire)
- Lysé le culot cellulaire par broyage mécanique en utilisant une seringue de 1 mL et une aiguille 26G (15 A/R)
- 2*15 minutes d'ultrasons à 4°C (checker T°C de l'eau et ajouter qq glaçon si nécessaire)
- Centrifugé à 13 000g pendant 12 minutes à 4°C
- Récupérer le surnageant et l'homogénéiser
- Prélever 50 µL pour la manip et 25 µL pour le dosage
- Conserver le tout à -80°C (y compris le culot afin de pouvoir refaire l'extraction si cette dernière n'a pas marché)

2- Dosage : Méthode BCA Assay

- Préparer la gamme étalon qui doit être déposer en triplicats (préparer pour chaque dilution 100 µL) dans des Eppendorfs de 1.5mL

Concentration finale (µg/mL)	Volume de BSA (µL)	Volume de PBS 0.1X (µL)
0	0	25
96	1.2	23.8
200	2.5	22.5
400	5	20
800	1	15
1200	15	10
1600	20	5
2000	25	0

Tableau 5 : Réalisation de la gamme étalon de BSA

- Vortexer et centrifuger brièvement
- Diluer au 1/10 les échantillons (10 µL dans 90 µL de PBS 0.1X)
- Déposer en triplicat 25 µL de la gamme dans une plaque 96 puits
- Déposer ensuite en triplicats 25 µL de chaque échantillon
- Préparer de travail en mélangeant 50 volumes de réactif A (BCA) et 1 volume de réactif B ($CuSO_4$) (Interchim UP40840A)

Calcul du volume final de réactif de travail = gamme (8*3) + échantillons (nbr d'échantillons*3)
=x*200 µL (arrondir au chiffre au-dessus)
Calcul volume réactif A = volume réactif B*50
Calcul volume réactif B = Volume final / 51

- Répartir 200 µL de réactif de travail dans tous les puits utilisés
- Couvrir la plaque d'aluminium et incuber 30 minutes à 37°C
- Mesurer l'absorbance à 570nm sur un spectromètre

3- LCMS-MS

La chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LCMS-8045, Shimadzu) est une méthode analytique combinant la performance de la chromatographie liquide à un spectromètre de masse, permettant ainsi l'identification et/ou la quantification précise de divers composés comme des métabolites.

- Préparer le tube pour la gamme de standard dans un tube Eppendorf 1.5 mL

Standard	Fournisseur	Référence	Stock (nM)	Concentration (µM)	Volume (µL)
Homocystéine	Sigma	H-6010	1	10	10
Méthionine	Sigma	M-6039	20	75	3,75
SAM	Merck	A-7007	1	2,5	2,5
SAH	Merck	A-9384	0,5	0,5	1
Cystéine	Sigma	C-4022	30	60	2
Cystathionine	Merck	C-3633	1	75	75
Glutathion	Merck	G-4626	10	650	65
Diméthylglycine	Merck	D-6382	10	15	1,5
Choline	Merck	C-1879	10	40	4
Bétaine	Merck	B-2754	10	20	2
Glycine	Merck	G-7126	20	450	22,5
Sérine	Merck	S-4500	10	200	20
meTHF	Merck	AABH99A4341D	0,25	0,25	1
Acide folique	Sigma	F-7876	0,25	0,25	1
Glutamate	Sigma	G-1251	10	700	70
Volume de PBS 0.1 pour dilution					718.75

Tableau 6 : Préparation de la gamme de standard

- Préparer la gamme de standards internes dans un Eppendorf de 1.5 mL

Standard interne	Fournisseur	Référence	Stock (nM)	Concentration (µM)	Volume (µL)
D3-Méthionine	Cambridge Isotope laboratories	19I-0083	2	36	18
D3-SAM	LGC	TRC-A291532	1	16	16
D8-Homocystéine	Cambridge Isotope Laboratories	19K-0319	1	12	12
D3-SAH	LGC	TRC-A291532-1MG	0.5	6	12
D3-Sérine	Santa Cruz	70094-78-9	5	60	12
D9-Choline	Eurisotope	DLM-549-1	1	12	12
C13-meTHF	MedChemExpress	HY-110346S	0.25	4	12
D2-Cystéine	Cambridge Isotope Laboratories	19j-0657	1	15	15
D11-Bétaine	Cambridge Isotope Laboratories	20H-0554	5	60	12
QSP DTT/formate d'ammonium					879

Tableau 7 : Préparation des standards internes

- Préparer les tubes tel que :

	Blanc réactif	Blanc échantillon	Gamme standard 1-10	QC1 et QC2 (Contrôle externe de patients du CHU)	Echantillons
Volume échantillon ou gamme (µL)	50 µL H2O MQ	50 µL PBS 0.1X	50	50	50
Sta,dard interne (µL)	10µL DTT/Formate d'ammonium	10µL DTT/formate ammonium	10	10	10

Tableau 8 : Composition de chaque tube

- Vortexer les tubes et laisser incuber 10 minutes à T°C ambiante
- Ajouter dans chaque tube 60 µL de méthanol acidifié (acide formique 0.1%)
- Vortexer et incuber 30 minutes à 4°C
- Vortexer et centrifuger à 20000g à 4°C pendant 30 minutes
- Déposer 25 µL du surnageant en simplicat dans une plaque 96 puits
- Ajouter dans chaque puits un mélange H20 MQ/acide formique 1%
- Sceller la plaque et procéder à l'analyse

D- Fiche 4 : Immunocytochimie

1- Ensemencement Labtek

Ne pas oublier les trois témoins :
Témoins Autofluorescence (Pas d'anticorps primaire ni secondaire)
Témoin Anticorps secondaire rouge (Pas d'anticorps primaire mais anticorps secondaire rouge)
Témoin Anticorps secondaire vert (Pas d'anticorps primaire mais anticorps secondaire vert)

- Trypsiner les cellules
- Réaliser un comptage automatique au bleu de trypan
- Ensemencer $2*10^4$ cellules par puits dans un volume final de milieu de culture de 500mL
- Incuber 24h à 37°C et 5% de CO2

2- Jour 1

- Retirer le milieu de culture et laver deux fois au PBS 1X stérile
- Sous une hotte chimique déposer 200 µL de PFA 4% (Sigma Aldrich, 818715) dans chaque puits et incuber 10 minutes à T°C ambiante
- Laver trois fois 5 minutes avec du PBS 1X sous agitation
- Ajouter 200 µL de solution de perméabilisation (0.01% Triton v/v dans PBS 1X) et incuber 10 minutes à T°C ambiante sous agitation
- Laver 3 fois 5 minutes au PBS 1X sous agitation
- Bloquer avec BSA 1% (m/v) pendant 1h à T°C ambiante sous agitation
- Diluer les anticorps primaires dans la BSA 1% et déposer 40 µL dans chaque puits

Anticorps primaires	Référence	Dilution	Espèce
HTT	MAB2166 Merki Millipore	1/200ème	Souris
HCY	CliniSciences AP02035SU-N	1/500ème	Lapin

Tableau 9 : Dilution des anticorps primaires pour l'ICF

- Incuber overnight à 4°C sous agitation

3- Jour 2

- Laver trois fois 5 minutes au PBS1X
- Diluer les anticorps secondaires au 1/1000 dans la BSA 1% et déposer 40 µL dans chaque puits

Anticorps secondaire	Référence	Dilution	Espèce
Anti-souris AlexaFluor 488	A11008 Jackson ImmunoResearch	1/1000	Souris
Anti-lapin AlexaFluor 594	A11005 Jackson ImmunoResearch	1/1000	Lapin

Tableau 10 : Dilution des anticorps secondaires pour l'ICF

- Incuber protéger de la lumière pendant 1h à T°C ambiante sous agitation
- Laver trois fois 5 minutes au PBS 1X sous agitation
- Diluer le DAPI au 1/3000 dans l'H2O MQ
- Incuber 10 minutes à T°C ambiante protéger du noir et sous agitation
- Laver trois fois pendant 5 minutes au PBS 1X sous agitation
- Rincer à l'eau distillée
- Monter les lames avec le liquide de montage Fluoromount (Fluoromount-GTM, Invitrogent, Paisley, United Kingdom, Ref : 00-4958-02)
- Laisser sécher à 4°C overnight

4- Microscopie

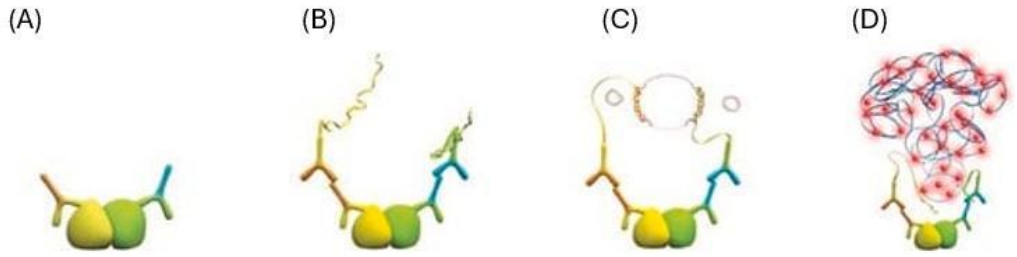
Le laboratoire possède un microscope confocal Nikon Eclipse C2 utilisable avec le logiciel NIS-ELEMENT pour l'acquisition des images. Nous prenons les images au grossissement x60 (immersion huile). La microscopie confocale est une technique d'imagerie optique qui utilise un système de focalisation et un petit diaphragme (pinhole) pour éliminer la lumière parasite provenant des plans hors foyer. Un faisceau laser balaie l'échantillon point par point et enregistre uniquement la lumière issue du plan focal choisi. Cela permet d'obtenir des images très nette, avec une meilleure résolution et un contraste supérieur à de la microscopie épifluorescence par exemple. La vitesse de scan de notre confocal est de ¼ de frame par seconde, une résolution de 2048*2048 et une calibration de 0.03 µm/pixel.

Dans un premier temps la mise au point est faite sur le noyau grâce au marquage au DAPI. Le laser bleu permet une excitation à 408 nm et l'émission se fait à 420 nm. Une fois les noyaux mis au point, nous paramétrons la fenêtre de prise d'image pour les stacks. En effet pour nous permettre de maximiser nos chances de visualiser un maximum de spots au sein de l'entièreté des cellules nous avons choisis de prendre 10 photos et de travailler avec les MaxIP plutôt que de prendre une photo d'un seul plan. Ainsi on définit la fenêtre avec la première photo prise sous le noyau et la dernière prise sous le noyau. Pour se faire il faut définir le plan avec la meilleure mise au point des noyau comme plan du milieu, ensuite changer de plan focal, en se déplaçant en Z vers le bas, jusqu'à faire disparaitre les noyaux, ce qui définira la première photo. Il faut ensuite reproduire la même chose mais en se déplaçant en Z vers le haut jusqu'à faire disparaitre une nouvelle fois les noyaux et ainsi définir la dernière photo. Une fois cette fenêtre définie, le logiciel nous propose un nombre de photos prise au sein de la fenêtre définie. Par défaut nous avons choisis de prendre quoi qu'il arrive 10 photos. Cela nous permet d'obtenir 10 « frames » et nous permettre de faire une MaxIP, c'est-à-dire une condensation des 10 photos en ne retenant que les pixels les plus intenses.

L’homocystéine est marque en rouge avec une excitation laser à 554 nm et une émission captée à 576 nm. La huntingtine est marqué en vert avec une excitation laser à 488 nm et une émission captée entre 500 et 530 nm. Les témoins sont d’abord shootés afin de définir la valeur de temps d’exposition pour laquelle nous voyons du bruit de fond. Ainsi les puits des patients devront être shooter à une valeur inférieure à cette dernière. Par puits, nous avons choisi de prendre en photo 5 zones différentes, dans les 4 coins et une au centre.

E- Fiche 5 : Proximity Ligation Assay (PLA) – Duolink ®

Le Duolink® est une technique permettant la détection, la localisation et la quantification des interactions entre 2 protéines d'intérêt ou des modifications post-traductionnelles, méthylation, acétylation et dans notre cas N-homocystéinylation. Le principe est basé sur l'utilisation d'anticorps secondaires qui reconnaissent des anticorps primaires qui eux-mêmes reconnaissent les cibles d'intérêt. La particularité est que les anticorps secondaires sont couplés à des séquences d'oligonucléotides complémentaires constituant les sondes PLA (Proximity Ligation Assay). Il existe une sonde dite « + » et une sonde dite « - ». Ainsi, les séquences pourront s'hybrider dans le cas où les protéines étudiées sont à moins de 40 nm de distance. Cette séquence double brin sert ensuite de support à l'ADN polymérase qui, par ajout d'oligonucléotides marqués, permettra la visualisation de l'interaction sous forme de « spot » rouge par microscopie. Un spot représente une interaction protéine/protéine, ou protéine/modification post-traductionnelle.



1- Préparation des tampons de lavage

Tampon de Lavage A			
Réactif	Fournisseur	Référence	Volume (mL) ou masse (g)
NaCl (1.5M)	Sigma Aldrich	S-9888	8.8
Tris (200mM)	Sigma Aldrich	T-6066	1.2
Tween 20	Sigma Aldrich	P-1379	0.5
QSP 1L H20 MQ avec pH=7.4 à ajuster avec HCl			

Tampon de Lavage B			
Réactif	Fournisseur	Référence	Volume (mL) ou masse (g)
NaCl (1.5M)	Sigma Aldrich	S-9888	28.44
Tris (200mM)	Sigma Aldrich	T-6066	5.84
QSP 1L H20 MQ avec pH=7.5 à ajuster avec HCl			

Tableau 11 : Préparation des solutions de lavage du Duolink®

2- **Ensemencement des Lab-tek®** (Lab-tek® II CC^2 ™ Chamber Slide™ system, ThermoFisher, 154941)

- Trypsiner les cellules
- Réaliser un comptage automatique au bleu de trypan
- Ensemencer 2*10^4 cellules par puits dans un volume final de milieu de culture de 500mL
  Attention bien penser aux témoins qui sont réaliser sur les cellules contrôles (HDFn)
  T1 : Témoin sans anticorps primaires et sans sondes PLA
  T2 : Témoin sans anticorps primaires avec les sondes PLA
  T3 : Témoin anticorps primaire n°1 avec sondes PLA
  T4 : Témoin anticorps primaires n°2 avec sondes PLA
- Incuber 24h en condition de culture

3- Jour 1

- Retirer le milieu de culture et laver deux fois au PBS 1X stérile
- Sous une hotte chimique déposer 200 µL de PFA 4% (Sigma Aldrich, 818715) dans chaque puits et incuber 10 minutes à T°C ambiante
- Laver trois fois 5 minutes avec du PBS 1X sous agitation
- Ajouter 200 µL de solution de perméabilisation (0.01% Triton v/v dans PBS 1X) et incuber 10 minutes à T°C ambiante sous agitation
- Laver 3 fois 5 minutes au PBS 1X sous agitation
- Déposer 200 µL dans la solution de blocage fourni par le kit Duolink® (Sigma Aldrich, DUO92004/DUO92002) pendant 1h à T°C ambiante sous agitation
- Les anticorps primaires sont dilués dans la solution fournie par le kit Duolink® puis 40 µL sont déposer dans les puits correspondant pour une incubation overnight à 4°C sous agitation

Anticorps primaire	Référence	Dilution	Espèce
HTT	Merck Millipore Ref : MAB2166	1/200	Souris
CBS	ABCAM Ref : AB96252-1001	1/400	Lapin
CSE	Proteintech Ref : 12217-1-AP	1/200	Lapin
SP1	Novus Biologicals Ref : NB600-233	1/400	Lapin
HCY	OriGene Ref : AP02035SU-N	1/750	Lapin

Tableau 11 : Dilution des anticorps primaires utilisés pour le Duolink®

4- Jour 2

- Laver deux fois 5 minutes avec le tampon A à T°C ambiante sous agitation
- Diluer les sondes PLA au 1/5 dans la solution de dilution du kit Duolink®
- Déposer 40 µL et incuber 1h à 37°C
- Laver deux fois 5 minutes avec le tampon A à T°C ambiante sous agitation
- Préparer le tampon de ligation (Kit Duolink® TM In Situ Detection Reagents Orange, Sigma- Aldrich Saint Quentin Fallavier, France) dilué au 1/5 dans H20 MQ
- Diluer la ligase au 1/40 dans le tampon préparé et déposer 40 µL dans chaque puits
- Incuber 30 minutes à 37°C sous agitation
- Laver deux fois 2 minutes avec le tampon A à T°C ambiante sous agitation
- Diluer le tampon d'amplification du kit au 1/5 dans l'H2O MQ et diluer ensuite la polymérase au 1/80 dans ce tampon
- Déposer 40 µL dans chaque puits et incuber protéger de la lumière 1h40 à 37°C sous agitation
- Laver deux fois 10 minutes au tampon B à T°C ambiante sous agitation
- Laver une fois 1 minute au Tampon B 0.01X à T°C ambiante
- Préparer la solution de DAPI (Santa Cruz Biotechnology, sc-300415) dilué au 1/3000 dans H2O MQ
- Déposer 200 µL de la solution de DAPI pendant 10 minutes à T°C ambiante sou agitation
- Laver deux fois 10 minutes avec le tampon A à T°C ambiante sous agitation
- Rincer à l'H20 MQ
- Monter les lames grâce au liquide de montage (Fluoromount GTM, Invitrogent, Paisley, United Kingdom, Ref : 00-4958-02)
- Laisser sécher overnight à 4°C

5- Microscopie

Le laboratoire possède un microscope confocal Nikon Eclipse C2 utilisable avec le logiciel NIS-ELEMENT pour l'acquisition des images. Nous prenons les images au grossissement x60 (immersion huile). La microscopie confocale est une technique d'imagerie optique qui utilise un système de focalisation et un petit diaphragme (pinhole) pour éliminer la lumière parasite provenant des plans hors foyer. Un faisceau laser balaie l'échantillon point par point et enregistre uniquement la lumière issue du plan focal choisi. Cela permet d'obtenir des images très nette, avec une meilleure résolution et un contraste supérieur à de la microscopie épifluorescence par exemple. La vitesse de scan de notre confocal est de ¼ de frame par seconde, une résolution de 2048*2048 et une calibration de 0.03 µm/pixel.

Dans un premier temps la mise au point est faite sur le noyau grâce au marquage au DAPI. Le laser bleu permet une excitation à 408 nm et l'émission se fait à 420 nm. Une fois les noyaux mis au point, nous paramétrons la fenêtre de prise d'image pour les stacks. En effet pour nous permettre de maximiser nos chances de visualiser un maximum de spots au sein de l'entièreté des cellules nous avons choisis de prendre 10 photos et de travailler avec les MaxIP plutôt que de prendre une photo d'un seul plan. Ainsi on définit la fenêtre avec la première photo prise sous le noyau et la dernière prise sous le noyau. Pour se faire il faut définir le plan avec la meilleure mise au point des noyau comme plan du milieu, ensuite changer de plan focal, en se déplaçant en Z vers le bas, jusqu'à faire disparaitre les noyaux, ce qui définira la première photo. Il faut ensuite reproduire la même chose mais en se déplaçant en Z vers le haut jusqu'à faire disparaitre une nouvelle fois les noyaux et ainsi définir la dernière photo. Une fois cette fenêtre définie, le logiciel nous propose un nombre de photos prise au sein de la fenêtre définie. Par défaut nous avons choisis de prendre quoi qu'il arrive 10 photos. Cela nous permet d'obtenir 10 « frames » et nous permettre de faire une MaxIP, c'est-à-dire une condensation des 10 photos en ne retenant que les pixels les plus intenses.

Les spots sont marqués en rouge avec une excitation laser à 554 nm et une émission captée à 576 nm. Les témoins sont d'abord shootés afin de valider la manip, car tous les témoins doivent être négatifs mais également pour définir la valeur de temps d'exposition pour laquelle nous voyons du bruit de fond. Ainsi les puits des patients devront être shooter à une valeur inférieure à cette dernière. Par puits, nous avons choisi de prendre en photo 5 zones différentes, dans les 4 coins et une au centre.

F- Fiche 6 : Analyses des agrégats cellulaires – Proteostat ®

La détection des agrégats protéiques est réalisée grâce au kit Proteostat® Aggregasome Detection (PROTEOSTAT® Aggresome Detection Kit, Enzo Life Science, Ref : ENZ-51035-K100), couplée à une immunofluorescence contre l'HCY afin de visualiser la colocalisation entre l'HCY (en vert) et les agrégats protéiques (en rouge). Le kit Proteostat® contient un réactif de détection, qui est un colorant fluorescent à rotation conformationnelle. Cela signifie qu'en solution, sa structure lui permet une rotation libre autour d'une liaison centrale, ce qui empêche l'émission de fluorescence. En revanche, lorsqu'il s'intercale spécifiquement dans les structures quaternaires riches en feuillets β croisés, caractéristiques des protéines mal repliées et agrégées, cette rotation est bloquée, entraînant une émission fluorescente rouge.

1- **Ensemencement des Lab-tek®** (Lab-tek® II CC^2 ™ Chamber Slide™ system, ThermoFisher, 154941)

- Trypsiner les cellules
- Réaliser un comptage automatique au bleu de trypan
- Ensemencer 2*10^4 cellules par puits dans un volume final de milieu de culture de 500mL
  Attention bien penser aux témoins qui sont réaliser sur les cellules contrôles (HDFn)
  T- : Cellules HDFn sans traitement
  T+ : Cellules HDFn avec traitement pendnat 24h avec 100 µM de MG-132 (inhibiteur de protéasome fourni dans le kit)

2- Jour 1 : Imunnocytofluorescence HCY

- Retirer le milieu de culture et laver deux fois au PBS 1X stérile
- Sous une hotte chimique déposer 200 µL de PFA 4% (Sigma Aldrich, 818715) dans chaque puits et incuber 10 minutes à T°C ambiante
- Laver trois fois 5 minutes avec du PBS 1X à T°C ambiante sous agitation
- Ajouter 200 µL de solution de perméabilisation (0.01% Triton v/v dans PBS 1X) et incuber 10 minutes à T°C ambiante sous agitation
- Laver 3 fois 5 minutes au PBS 1X à T°C ambiante sous agitation
- Bloquer avec une solution de BSA 5% (m/v) et 5% SVF (v/v) dans du PBS1X
- Déposer 200 µL dans chaque puits et incuber 1h à T°C ambiante sous agitation
- Diluer l'anticorps primaire de l'HCY dans la solution de blocage au 1/750
- Déposer 40 µL dans chaque puits
- Incubation overnight à 4°C sous agitation

3- Jour 2

- Laver trois fois pendant 5 minutes au PBS 1X à T°C ambiante sous agitation
- Diluer l'anticorps secondaire au 1/1000 dans la solution de blocage
- Déposer 40 µL dans chaque puits et incuber protéger de la lumière 1h à T°C ambiante sous agitation
- Marquage PROTEOSTAT® : déposer 200 µL de solution de détection du kit et incuber 3 minutes protéger du noir sous agitation
  T- : ne pas ajouter la solution PROTEOSTAT® dans la solution de détection

Solution	Composition
Solution de détection Proteostat®	Pour 1mL d'Assay Buffer fourni par le kit : - 2µL de solution PROTEOSTAT® - 1µL de Hoechst

Tableau 12 : Composition de la solution de détection du kit PROTEOSTAT®

- Laver deux fois 55 minutes avec du PBS 1X
- Monter les lames grâce au liquide de montage (Fluoromount GTM, Invitrogen, Paisley, United Kingdom, Ref : 00-4958-02)
- Laisser sécher overnight à 4°C

4- Microscopie

Le laboratoire possède un microscope confocal Nikon Eclipse C2 utilisable avec le logiciel NIS-ELEMENT pour l'acquisition des images. Nous prenons les images au grossissement x60 (immersion huile). La microscopie confocale est une technique d'imagerie optique qui utilise un système de focalisation et un petit diaphragme (pinhole) pour éliminer la lumière parasite provenant des plans hors foyer. Un faisceau laser balaie l'échantillon point par point et enregistre uniquement la lumière issue du plan focal choisi. Cela permet d'obtenir des images très nette, avec une meilleure résolution et un contraste supérieur à de la microscopie épifluorescence par exemple. La vitesse de scan de notre confocal est de ¼ de frame par seconde, une résolution de 2048*2048 et une calibration de 0.03 µm/pixel.

Dans un premier temps la mise au point est faite sur le noyau grâce au marquage au DAPI. Le laser bleu permet une excitation à 408 nm et l'émission se fait à 420 nm. Une fois les noyaux mis au point, nous paramétrons la fenêtre de prise d'image pour les stacks. En effet pour nous permettre de maximiser nos chances de visualiser un maximum de spots au sein de l'entièreté des cellules nous avons choisis de prendre 10 photos et de travailler avec les MaxIP plutôt que de prendre une photo d'un seul plan. Ainsi on définit la fenêtre avec la première photo prise sous le noyau et la dernière prise sous le noyau. Pour se faire il faut définir le plan avec la meilleure mise au point des noyau

comme plan du milieu, ensuite changer de plan focal, en se déplaçant en Z vers le bas, jusqu'à faire disparaitre les noyaux, ce qui définira la première photo. Il faut ensuite reproduire la même chose mais en se déplaçant en Z vers le haut jusqu'à faire disparaitre une nouvelle fois les noyaux et ainsi définir la dernière photo. Une fois cette fenêtre définie, le logiciel nous propose un nombre de photos prise au sein de la fenêtre définie. Par défaut nous avons choisis de prendre quoi qu'il arrive 10 photos. Cela nous permet d'obtenir 10 « frames » et nous permettre de faire une MaxIP, c'est-à-dire une condensation des 10 photos en ne retenant que les pixels les plus intenses.

Les agregasomes sont marqués en rouge avec une excitation laser à 554 nm et une émission captée à 576 nm. L'homocystéine est marqué en vert avec une excitation laser à 488 nm et une émission captée entre 500 et 530 nm. Les témoins sont d'abord shootés afin de définir la valeur de temps d'exposition pour laquelle nous voyons du bruit de fond. Ainsi les puits des patients devront être shooter à une valeur inférieure à cette dernière. Par puits, nous avons choisi de prendre en photo 5 zones différentes, dans les 4 coins et une au centre.

G- Fiche 7 : RT-qPCR

1- Extraction des ARN totaux : NucleoSpin® RNA Plus (Macherey- Nagel, Hoerdt, France, réf. : 740984.50)

- Travailler à T°C ambiante
- Ajouter 350 µL du tampon de lyse (tampon LBP)
- Filtrer les 350 µL à l'aide d'une colonne (NucleoSpin® gDNA Removal Column)
- Centrifuger à 11 000g pendant 30 secondes
- Eliminer la colonne et ajouter 100 µL de la solution BS
- Filtrer la solution à l'aide d'une nouvelle colonne
- Centrifuger à 11 000g pendant 30 secondes
- Laver avec 100 µL de tampon WB1 (Wash Buffer 1)
- Centrifuger à 11 000g pendant 30 secondes
- Laver avec 600 µL de tampon WB2 (Wash Buffer 2)
- Centrifuger à 11 000g pendant 30 secondes
- Laver avec 250 µL de tampon WB2
- Centrifuger à 11 000g pendant 2 minutes
- Ajouter 30 µL d'eau RNAse free
- Centrifuger à 11 000g pendant 1 minute
- Ajouter 30 µL d'eau RNAse free
- Centrifuger à 11 000g pendant 1 minute
- Conserver sur glace si le dosage est effectué directement après sino -80°C

2- Quantification et vérification de l'intégrité des ARN

La quantification des ARN est réalisée par mesure de l'absorbance au spectromètre NanoDrop™.
La vérification de ARN se fait par électrophorèse d'agarose.

- Peser la masse d'agarose
  - Petit gel = 40mL TAE 1X + 0,4g agarose
  - Grand gel = 90mL TAE 1X + 0,9g agarose
- Ajouter le TAE 1x
- Placer l'erlenmeyer dans le micro-onde, et chauffer jusqu'à ébullition de la solution. Mélanger avec précaution et vérifier que la poudre soit totalement dissoute. Si cela n'est pas le cas recommencer l'étape 4 au début.
- Attendre 2-3min afin de laisser refroidir la solution (jusque 50-60°C).
- Pendant ce temps, vérifier que le système de coulage soit de niveau, préparer le rack et le peigne voulu. Monter le système de coulage.
- Ajouter 5µL d'intercalant directement dans l'erlenmeyer (pour vérif amorce → midori green). Mélanger manuellement. Eliminer le cône de pipetage dans le seau à toxiques solides.
- Verser la solution dans le système. Vérifier qu'il n'y a aucune fuite et aucune bulle (surtout au niveau du peigne et sur le « chemin » des acides nucléiques). La polymérisation de l'agar prend 10-30min.
- Pendant ce temps, préparer les échantillons
  - Dénaturer les échantillons à 70°C pendant 2min dans un thermocycleur (PAS POUR VERIF AMORCE)

- Ajouter le tampon de charge Formule Sigma (POUR VERIF AMORCE → bleu de bromophénol sur la paillasse)
- Régler la migration à 90V constant. Ne pas régler l'ampérage. Régler le temps de migration désiré → 60-80min
- Révéler

3- Rétrotranscription (kit PrimerScript™ RT Master Mix)

!!! L'ensemble des étapes est réalisé sur glace !!!

- Préparer les échantillons et des témoins :
  - Echantillons HO-HD + HDFn
  - Témoin non RT : Echantillons HO-HD + HDFn non RT
  - Témoin réactif RT
- Pipeter le volume nécessaire pour travailler avec 500ng d'ARN
- Ajouter 8µL de mix RT
- La réaction est ensuite réalisée selon 2 étapes dans un thermocycleur :
  - 15min à 37°C pour la rétrotranscription.
  - 5sec à 85°C pour inactiver la rétrotranscriptase

4- Gamme étalon : vérification des amorces (optionnel)

Préparer une gamme de dilution en cascade pour l'échantillon

- 2µL ADNc + 8µL H2O → faire 5 tubes en cascade
- Ne pas oublier de faire le témoin de l'échantillon non RT → 2µL ADNc + 8µL H2O (pas cascade)

5- qPRC (kit TB Green™ Premix Ex Taq™)

!!! Chaque lignée cellulaire est déposée en **triplicats** pour chaque gène étudié !!!
!!! Les témoins RT et PCR sont déposés chacun dans **un puit** !!!

- Calculer le nombre de puits au total et prendre une marge pour faire le master mix (MM)
  Sachant que pour 1 puit :
  - 12,5µL de SYBR
  - 0,5µL de F primer
  - 0,5µL de R primer
  - 9,5µL d'H2O
- Ajouter dans chaque puit 2µL d'échantillons + 23µL MM (donc au total → 25µL)
- ATTENTION AU TEMOIN → ne pas mettre d'échantillons dans témoin réactif qPCR ni témoin réactif RT
- Recouvrir la plaque d'un film puis centrifuger
- Placer la plaque dans le thermocycleur CFX96
  - Chauffage des échantillons à 95°C pendant 30sec = activation de l'enzyme
  - 40 cycles de PCR (5sec à 95°C puis 30sec à 60°C) = amplification des ADNc
  - Courbe de fusion = dénaturation lente des amplicons de 50°C à 95°C = permet de vérifier qu'il n'y a qu'1 seul produit de PCR amplifié

6- Vérification des dimères d'amorces et taille du fragment amplifié

- Faire un gel d'agarose 2%
  - Petit gel = 40mL TAE 1X + 0,8g agarose
  - Grand gel = 90mL TAE 1X + 1,8g agarose
- Pour la suite → voir gel de vérification des ARN, mais ici ajouter **5µL de Midori Green**
- NE PAS OUBLIER DE DEPOSER LE MARQUEUR DE POIDS MOLECULAIRE (frigo)

7- Exemple de plan de plaque

CSE CBS HTT TBP

1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif RT	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif RT
1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif Qpcr	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif Qpcr
1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Ech non RT	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Ech non RT
1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif RT	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif RT
1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif Qpcr	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Réactif Qpcr
1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Ech non RT	1/5	1/25	1/125	1/625	1/3125	Ech non RT

H- Fiche 8 : Protocol Animal de carence adulte – Modèle *HdhQ111*

1- Présentation du modèle

Nous avons choisi de travailler avec un modèle murin de la maladie de Huntington, le modèle CD1 *HdhQ111*. Ce modèle est un modèle knock-in de l'exon 1 du gène de la huntingtine humaine avec 111 répétitions de triplets CAG. Ce modèle a été construit en utilisant un vecteur viral (herpès)contenant des gènes de résistance à la néomycine et à la thymidine kinase ainsi que 111 répétitions de triplets CAG a été utilisé pour muter l'exon 1 humain du gène de la huntingtine. La construction a été électroporée dans 129 cellules souches embryonnaires (ES) R1 dérivées. Des cellules ES correctement ciblées ont été injectées dans les blastocystes receveurs. Les animaux mâles chimériques résultants ont été croisés avec des souris CD1, puis rétrocroisés à C57BL/6J pendant 6 générations. Nous avons pu travailler sur ce modèle via notre collaboration avec Sandrine Humbert et Frédéric Saudou de l'Institut des Neurosciences de Grenoble.

Nous avons choisi de ne considérer dans notre étude que les animaux wild-type et hétérozygotes et nous avons poolés les mâles et les femelles. Dans chaque groupe génétique nous avons soumis une partie des animaux à un régime carencé en vitamine B9 et B12 à l'âge adulte. En effet cette carence commence dès le sevrage et permet la mise en place une hyperhomocystéinémie. Tous les animaux suivront une batterie de tests comportementaux.

D'un point de vue global, les tests comportementaux utilisés lors du suivi longitudinal des souris Htt, sont des tests standardisés grâce notamment au monitoring video-tracking (View-Point, Lyon, France). Leur mise en œuvre a été réalisé selon des conditions déjà publiées à de nombreuses reprises dans les thématiques des neurosciences fonctionnelles. En fonction de l'âges des souris et des conditions environnementales ponctuelles au laboratoire (travaux, bruits excessifs…), tous les effectifs de souris initialement prévus pour les tests n'ont pas pu réaliser tous les tests à chaque fois, aussi, les effectifs peuvent varier au cours du suivi longitudinal, test par test. Quel que soit l'âge des souris, lorsqu'un paramètre ne montre pas de différences statistiques en fonction du sexe, les résultats obtenus par les mâles et les femelles ont été poolés au sein du même groupe expérimental. Plusieurs paramètres sont mesurés lors des tests standardisés, mais seul les paramètres qui présentent une significativité sont présentés en résultats.

Les tests de l'échelle linéaire pour la motricité et la coordination des mouvements et le test du labyrinthe en croix surélevé n'ont pas donné de résultats significatifs solides ni en fonction du génotype, ni en fonction du régime alimentaire ou du sexe.

2- Explication du protocole (Saisine : #25227-2020)

Les premiers tests comportementaux sont les tests précoces : test de retournement, de géotaxie négative et d'homing. Suivent le test de suspension, de l'échelle linéaire, la discrimination olfactive, l'open fied, l'EPM, le test social, la nage forcée et enfin le labyrinthe aquatique.

Reflexe de retournement :

Ce test est réalisé à J5, J7 et J9. Les petits sont placés un par un sur le dos en position allongée sur une surface plane et nous mesurons le temps nécessaire à l'individus pour reprendre une position quadrupède. En général, quelques dizaines de secondes suffisent, avec en plus une diminution de ce temps en fonction de l'avancée en âge des individus. Ainsi, un temps maximum pour réaliser le test est fixé à 120 secondes.

Géotaxie négative :

Ce test est réalisé à J5, J7 et J9. Les jeunes individus sont testés un à un. Les individus sont placés délicatement sur leurs quatre pattes en position « tête en bas » et maintenus par l'expérimentateur sur une surface plane inclinée à 20% ; idéalement recouverte de feutrine. Sans latence, les individus sont lâchés et laissés libres de leur mouvement et un chronomètre est déclenché. Le temps nécessaire pour reprendre une position « tête en haut » sur le plan incliné (alignement du museau jusqu'au bas du dos) est mesuré. En général, quelques dizaines de secondes suffisent, avec en plus une diminution de ce temps en fonction de l'avancée en âge des individus. Ainsi, un temps maximum pour réaliser le test est fixé à 120 secondes.

Test de suspension :

Nous avons choisi de réalisé le test à J16, J18 et J20. Le dispositif est une barre métallique de 1 mm de diamètre fixée à deux portiques latéraux et positionnée à 50 cm de la surface de la paillasse. Une épaisseur de mousse ou de coton est positionnée largement sous la barre pour réceptionner délicatement les souris qui chuteraient. Au moment du test, la barre est présentée à chaque individu positionné au centre de celle-ci. L'individu est lâché et le temps de suspension est mesuré.

Test de l’échelle linéaire :

Le test de marche linéaire est base sur le déplacement linéaire sur des barreaux disposés horizontalement entre deux murs, l’un opaque, l’autre transparent permettant le vidéotracking. Le dispositif est un couloir (de 10cm de large) délimité par deux murs verticaux d’une hauteur suffisamment haute pour (i) ne pas que l’animal puisse s’échapper par le dessus et (ii) pouvoir créer un vide sous les barreaux d’au minimum une quarantaine de cm. L’un des murs est opaque de couleur adaptée au contraste du pelage des animaux (sombre pour un animal blanc, ou inversement) et l’autre est transparent pour pourvoir observer l’animal latéralement. Des barreaux en métal lisse sont positionnés dans des trous percés dans les murs. Les individus sont testés un à un. Un individu est déposé à une extrémité du couloir de barreaux et est laissé libre de ses mouvements. A l'autre extrémité est positionnée une boîte contenant de la litière issue de la boîte d'hébergement de chaque individu. Trois passages d'habituation sont réalisés avant le test réel. Le temps total mis pour parcourir l'échelle est mesuré, ainsi que le nombre de fois où l'individu trébuche ; c'est à dire que le système de vidéotracking enregistre le passage des pattes sous les barreaux de l'échelle linéaire.

Homing :

Ce test est composé d’un couloir de progression opaque et haut de 10 cm. La zone de départ se situe au centre du couloir tandis qu'aux 2 extrémités du couloir deux zones d’arrivée sont définies. Dans chacune de ces zones d’arrivée est déposée une quantité équivalente de litière soit fraîche, soit provenant de la cage maternelle d’élevage des jeunes individus testés. La répartition des deux types de litière est aléatoire (droite ou gauche en fonction des passages). Ce test est effectué à J11, J15 et J19. Au moment du test, chaque zone d’arrivée reçoit la même quantité de litière soit fraiche, soit appartenant à la boite d’élevage de l’individu testé. Chaque individu est déposé au centre du couloir et il est laissé libre de ces mouvements pendant un temps maximum de 5 minutes. Le labyrinthe est débarrassé de la litière et nettoyé à l’alcool 30% entre chaque souris, puis l'alcool est éliminé en passant un chiffon humide sur la zone de test. Les paramètres enregistrés sont la latence d’entrée dans le compartiment proche de la litière connue (entrée avec les quatre pattes dans le compartiment) et le nombre d’erreurs (entrée avec les quatre pattes dans le bras contenant la litière fraîche ou dans une zone déjà emprunté qualifier de « retour en arrière »). Si l’animal n’a pas rejoint le compartiment contenant litière connue dans le temps imparti, le maximum de temps lui est attribué (5 min).

Discrimination olfactive :

Le parcours est caractérisé par un couloir de progression opaque et haut de 10 cm. La zone de départ se situe au centre du couloir tandis qu'aux 2 extrémités du couloir deux zones d'arrivée sont définies. Dans chacune de ces zones d'arrivée est déposée 10µl d'une substance (soit l'odeur de rose, soit l'odeur de citron). Dans la majorité des cas, les souris s'éloignent des odeurs non familières et le choix des deux odeurs précédemment citées évite l'utilisation de composés clairement répulsifs selon la littérature (comme le TMT ou le toluène) mais qui présente des effets toxiques pour les souris et pour l'expérimentateur. Nous avons choisi d'effectuer ce test ponctuellement à J26. Chaque individu est déposé au centre du couloir et il est laissé libre de ces mouvements pendant un temps maximum de 5 minutes. Le labyrinthe est débarrassé de la litière et nettoyé à l'alcool 30% entre chaque souris, puis l'alcool est éliminé en passant un chiffon humide sur la zone de test. Les paramètres enregistrés sont les temps de présence dans les différentes zones proches ou éloignées de l'odeur (entrée avec les quatre pattes dans le compartiment).

Labyrinthe aquatique :

Le fait de considérer un environnement aquatique permet de maintenir une bonne motivation chez les individus et de se passer du nettoyage minutieux du dispositif entre chaque individu. D'autre part, les rongeurs sont à l'aise dans l'eau ; la seule précaution à respecter avec les souris est le maintien de la température de l'eau autour de 24 à 25 °C. De plus certaines souches de souris nagent moins bien que d'autres et il faut éviter une contrainte trop importante lors de la nage, sinon les résultats sont biaisés par la qualité de nage et l'on ne teste plus seulement les capacités mnésiques. De ce fait, pour les souris en général, le labyrinthe est utilisé en "pseudo-nage"; c'est à dire que les souris peuvent prendre appui au fond (= niveau d'eau faible, environ 2 à 4 cm; d'où proposition en classe légère). Le parcours du labyrinthe est caractérisé par un couloir de progression composé par l'enchainement linéaire de plusieurs labyrinthes en T « imbriqués » les uns dans les autres. A l'une des extrémités, la zone de départ est déterminée alors qu'à l'autre extrémité, la zone d'arrivée ou de « sortie » du labyrinthe est définie. En général, 5 à 10 labyrinthes en T sont associés pour construire le parcours global. Ce parcours définit donc un tracé « idéal » dans lequel les individus ont une utilisation optimale de leurs ressources et des accès en « cul-de-sac » dans lesquels les individus perdent de l'efficacité comportementale.

Afin de conserver une motivation optimale homogène chez tous les individus d'une étude, il est nécessaire de procéder à une habituation préalable au test (sans la totalité des « cul-de-sac ») pour que les individus prennent connaissance du dispositif (environnement aquatique, murs verticaux…) et de la possibilité de s'échapper par une voie unique (« sortie ») qui les ramène vers une cage d'élevage usuelle (+litière chauffée par cordon chauffant). Cette phase d'habituation se déroulera à partir de J35, selon 2 jours consécutifs (notés j-2 et j-1), juste avant le début de la phase d'apprentissage (noté j1). La phase d'apprentissage enregistrée se déroule sur 5 jours consécutifs (de J39 à J43) avec 2 passages par jours pour chaque individu. L'enregistrement est réalisé par un système de vidéo-tracking et les paramètres sont le temps total pour trouver la sortie, le nombre d'erreurs commises (culs-de-sac et retours en arrière).

Nage forcée :

Ce test est une modification du test originel de la "Nage forcée " encore appelé "Porsolt test". Les modifications apportées permettent de limiter l'apparition de l'anxiété, du stress et de l'inconfort global associés au test originel. Ce test s'effectue en déposant un individu adulte dans un contenant rempli d'eau (hauteur d'eau de 25 cm et diamètre 25 cm pour une souris) tempérée à 24 / 25 °C. Cependant alors que le test originel laissait l'individu s'épuiser à la nage, avant de renoncer, puis d'éventuellement montrer des indices de noyade avec des individus laissés souvent plus de 10min, nous avons volontairement réduit les conditions de ce test. Nous proposons ce test avec un temps maximum de 5 min (car certaines souris nagent sans arrêt pendant 5 min avec un taux de flottaison très élevé). Nous chronométrons les temps cumulés d'arrêt de nage et la latence d'apparition du premier arrêt. Ces deux paramètres peuvent donner déjà des indices de renoncement précoce ou tardif dont la littérature présente comme des indices de "depressive-like behavior". A aucun moment les marqueurs de noyade ne sont enregistrés ni même attendus. Si un individu présente des difficultés de nage manifestes, il est retiré immédiatement du test. Dans la grande majorité des cas, les souris sèches (issues de leur boîte d'hébergement) flottent très bien et ni leur tête ni leur dos ne sont mouillés. La ligne des oreilles représente même une limite maximum au-dessus de laquelle l'eau ne doit pas aller sous peine de retirer la souris du test. Cette modification est suffisante pour obtenir des résultats nets sur 5 minutes maximum (ex : latence d'arrêt de 1min + temps total d'arrêt >3min versus 2,5min et <1min). Ce test délicat sera effectué par un chercheur neurocomportementaliste expérimenté.

Open Field

Ce test sera effectué à J21, les individus sont testés un à un. Le dispositif se compose d'une arène circulaire de 1 m de diamètre et dont la hauteur des murs est de 35 cm. Le sol est constitué d'une plaque en verre sur laquelle a été dessiné au milieu un cercle dit central de 50 cm laissant apparaitre entre ce cercle et les murs du dispositif un deuxième cercle dit périphérique de 100 cm. Plusieurs lignes radiales traversent les deux zones divisant la surface de l'arène en 8 quartiers centraux et 8 quartiers périphériques. Les animaux testés sont délicatement placés au milieu du dispositif et l'explorent librement pendant un temps fixé (généralement entre 2 et 10 minutes en fonction de l'âge). Le dispositif est nettoyé à l'alcool 30% entre chaque souris. Les paramètres mesurés sont le nombre d'entrée dans les quartiers périphériques et centraux (quatre pattes dans le quartier) ainsi que le nombre de redressement (les deux pattes antérieures décollées du sol et les deux pattes postérieures au sol).

EPM

Le dispositif est un labyrinthe simple formant une croix à 4 branches organisées en angles droits. Deux des branches, opposées l'une de l'autre, possèdent des murs verticaux (dits « protecteurs ») opaques ou non selon le protocole utilisé. Les deux autres branches ne sont constituées que du chemin de progression (non protégées). Le chemin de progression est habituellement large de 8 à 10cm, alors que chaque branche est longue de 40 à 50cm. Les murs doivent être suffisamment hauts pour que les individus ne puissent voir ou s'échapper au-dessus de ceux-ci. Au centre de la croix matérialisée par les quatre branches est délimitée une zone en forme de carré dite zone neutre ou zone de choix où les individus s'orientent vers une branche libre ou protégée. Cette zone est aussi utilisée pour déposer chaque individu au début de chaque test. Le test se déroule en une seule phase, à J22 dans ce protocole expérimental. Chaque animal est déposé au centre du dispositif (généralement face à une branche non protégée) et est laissé libre de ces mouvements pendant un temps déterminé (généralement 5min). Les paramètres enregistrés sont le nombre d'entrées et le temps passé dans chaque branche. Pour une analyse ultérieure plus fine, chaque branche peut être considérée selon deux demi-zones. D'autres items comportementaux éthologiques peuvent être relevés comme le temps et le nombre de freezing (immobilité totale de l'individu), le nombre de redressements, le nombre de regards dans le vide (head deeping). L'acquisition des paramètres peut se faire manuellement, mais l'utilisation d'un système de Videotracking est plus précise, plus standardisé et apporte une quantité supérieure de variables caractérisant les fonctions nerveuses mises en jeu.

Test social de type « résident-intrus »

Pour ce test, un animal dit résident est isolé dans sa cage d'habitation 48h avant le déroulement du test de manière à s'approprier sa cage en tant que territoire. La litière ne doit pas être changée au cours de cette période de manière à garantir la présence des signaux olfactifs marqueurs de ce territoire lié au résident. Le jour du test, une souris inconnue du résident de même âge et de même sexe provenant d'une cage contenant 2 animaux est introduit dans la cage du résident. Les interactions sociales entre les 2 animaux seront caractérisées et quantifiées pendant une période de 5 minutes d'observation. Les souris d'une autre boîte d'hébergement seront utilisées comme intrus. Si des combats trop importants survenaient, les souris seraient séparées et le test stoppé avec comptabilisation d'un tel évènement.

3- Mise à mort et prélèvements

Nous souhaitons prélever régulièrement des échantillons de sang afin de mesurer les paramètres biochimiques circulant, à un rythme d'un prélèvement par mois à partir du sevrage. Les animaux seront anesthésiés sous isoflurane 2,5%/air et 6 gouttes de sang seront récupérées après perforation de la veine sous-mandibulaire. L'écoulement sera stoppé rapidement par compression au moyen d'un coton-tige. L'animal sera redéposé dans sa boîte d'hébergement pour observation pendant quelques minutes afin de s'assurer de l'absence d'hémorragie.

Les animaux sont mis à mort à la fin du protocole ou après atteinte d'un point limite, par décapitation après anesthésie à l'isoflurane 2.5% air. Lors de la mise à mort un dernier prélèvement sanguin est réalisé et le foie et le cerveau sont prélevés. Pour le cerveau, la moitié sera inclus en paraffine pour les manips d'immunohistochimie et l'autre moitié sera microdisséquée pour isoler, le cortex frontal, le striatum, l'hippocampe, l'hypothalamus, le cervelet, le tronc cérébral et le reste du cerveau.

I- Fiche 9 : Etude protéomique dans le cortex *HdhQ111*

1- Broyage :

- Transférer le cortex congelé dans un tube 2mL (Transférer les tissus dans les tubes 2mL (MP biomedicals, ref INCA116913050, lysing matrix D)
- Ajouter 5 fois le volume de PBS 0.1X (250uL/50mg)
- Lyser broyeur Fastprep (MP Biomedicals, INOTREM) en alternant 3 cycles 20 sec (vitesse 5000rpm) avec 1 passage de 2 minutes dans la glace

2- Extraction RIPA

- Travailler sur glace
- Décongeler l'aliquot de RIPA (Congélateur Immuno) et mettre la centrifugeuse à 4°C
- Prélever 100 µL de broyat
- Ajouter 100 µL de RIPA (ne pas oublier les inhibiteurs)
- 2*15 minutes d'ultrasons à 4°C (checker T°C de l'eau et ajouter qq glaçon si nécessaire)
- Centrifugé à 20 000g pendant 30 minutes à 4°C
- Récupérer le surnageant et l'homogénéiser
- Prélever 10 µL pour le dosage
- Conserver le tout à -80°C (y compris le culot afin de pouvoir refaire l'extraction si cette dernière n'a pas marché)

Réactif	Fournisseur	Référence	Masse molaire	Concentration d'utilisation
Chlorure de sodium (NaCl)	Sigma	S7653	58.44 g/mol	9 g/L
Igepal CA630	Sigma	I8896	603 g/mol	1%
Sodium DéoxyCholate (DOC)	Sigma	D6750	414.55 g/mol	0.5%
Sodium DodecylSulfate (SDS)	Sigma	L4509	288.38 g/mol	0.1%
Tris (Trizma) 50mM-HCl pH7.6	Sigma	93350	121.14 g/mol	5%
QSP le volume souhaité avec H2O MQ				

Tableau 2 : Composition du tampon RIPA

Il faut rajouter extemporanément :

Réactif	Fournisseur	Référence	Masse molaire	Concentration d'utilisation
Sodium orthovanadate (Na_3VO_4)	Sigma	S6508	183.91 g/mol	1%
Phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF)	Sigma	P7626	174.19 g/mol	1%
Protease Inhibitor Cocktail (PIC)	Sigma	P8340	Ready to use	1%

Tableau 3 : Inhibiteur de protéases et protecteur des modifications post-traductionnelles

3- Dosage : Méthode BCA Assay

- Préparer la gamme étalon qui doit être déposer en triplicats (préparer pour chaque dilution 100 µL) dans des Eppendorfs de 1.5mL

Concentration finale (µg/mL)	Volume de BSA (µL)	Volume de RIPA (µL)
0	0	25
96	1.2	23.8
200	2.5	22.5
400	5	20
800	1	15
1200	15	10
1600	20	5
2000	25	0

Tableau 4 : Réalisation de la gamme étalon de BSA

- Vortexer et centrifuger brièvement
- Diluer au 1/10 les échantillons (10 µL dans 90 µL de RIPA)
- Déposer en triplicat 25 µL de la gamme dans une plaque 96 puits
- Déposer ensuite en triplicat 25 µL de chaque échantillon
- Préparer de travail en mélangeant 50 volumes de réactif A (BCA) et 1 volume de réactif B ($CuSO_4$) (Interchim UP40840A)

Calcul du volume final de réactif de travail = gamme (8*3) + échantillons (nbr d'échantillons*3)
=x*200 µL (arrondir au chiffre au-dessus)
Calcul volume réactif A = volume réactif B*50
Calcul volume réactif B = Volume final / 51

- Répartir 200 µL de réactif de travail dans tous les puits utilisés
- Couvrir la plaque d'aluminium et incuber 30 minutes à 37°C
- Mesurer l'absorbance à 570nm sur un spectromètre

4- Conditionnement envoie protéomique

- Vérification que toutes les concentrations sont bien sup à 1 µg/µL
- Commande de carboglace
- Transport de tous les tubes en carboglace au centre de protéomique ProFi à Strasbourg

5- Analyse protéomique

Elle vise à identifier quantifier et caractériser les protéines dans l'échantillon concernant la N-HCY.
Elle se décompose en plusieurs étapes :

La digestion des protéines-Préparation SP3 (Single-Plot Solid Phase-enhanced Sample Preparation)

Cette étape est réalisée à 10 µg d'extrait protéique et de manière automatisé sur la plateforme Bravo AssayMap (Agilent). Elle réunit une réduction des protéines (12 mM de dithiothreitol (DTT) pendant 30 min à 37 °C) ainsi qu'une alkylation (40 mM d'iodoacétamide pendant 30 min à 25 °C). Cela permet de rompre les ponts disulfures et d'exposer les sites de digestion enzymatique dans un premier temps et d'empêcher la reconstitution de ces derniers en bloquant les thiols libres. Les

protéines sont ensuite précipitées et absorbées sur des billes magnétiques carboxylées (Sera-Mag Speed Beads no. 45152105050250 et 65152105050250, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). C'est une alternative sans colonne à la précipitation classique, les protéines sont fixées sur les billes et les contaminants restent en solution. Les billes ont été rajouté à un ratio 20:1 (v/v). Après fixation des protéines sur les billes avec 50% d'acétonitrile (ACN) pendant 8 min à RT, le surnageant est retiré puis les billes sont lavées plusieurs fois (80% éthanol suivi de 100% d'ACN) sur support magnétique. Les protéines fixées aux billes ont ensuite été remises en suspension dans une solution de bicarbonate d'ammonium 0,1 M avant une digestion enzymatique sur la nuit (rapport enzyme/protéine de 1:20) à 1 000 tr/min à 37 °C en utilisant un mélange de trypsine/Lys-C Mass Spec Grade (Promega, Madison, USA). La digestion a été stoppée par addition d'acide trifluoroacétique (TFA) pour atteindre un pH final < 2 pour inacttiver l'action de la trypsine et précipiter les débris. Le pH acide permet de stabiliser les peptides et empêcher toute réaction d'oxydation ou d'échange de thiols. Le mélange de peptides est ensuite centrifugé et le surnageant est soumis à une étape de SPE (solide phase extraction) avec un protocole automatisé à l'aide de cartouche contenant une phase C18. Cette étape est nécessaire pour obtenir un échantillon pur compatible avec le LCMS-MS. Les échantillons ont ensuite été évaporés dans centrifugeuse sous vide pour être repris dans une solution 2% ACN, 0,1% FA pour être prêt à être injecter.

Analyse nanoLCMS-MS

Pour chaque réplica, 1 µL (environ 360 ng de protéines) d'échantillon est prélevé et analysé par séparation chromatographique sur le système nanoElute (Bruker Daltonics) couplé à un spectromètre de masse timsTOF Pro 2 (Bruker Daltonics) équipé d'une source CaptiveSpray opérant en mode positif (1 600V, 180°C). Ce spectromètre de haute résolution avec séparation ionique Trapped Ion Mobility (TIMS) est excellent pour les modifications PTM. Les peptides ont été chargés sur une colonne de piégeage HPLC Acclaim™ PepMap™ 100 C18 (70 mm × 75 µm × 3 µm ; Thermo Fisher) avec 98 % de solvant A (H_2O, 0,1 % FA) et 2 % de solvant B (ACN, 0,1 % FA). La séparation a ensuite été réalisée sur une colonne Aurora Ultimate C18 (250 mm x 75 µm x 1,6 µm ; IonOpticks) à un débit de 200 nL/min avec un gradient allant de 2% à 95% de solvant B en 55 min. Les données de spectrométrie de masse ont été acquises en mode DIA (Data Independent Acquisition), se traduit par une capture systématique de toutes les fenêtres de masse, ici 29 fenêtres de 25 m/z et une gamme de masse allant de 100 à 1700 m/z, permettant une quantification robuste.

Traitements des données et analyse statistiques

L'identification et la quantification des protéines a été effectuée avec le logiciel DIA-NN 2.2.0 Academia. La base de données humaines utilisée, comprend les entrées humaines de UniProtKB/Swiss-Prot, soit 20 299 entrées (au 10 avril 2025). Les paramètres de recherche incluaient la trypsine comme enzyme, avec une tolérance de 2 sites de clivage manqué. L'oxydation de la méthionine et l'acétylation N-terminale des protéines ont été définies comme modifications variables, et la carbamidométhylation des cystéines comme modification fixe. La tolérance de masse a été fixée à 15 ppm pour les ions précurseurs et à 15 ppm pour les ions fragments, une longueur minimale de 7 AA était exigée. Les résultats d'identification ont été validés en appliquant un FDR<1% aux niveaux peptidique et protéique.

L'analyse différentielle des protéines a été réalisée avec le logiciel open-source ProStaR (v1.36.2). Seules les protéines quantifiées dans au moins 80 % des échantillons d'une condition ont été conservées. Les intensités ont été transformées en $\log_2$, normalisées, puis les valeurs manquantes imputées. L'analyse différentielle a été réalisée à l'aide du test t de Limma, et les valeurs p ont été ajustées selon la procédure de Benjamini–Hochberg afin de contrôler le taux de fausses découvertes (FDR).

Sources :
Müller, T.; Kalxdorf, M.; Longuespée, R.; Kazdal, D. N.; Stenzinger, A.; Krijgsveld, J. Automated sample preparation with SP3 for low-input clinical proteomics. Molecular systems biology 2020, 16 (1), e9111. DOI: https://doi.org/10.15252/msb.20199111 (acccessed 2023/10/09).
Demichev, V., Messner, C.B., Vernardis, S.I., Lilley, K.S., Ralser, M., 2020. DIA-NN: neural networks and interference correction enable deep proteome coverage in high throughput. Nat. Methods 17, 41–44. https://doi.org/10.1038/s41592-019-0638-x
Wieczorek, S. et al. DAPAR & ProStaR: Software to perform statistical analyses in quantitative discovery proteomics. Bioinformatics 33, 135–136. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw580 (2017).

J- Fiche 10 : Etude métabolomique des plasma *HdhQ111*

1- Broyage

- Transférer le cortex congelé dans un tube 2mL (Transférer les tissus dans les tubes 2mL (MP biomedicals, ref INCA116913050, lysing matrix D)
- Ajouter 5 fois le volume de PBS 0.1X (250uL/50mg)
- Lyser broyeur Fastprep (MP Biomedicals, INOTREM) en alternant 3 cycles 20 sec (vitesse 5000rpm) avec 1 passage de 2 minutes dans la glace

2- Extraction PBS 0.1X

- Travailler sur glace
- Préparer la volume adéquate de PBS 0.1X à partir du 1X stock (Congélateur Immuno) et mettre la centrifugeuse à 4°C
- Prélever 70 µL du broyat
- Centrifuger 30 minutes à 20 000g à 4°C
- Récupérer le surnageant et l'homogénéiser
- Prélever 10 µL pour le dosage
- Ajouter 5 µL d'acide acétique 1M
- Conserver le tout à -80°C (y compris le culot afin de pouvoir refaire l'extraction si cette dernière n'a pas marché)

3- Dosage : Méthode BCA Assay

- Préparer la gamme étalon qui doit être déposer en triplicats (préparer pour chaque dilution 100 µL) dans des Eppendorfs de 1.5mL

Concentration finale (µg/mL)	Volume de BSA (µL)	Volume de PBS 0.1X (µL)
0	0	25
96	1.2	23.8
200	2.5	22.5
400	5	20
800	1	15
1200	15	10
1600	20	5
2000	25	0

Tableau 5 : Réalisation de la gamme étalon de BSA

- Vortexer et centrifuger brièvement
- Diluer au 1/10 les échantillons (10 µL dans 90 µL de PBS 0.1X)
- Déposer en triplicat 25 µL de la gamme dans une plaque 96 puits
- Déposer ensuite en triplicats 25 µL de chaque échantillon
- Préparer de travail en mélangeant 50 volumes de réactif A (BCA) et 1 volume de réactif B ($CuSO_4$) (Interchim UP40840A)

Calcul du volume final de réactif de travail = gamme (8*3) + échantillons (nbr d'échantillons*3)
=x*200 µL (arrondir au chiffre au-dessus)
Calcul volume réactif A = volume réactif B*50
Calcul volume réactif B = Volume final / 51

- Répartir 200 µL de réactif de travail dans tous les puits utilisés
- Couvrir la plaque d'aluminium et incuber 30 minutes à 37°C
- Mesurer l'absorbance à 570nm sur un spectromètre

4- LCMS-MS

La chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LCMS-8045, Shimadzu) est une méthode analytique combinant la performance de la chromatographie liquide à un spectromètre de masse, permettant ainsi l'identification et/ou la quantification précise de divers composés comme des métabolites.

- Préparer le tube pour la gamme de standard dans un tube Eppendorf 1.5 mL

Standard	Fournisseur	Référence	Stock (nM)	Concentration (µM)	Volume (µL)
Homocystéine	Sigma	H-6010	1	10	10
Méthionine	Sigma	M-6039	20	75	3,75
SAM	Merck	A-7007	1	2,5	2,5
SAH	Merck	A-9384	0,5	0,5	1
Cystéine	Sigma	C-4022	30	60	2
Cystathionine	Merck	C-3633	1	75	75
Glutathion	Merck	G-4626	10	650	65
Diméthylglycine	Merck	D-6382	10	15	1,5
Choline	Merck	C-1879	10	40	4
Bétaine	Merck	B-2754	10	20	2
Glycine	Merck	G-7126	20	450	22,5
Sérine	Merck	S-4500	10	200	20
meTHF	Merck	AABH99A4341D	0,25	0,25	1
Acide folique	Sigma	F-7876	0,25	0,25	1
Glutamate	Sigma	G-1251	10	700	70
Volume de PBS 0.1 pour dilution					718.75

Tableau 6 : Préparation de la gamme de standard

- Préparer la gamme de standards internes dans un Eppendorf de 1.5 mL

Standard interne	Fournisseur	Référence	Stock (nM)	Concentration (µM)	Volume (µL)
D3-Méthionine	Cambridge Isotope laboratories	19I-0083	2	36	18
D3-SAM	LGC	TRC-A291532	1	16	16
D8-Homocystéine	Cambridge Isotope Laboratories	19K-0319	1	12	12
D3-SAH	LGC	TRC-A291532-1MG	0.5	6	12
D3-Sérine	Santa Cruz	70094-78-9	5	60	12
D9-Choline	Eurisotope	DLM-549-1	1	12	12
C13-meTHF	MedChemExpress	HY-110346S	0.25	4	12
D2-Cystéine	Cambridge Isotope Laboratories	19j-0657	1	15	15
D11-Bétaine	Cambridge Isotope Laboratories	20H-0554	5	60	12
QSP DTT/formate d'ammonium					879

Tableau 7 : Préparation des standards internes

- Préparer les tubes tel que :

Tableau 8 :

	Blanc réactif	Blanc échantillon	Gamme standard 1-10	QC1 et QC2 (Contrôle externe de patients du CHU)	Echantillons
Volume échantillon ou gamme (µL)	50 µL H2O MQ	50 µL PBS 0.1X	50	50	50
Sta,dard interne (µL)	10µL DTT/Formate d'ammonium	10µL DTT/formate ammonium	10	10	10

Composition de chaque tube

- Vortexer les tubes et laisser incuber 10 minutes à T°C ambiante
- Ajouter dans chaque tube 60 µL de méthanol acidifié (acide formique 0.1%)
- Vortexer et incuber 30 minutes à 4°C
- Vortexer et centrifuger à 20000g à 4°C pendant 30 minutes
- Déposer 25 µL du surnageant en simplicat dans une plaque 96 puits
- Ajouter dans chaque puits un mélange H20 MQ/acide formique 1%

Sceller la plaque et procéder à l'analyse

Bibliographie

« A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group ». 1993. *Cell* 72 (6): 971-83. https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-e.
Abdullah Ramadhan, Iman, Luqman Rahman Sulaiman, et Abbas Salihi. 2023. « NOS3 and CTH Gene Mutations as New Molecular Markers for Detection of Lung Adenocarcinoma ». *PeerJ* 11: e16209. https://doi.org/10.7717/peerj.16209.
Abramian, Adlin, Rein I. Hoogstraaten, Fiona H. Murphy, Kathryn F. McDaniel, Ruud F. Toonen, et Matthijs Verhage. 2024. « Rabphilin-3A Negatively Regulates Neuropeptide Release, through Its SNAP25 Interaction ». *eLife* 13 (octobre): RP95371. https://doi.org/10.7554/eLife.95371.
Abud, Edsel M., Ricardo N. Ramirez, Eric S. Martinez, et al. 2017. « iPSC-Derived Human Microglia-like Cells to Study Neurological Diseases ». *Neuron* 94 (2): 278-293.e9. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.042.
Ageta-Ishihara, Natsumi, Keizo Takao, Tsuyoshi Miyakawa, et Makoto Kinoshita. 2025. « Comprehensive behavioral phenotyping of male Septin 3-deficient mice reveals task-specific abnormalities ». *Molecular Brain* 18 (août): 71. https://doi.org/10.1186/s13041-025-01243-5.
Ahmadzada, Tamkin, Glen Reid, et David R. McKenzie. 2018. « Fundamentals of siRNA and miRNA Therapeutics and a Review of Targeted Nanoparticle Delivery Systems in Breast Cancer ». *Biophysical Reviews* 10 (1): 69-86. https://doi.org/10.1007/s12551-017-0392-1.
Akchiche, Nassila, Carine Bossenmeyer-Pourié, Racha Kerek, et al. 2012. « Homocysteinylation of Neuronal Proteins Contributes to Folate Deficiency-Associated Alterations of Differentiation, Vesicular Transport, and Plasticity in Hippocampal Neuronal Cells. » *FASEB Journal* 26 (10): 3980. https://doi.org/10.1096/fj.12-205757.
Alexander, G. E., M. R. DeLong, et P. L. Strick. 1986. « Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex ». *Annual Review of Neuroscience* 9: 357-81. https://doi.org/10.1146/annurev.ne.09.030186.002041.
Al-kuraishy, Hayder M., Ali I. Al-Gareeb, Yaser Hosny Ali Elewa, et al. 2023. « Parkinson's Disease Risk and Hyperhomocysteinemia: The Possible Link ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 43 (6): 2743-59. https://doi.org/10.1007/s10571-023-01350-8.
Almqvist, E. W., D. S. Elterman, P. M. MacLeod, et M. R. Hayden. 2001. « High Incidence Rate and Absent Family Histories in One Quarter of Patients Newly Diagnosed with Huntington Disease in British Columbia ». *Clinical Genetics* 60 (3): 198-205. https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2001.600305.x.
Alpaydin, Omer Vehbi, Eda Nur Duran, Ayse Hur Alpaydin, et al. 2025. « The Importance of Serum Perilipin-2 Level as an Early Indicator of Inflammation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease ». *Diagnostics* (Basel, Switzerland) 16 (1): 106. https://doi.org/10.3390/diagnostics16010106.
Ament, Seth A., Jocelynn R. Pearl, Andrea Grindeland, et al. 2017. « High resolution time-course mapping of early transcriptomic, molecular and cellular phenotypes in Huntington's disease CAG knock-in mice across multiple genetic backgrounds ». *Human Molecular Genetics* 26 (5): 913-22. https://doi.org/10.1093/hmg/ddx006.
Anca, M. H., E. Gazit, R. Loewenthal, O. Ostrovsky, M. Frydman, et N. Giladi. 2004. « Different Phenotypic Expression in Monozygotic Twins with Huntington Disease ». *American Journal of Medical Genetics. Part A* 124A (1): 89-91. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.20328.
André, Véronique M., Carlos Cepeda, et Michael S. Levine. 2010. « Dopamine and Glutamate in Huntington's Disease: A Balancing Act ». *CNS Neuroscience & Therapeutics* 16 (3): 163-78. https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00134.x.
Andrich, Jürgen, Carsten Saft, Anneliese Arz, et al. 2004a. « Hyperhomocysteinaemia in Treated Patients with Huntington's Disease Homocysteine in HD ». *Movement Disorders* 19 (2): 226-28. https://doi.org/10.1002/mds.10629.
Andrich, Jürgen, Carsten Saft, Anneliese Arz, et al. 2004b. « Hyperhomocysteinaemia in Treated Patients with Huntington's Disease Homocysteine in HD ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 19 (2): 226-28. https://doi.org/10.1002/mds.10629.
ANSES. 2021. *Les références nutritionnelles en vitamines et minéraux*. Rapport d'expertise collective Saisine n°2018-SA-0238. ANSES. https://www.anses.fr/system/files/NUT2018SA0238Ra.pdf.

Araszkiewicz, Antoni F., Krzysztof Jańczak, Paweł Wójcik, et al. 2025. « MTHFR Gene Polymorphisms: A Single Gene with Wide-Ranging Clinical Implications-A Review ». *Genes* 16 (4): 441. https://doi.org/10.3390/genes16040441.
Arendt, Kristin L., Zhenjie Zhang, Subhashree Ganesan, et al. 2015. « Calcineurin mediates homeostatic synaptic plasticity by regulating retinoic acid synthesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (42): E5744-52. https://doi.org/10.1073/pnas.1510239112.
Aron Badin, Romina. 2018. « Nonhuman Primate Models of Huntington's Disease and Their Application in Translational Research ». *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) 1780: 267-84. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7825-0_14.
A.Rosser. 2025. « Journée Nationale de la Maladie de Huntington ». Congrès. Paris.
Asai, Ayumu, Masamitsu Konno, Jun Koseki, Masateru Taniguchi, Andrea Vecchione, et Hideshi Ishii. 2020. « One-carbon metabolism for cancer diagnostic and therapeutic approaches ». *Cancer Letters* 470 (février): 141-48. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.11.023.
Atwal, Randy Singh, Jianrun Xia, Deborah Pinchev, Jillian Taylor, Richard M. Epand, et Ray Truant. 2007. « Huntingtin has a membrane association signal that can modulate huntingtin aggregation, nuclear entry and toxicity ». *Human Molecular Genetics* 16 (21): 2600-2615. https://doi.org/10.1093/hmg/ddm217.
Aversano, Simona, Carmen Caiazza, et Massimiliano Caiazzo. 2022. « Induced Pluripotent Stem Cell-Derived and Directly Reprogrammed Neurons to Study Neurodegenerative Diseases: The Impact of Aging Signatures ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 14: 1069482. https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.1069482.
Ayala, Antonio, Mario F. Muñoz, et Sandro Argüelles. 2014. « Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014: 360438. https://doi.org/10.1155/2014/360438.
Ayeni, Emmanuel A., Ahmad M. Aldossary, Daniel A. Ayejoto, et al. 2022. « Neurodegenerative Diseases: Implications of Environmental and Climatic Influences on Neurotransmitters and Neuronal Hormones Activities ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19 (19): 12495. https://doi.org/10.3390/ijerph191912495.
Aylward, E. H., B. F. Sparks, K. M. Field, et al. 2004. « Onset and Rate of Striatal Atrophy in Preclinical Huntington Disease ». *Neurology* 63 (1): 66-72. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000132965.14653.d1.
Aylward, Elizabeth H., Peggy C. Nopoulos, Christopher A. Ross, et al. 2011. « Longitudinal Change in Regional Brain Volumes in Prodromal Huntington Disease ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 82 (4): 405-10. https://doi.org/10.1136/jnnp.2010.208264.
Aziz, N. A., J. M. M. van der Burg, G. B. Landwehrmeyer, et al. 2008. « Weight Loss in Huntington Disease Increases with Higher CAG Repeat Number ». *Neurology* 71 (19): 1506-13. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000334276.09729.0e.
Badman, Jack, Antonietta Parracino, Rajnish Kumar, et Simone Tambaro. 2025. « Insights into the intramembrane protease SPPL2b and its substrates: Functions and disease implications ». *Science Signaling* 18 (885): eadt2272. https://doi.org/10.1126/scisignal.adt2272.
Badreddine, N., F. Appaix, G. Becq, S. Achard, F. Saudou, et E. Fino. 2025. « Early Alterations of Motor Learning and Corticostriatal Network Activity in a Huntington's Disease Mouse Model ». *The European Journal of Neuroscience* 61 (5): e70056. https://doi.org/10.1111/ejn.70056.
Bakeberg, Megan C., Anastazja M. Gorecki, Jade E. Kenna, et al. 2021. « Elevated HDL Levels Linked to Poorer Cognitive Ability in Females With Parkinson's Disease ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 13 (juin): 656623. https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.656623.
Bakeberg, Megan C., Alexa Jefferson, Maddeson Riley, et al. 2019a. « Elevated Serum Homocysteine Levels Have Differential Gender-Specific Associations with Motor and Cognitive States in Parkinson's Disease ». *Parkinson's Disease* 2019: 3124295. https://doi.org/10.1155/2019/3124295.
Bakeberg, Megan C., Alexa Jefferson, Maddeson Riley, et al. 2019b. « Elevated Serum Homocysteine Levels Have Differential Gender-Specific Associations with Motor and Cognitive States in Parkinson's Disease ». *Parkinson's Disease* 2019: 3124295. https://doi.org/10.1155/2019/3124295.
Baldin, Serena, Clara Carmone, Giorgia Valetti, Roberta De Rosa, et Isabella Barbiero. 2026. « CDKL5 Regulates the Initiation of Retrograde Axonal Transport through CLIP170-Dynactin Complex Formation ». *The*

FEBS Journal 293 (2): 456-74. https://doi.org/10.1111/febs.70230.
Baldo, Barbara, Andreas Weiss, Christian N. Parker, Miriam Bibel, Paolo Paganetti, et Klemens Kaupmann. 2012. « A Screen for Enhancers of Clearance Identifies Huntingtin as a Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Client Protein ». *Journal of Biological Chemistry* 287 (2): 1406-14. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.294801.
Baliko, Laszlo, Bela Csala, et Jozsef Czopf. 2004. « Suicide in Hungarian Huntington's Disease Patients ». *Neuroepidemiology* 23 (5): 258-60. https://doi.org/10.1159/000079953.
Banerjee, Ruma, et Stephen W. Ragsdale. 2003. « The Many Faces of Vitamin B12: Catalysis by Cobalamin-Dependent Enzymes1 ». *Annual Review of Biochemistry* 72 (Volume 72, 2003): 209-47. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161828.
Barnat, Monia, Mariacristina Capizzi, Esther Aparicio, et al. 2020. « Huntington's disease alters human neurodevelopment ». *Science (New York, N.Y.)* 369 (6505): 787-93. https://doi.org/10.1126/science.aax3338.
Barron, Jessica C., Emily P. Hurley, et Matthew P. Parsons. 2021. « Huntingtin and the Synapse ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15 (juin): 689332. https://doi.org/10.3389/fncel.2021.689332.
Bates, Gillian P. 2025. « Somatic CAG-Repeat Expansion Drives Neuronal Loss in Huntington's Disease ». *Neuron* 113 (3): 342-44. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2025.01.008.
Bates, Gillian P., Ray Dorsey, James F. Gusella, et al. 2015a. « Huntington Disease ». *Nature Reviews Disease Primers* 1 (1): 1-21. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.5.
Bates, Gillian P., Ray Dorsey, James F. Gusella, et al. 2015b. « Huntington Disease ». *Nature Reviews. Disease Primers* 1: 15005. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.5.
Bates, Gillian, Sarah Tabrizi, Lesley Jones, Gillian Bates, Sarah Tabrizi, et Lesley Jones, éd. 2014. *Huntington's Disease*. Fourth Edition, Fourth Edition. Oxford Monographs on Medical Genetics. Oxford University Press.
Battaglia-Hsu, Shyue-fang, Nassila Akchiche, Nicole Noel, et al. 2009. « Vitamin B12 Deficiency Reduces Proliferation and Promotes Differentiation of Neuroblastoma Cells and Up-Regulates PP2A, proNGF, and TACE ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (51): 21930-35. https://doi.org/10.1073/pnas.0811794106.
Battaglia-Hsu, Shyue-Fang, Rose Ghemrawi, David Coelho, et al. 2018. « Inherited disorders of cobalamin metabolism disrupt nucleocytoplasmic transport of mRNA through impaired methylation/phosphorylation of ELAVL1/HuR ». *Nucleic Acids Research* 46 (15): 7844-57. https://doi.org/10.1093/nar/gky634.
Baumgärtel, Karsten, et Isabelle M. Mansuy. 2012. « Neural Functions of Calcineurin in Synaptic Plasticity and Memory ». *Learning & Memory* 19 (9): 375-84. https://doi.org/10.1101/lm.027201.112.
Beaudin, Anna E., Elena V. Abarinov, Drew M. Noden, et al. 2011. « *Shmt1* and de novo thymidylate biosynthesis underlie folate-responsive neural tube defects in mice ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 93 (4): 789-98. https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002766.
Benchoua, Alexandra, Yaël Trioulier, Diana Zala, et al. 2006. « Involvement of Mitochondrial Complex II Defects in Neuronal Death Produced by N-Terminus Fragment of Mutated Huntingtin ». *Molecular Biology of the Cell* 17 (4): 1652-63. https://doi.org/10.1091/mbc.e05-07-0607.
Bennett, C. Frank, et Eric E. Swayze. 2010. « RNA Targeting Therapeutics: Molecular Mechanisms of Antisense Oligonucleotides as a Therapeutic Platform ». *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 50: 259-93. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105654.
Bergonzoni, Guendalina, Jessica Döring, et Marta Biagioli. 2021. « D1R- and D2R-Medium-Sized Spiny Neurons Diversity: Insights Into Striatal Vulnerability to Huntington's Disease Mutation ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15 (février): 628010. https://doi.org/10.3389/fncel.2021.628010.
Besson, Marie Thérèse, Karin Alegría, Pamela Garrido-Gerter, Luis Felipe Barros, et Jean-Charles Liévens. 2015. « Enhanced Neuronal Glucose Transporter Expression Reveals Metabolic Choice in a HD Drosophila Model ». *PLoS ONE* 10 (3): e0118765. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118765.
Biglan, K. M., E. R. Dorsey, R. V. V. Evans, et al. 2012. « Plasma 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Levels in Huntington Disease and Healthy Controls Treated with Coenzyme Q10 ». *Journal of Huntington's Disease* 1 (1): 65-69. https://doi.org/10.3233/JHD-2012-120007.
Birben, Esra, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum, et Omer Kalayci. 2012. « Oxidative Stress and Antioxidant Defense ». *The World Allergy Organization Journal* 5 (1): 9-19. https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613.

Björkqvist, Maria, Edward J. Wild, Jenny Thiele, et al. 2008. « A Novel Pathogenic Pathway of Immune Activation Detectable before Clinical Onset in Huntington's Disease ». *The Journal of Experimental Medicine* 205 (8): 1869-77. https://doi.org/10.1084/jem.20080178.
Bogorad, Andrew M., Kai Ying Lin, et Assen Marintchev. 2017. « Novel mechanisms of eIF2B action and regulation by eIF2α phosphorylation ». *Nucleic Acids Research* 45 (20): 11962-79. https://doi.org/10.1093/nar/gkx845.
Booij, Suzanne J., Aad Tibben, Dick P. Engberts, Johan Marinus, et Raymund A. C. Roos. 2014. « Thinking about the End of Life: A Common Issue for Patients with Huntington's Disease ». *Journal of Neurology* 261 (11): 2184-91. https://doi.org/10.1007/s00415-014-7479-4.
Bossenmeyer-Pourié, Carine, A. David Smith, Sylvain Lehmann, et al. 2019a. « N-Homocysteinylation of Tau and MAP1 Is Increased in Autopsy Specimens of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia ». *The Journal of Pathology* 248 (3): 291-303. https://doi.org/10.1002/path.5254.
Bossenmeyer-Pourié, Carine, A. David Smith, Sylvain Lehmann, et al. 2019b. « N-Homocysteinylation of Tau and MAP1 Is Increased in Autopsy Specimens of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia ». *The Journal of Pathology* 248 (3): 291-303. https://doi.org/10.1002/path.5254.
Boutell, J. M., J. D. Wood, P. S. Harper, et A. L. Jones. 1998. « Huntingtin Interacts with Cystathionine Beta-Synthase ». *Human Molecular Genetics* 7 (3): 371-78. https://doi.org/10.1093/hmg/7.3.371.
Boutry, Maxime, Alexandre Pierga, Raphaël Matusiak, et al. 2019. « Loss of Spatacsin Impairs Cholesterol Trafficking and Calcium Homeostasis ». *Communications Biology* 2: 380. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0615-z.
Bowman, Caitlyn E., Susana Rodriguez, Ebru S. Selen Alpergin, et al. 2017. « The Mammalian Malonyl-CoA Synthetase ACSF3 Is Required for Mitochondrial Protein Malonylation and Metabolic Efficiency ». *Cell Chemical Biology* 24 (6): 673-684.e4. https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.04.009.
Bowman, Caitlyn E., et Michael J. Wolfgang. 2019. « Role of the Malonyl-CoA Synthetase ACSF3 in Mitochondrial Metabolism ». *Advances in Biological Regulation* 71 (janvier): 34-40. https://doi.org/10.1016/j.jbior.2018.09.002.
Braz, Barbara Yael, Doris Wennagel, Leslie Ratié, et al. 2022. « Treating early postnatal circuit defect delays Huntington's disease onset and pathology in mice ». *Science* 377 (6613): eabq5011. https://doi.org/10.1126/science.abq5011.
Browne, S. E., A. C. Bowling, U. MacGarvey, et al. 1997. « Oxidative Damage and Metabolic Dysfunction in Huntington's Disease: Selective Vulnerability of the Basal Ganglia ». *Annals of Neurology* 41 (5): 646-53. https://doi.org/10.1002/ana.410410514.
Brulé, Baptiste, Rafael Alcalá-Vida, Noémie Penaud, et al. 2025. « Accelerated epigenetic aging in Huntington's disease involves polycomb repressive complex 1 ». *Nature Communications* 16 (février): 1550. https://doi.org/10.1038/s41467-025-56722-z.
Brune, N., J. Andrich, M. Gencik, et al. 2004a. « Methyltetrahydrofolate Reductase Polymorphism Influences Onset of Huntington's Disease ». *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, n° 68: 105-10. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0579-5_12.
Brune, N., J. Andrich, M. Gencik, et al. 2004b. « Methyltetrahydrofolate Reductase Polymorphism Influences Onset of Huntington's Disease ». *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, n° 68: 105-10. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0579-5_12.
Brütting, Christine, Pia Hildebrand, Corinna Brandsch, et Gabriele I. Stangl. 2021. « Ability of dietary factors to affect homocysteine levels in mice: a review ». *Nutrition & Metabolism* 18 (juin): 68. https://doi.org/10.1186/s12986-021-00594-9.
Bryan, Miles R., et Aaron B. Bowman. 2017. « "Manganese and the Insulin-IGF signaling network in Huntington's disease and other neurodegenerative disorders" ». *Advances in neurobiology* 18: 113-42. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2_6.
Bunting, Emma L., Jasmine Donaldson, Sarah A. Cumming, et al. 2025. « Antisense Oligonucleotide-Mediated MSH3 Suppression Reduces Somatic CAG Repeat Expansion in Huntington's Disease iPSC-Derived Striatal Neurons ». *Science Translational Medicine* 17 (785): eadn4600. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adn4600.

Butturini, Elena, Alessandra Carcereri de Prati, et Sofia Mariotto. 2020. « Redox Regulation of STAT1 and STAT3 Signaling ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (19): 7034. https://doi.org/10.3390/ijms21197034.
Byrne, Lauren M., Filipe B. Rodrigues, Eileanor B. Johnson, et al. 2018. « Evaluation of Mutant Huntingtin and Neurofilament Proteins as Potential Markers in Huntington's Disease ». *Science Translational Medicine* 10 (458): eaat7108. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat7108.
Cabaj, Maximilian, Pietro G. Mazzara, Zachary A. Gaertner, et al. 2025. « Alpha-Synuclein Abundance and Localization Are Regulated by the RNA-Binding Protein PUMILIO1 ». *Cell Reports* 44 (8). https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.116145.
Cantó, Carles, et Johan Auwerx. 2009. « PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an Energy Sensing Network That Controls Energy Expenditure ». *Current Opinion in Lipidology* 20 (2): 98-105. https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328328d0a4.
Cao, Di, Yini Zhang, Shaobo Zhang, Jun Li, Qiguang Yang, et Ping Wang. 2024. « Risk of Alzheimer's Disease and Genetically Predicted Levels of 1400 Plasma Metabolites: A Mendelian Randomization Study ». *Scientific Reports* 14 (1): 1-13. https://doi.org/10.1038/s41598-024-77921-6.
Carmo, Catarina, Luana Naia, Carla Lopes, et A. Cristina Rego. 2018. « Mitochondrial Dysfunction in Huntington's Disease ». In *Polyglutamine Disorders*, édité par Clévio Nóbrega et Luís Pereira de Almeida. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71779-1_3.
Caron, Nicholas S., Lauren M. Byrne, Fanny L. Lemarié, et al. 2024. « Elevated Plasma and CSF Neurofilament Light Chain Concentrations Are Stabilized in Response to Mutant Huntingtin Lowering in the Brains of Huntington's Disease Mice ». *Translational Neurodegeneration* 13 (1): 50. https://doi.org/10.1186/s40035-024-00443-8.
Caron, Nicholas S., Arsalan S. Haqqani, Akshdeep Sandhu, et al. 2022. « Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Assessing Huntington Disease Onset and Severity ». *Brain Communications* 4 (6): fcac309. https://doi.org/10.1093/braincomms/fcac309.
Castillo, Luisa F., Caitlyn M. Pelletier, Katarina E. Heyden, et Martha S. Field. 2025. « New Insights into Folate-Vitamin B12 Interactions ». *Annual Review of Nutrition* 45 (1): 23-39. https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-120524-043056.
Caviston, Juliane P., et Erika L. F. Holzbaur. 2009. « Huntingtin as an Essential Integrator of Intracellular Vesicular Trafficking ». *Trends in cell biology* 19 (4): 147-55. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2009.01.005.
Cepeda, Carlos, Raymond S. Hurst, Christopher R. Calvert, et al. 2003. « Transient and Progressive Electrophysiological Alterations in the Corticostriatal Pathway in a Mouse Model of Huntington's Disease ». *The Journal of Neuroscience* 23 (3): 961-69. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-03-00961.2003.
Cha, Jang-Ho J. 2000. « Transcriptional Dysregulation in Huntington's Disease ». *Trends in Neurosciences* 23 (9): 387-92. https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01609-X.
Chai, Gaoshang, Yuming Mao, Juan Gong, et al. 2025. « Homocysteine interferes with Ndufa1 leading to mitochondrial dysfunction through repression of the NAD+/Sirt1 pathway in the brain: a possible link between hyperhomocysteinemia and neurodegeneration ». *Cell Death & Disease* 16 (1): 499. https://doi.org/10.1038/s41419-025-07834-3.
Chakraborty, Suwarna, B. S. Shankaranarayana Rao, et Sunil Jamuna Tripathi. 2025. « The neuroprotective effects of N-acetylcysteine in psychiatric and neurodegenerative disorders: From modulation of glutamatergic transmission to restoration of synaptic plasticity ». *Neuropharmacology* 278 (novembre): 110527. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110527.
Chattopadhyay, Biswanath, Kanad Baksi, Saikat Mukhopadhyay, et Nitai P. Bhattacharyya. 2005. « Modulation of Age at Onset of Huntington Disease Patients by Variations in TP53 and Human Caspase Activated DNase (hCAD) Genes ». *Neuroscience Letters* 374 (2): 81-86. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.10.018.
Chen, Guo-Lin, Qi Ma, Dharmendra Goswami, Jianyu Shang, et Gregory M. Miller. 2017. « Modulation of Nuclear REST by Alternative Splicing: A Potential Therapeutic Target for Huntington's Disease ». *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 21 (11): 2974-84. https://doi.org/10.1111/jcmm.13209.
Chen, Qingshou, Jie Huang, Xiaocong Shi, et al. 2025. « Associations between Dietary B Vitamin Intakes and

Cognitive Function among Elderly Individuals: An Observational Study ». *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.) 134 (juin): 112716. https://doi.org/10.1016/j.nut.2025.112716.
Chen, Shuang, Zhiping Dong, Yaqian Zhao, et al. 2017. « Homocysteine Induces Mitochondrial Dysfunction Involving the Crosstalk between Oxidative Stress and Mitochondrial pSTAT3 in Rat Ischemic Brain ». *Scientific Reports* 7 (1): 6932. https://doi.org/10.1038/s41598-017-07112-z.
Chiellini, Grazia. 2021. « Understanding Amyloid Structures and Disease: A Continuing Challenge in Health Research ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (12): 6620. https://doi.org/10.3390/ijms22126620.
Choi, Doo Eun, Jun Wan Shin, Sophia Zeng, et al. 2024. « Base editing strategies to convert CAG to CAA diminish the disease-causing mutation in Huntington's disease ». *eLife* 12 (juin): RP89782. https://doi.org/10.7554/eLife.89782.
Choi, Sang-Woon, et Simonetta Friso. 2010. « Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health ». *Advances in Nutrition* 1 (1): 8-16. https://doi.org/10.3945/an.110.1004.
Choo, Yeun Su, Gail V. W. Johnson, Marcy MacDonald, Peter J. Detloff, et Mathieu Lesort. 2004. « Mutant Huntingtin Directly Increases Susceptibility of Mitochondria to the Calcium-Induced Permeability Transition and Cytochrome c Release ». *Human Molecular Genetics* 13 (14): 1407-20. https://doi.org/10.1093/hmg/ddh162.
Christine, Chadwick W., Peggy Auinger, Amelia Joslin, Yuora Yelpaala, Ralph Green, et Parkinson Study Group-DATATOP Investigators. 2018a. « Vitamin B12 and Homocysteine Levels Predict Different Outcomes in Early Parkinson's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 33 (5): 762-70. https://doi.org/10.1002/mds.27301.
Christine, Chadwick W., Peggy Auinger, Amelia Joslin, Yuora Yelpaala, Ralph Green, et Parkinson Study Group-DATATOP Investigators. 2018b. « Vitamin B12 and Homocysteine Levels Predict Different Outcomes in Early Parkinson's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 33 (5): 762-70. https://doi.org/10.1002/mds.27301.
Christine, Chadwick W., Peggy Auinger, Nasrin Saleh, et al. 2020. « Relationship of Cerebrospinal Fluid Vitamin B12 Status Markers With Parkinson's Disease Progression ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 35 (8): 1466-71. https://doi.org/10.1002/mds.28073.
Ciamei, Alessandro, et A. Jennifer Morton. 2009. « Progressive Imbalance in the Interaction between Spatial and Procedural Memory Systems in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease ». *Neurobiology of Learning and Memory* 92 (3): 417-28. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.06.002.
Clare, Constance E., Amey H. Brassington, Wing Yee Kwong, et Kevin D. Sinclair. 2019. « One-Carbon Metabolism: Linking Nutritional Biochemistry to Epigenetic Programming of Long-Term Development ». *Annual Review of Animal Biosciences* 7 (Volume 7, 2019): 263-87. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115206.
Coelho, David, Terttu Suormala, Martin Stucki, et al. 2008. « Gene Identification for the cblD Defect of Vitamin B12 Metabolism ». *The New England Journal of Medicine* 358 (14): 1454-64. https://doi.org/10.1056/NEJMoa072200.
Colin, Emilie, Diana Zala, Géraldine Liot, et al. 2008. « Huntingtin Phosphorylation Acts as a Molecular Switch for Anterograde/Retrograde Transport in Neurons ». *The EMBO Journal* 27 (15): 2124-34. https://doi.org/10.1038/emboj.2008.133.
Conforti, P., D. Besusso, V. D. Bocchi, et al. 2018. « Faulty Neuronal Determination and Cell Polarization Are Reverted by Modulating HD Early Phenotypes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (4): E762-71. https://doi.org/10.1073/pnas.1715865115.
Conte, Maria, Valentina Medici, Davide Malagoli, et al. 2022. « Expression Pattern of Perilipins in Human Brain during Aging and in Alzheimer's Disease ». *Neuropathology and Applied Neurobiology* 48 (1): e12756. https://doi.org/10.1111/nan.12756.
Copp, Andrew J., N. Scott Adzick, Lyn S. Chitty, Jack M. Fletcher, Grayson N. Holmbeck, et Gary M. Shaw. 2015. « Spina Bifida ». *Nature Reviews Disease Primers* 1 (1): 15007. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.7.
Cornett, Jonathan, Fengli Cao, Chuan-En Wang, et al. 2005. « Polyglutamine Expansion of Huntingtin Impairs Its Nuclear Export ». *Nature Genetics* 37 (2): 198-204. https://doi.org/10.1038/ng1503.

Corona-Trejo, Andrea, María E. Gonsebatt, Cristina Trejo-Solis, et al. 2023. « Transsulfuration Pathway: A Targeting Neuromodulator in Parkinson's Disease ». *Reviews in the Neurosciences* 34 (8): 915-32. https://doi.org/10.1515/revneuro-2023-0039.
Craig, Stuart AS. 2004. « Betaine in human nutrition ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 80 (3): 539-49. https://doi.org/10.1093/ajcn/80.3.539.
Craufurd D, Snowden, J. 2022. « Neuropsychological and neuropsychiatric aspects of Huntington's disease ». In *Huntington's disease*, New York: Oxford University Press.
Craufurd, David, Rhona MacLeod, Marina Frontali, et al. 2015. « Diagnostic Genetic Testing for Huntington's Disease ». *Practical Neurology* 15 (1): 80-84. https://doi.org/10.1136/practneurol-2013-000790.
Cubis, Lee, Elise Davis, Sharyn McDonald, et al. 2025. « Effective Housing and Support Models for People with Huntington's Disease: A Scoping Review ». *Journal of Huntington's Disease* 14 (4): 340-53. https://doi.org/10.1177/18796397251378091.
Cui, Guohong, Sang Beom Jun, Xin Jin, et al. 2013. « Concurrent Activation of Striatal Direct and Indirect Pathways During Action Initiation ». *Nature* 494 (7436): 238-42. https://doi.org/10.1038/nature11846.
Dalle-Donne, Isabella, Giancarlo Aldini, Marina Carini, Roberto Colombo, Ranieri Rossi, et Aldo Milzani. 2006. « Protein Carbonylation, Cellular Dysfunction, and Disease Progression ». *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 10 (2): 389-406. https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00407.x.
Damme, Tim Van, Thatjana Gardeitchik, Miski Mohamed, et al. 2017. « Mutations in ATP6V1E1 or ATP6V1A Cause Autosomal-Recessive Cutis Laxa ». *The American Journal of Human Genetics* 100 (2): 216-27. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.12.010.
Dargaei, Zahra, Xinyi Liang, Melissa Serranilla, Janeane Santos, et Melanie A. Woodin. 2019. « Alterations in Hippocampal Inhibitory Synaptic Transmission in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease ». *Neuroscience* 404 (avril): 130-40. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.02.007.
Darrow, Michele C., Oksana A. Sergeeva, Jose M. Isas, et al. 2015. « Structural Mechanisms of Mutant Huntingtin Aggregation Suppression by the Synthetic Chaperonin-like CCT5 Complex Explained by Cryoelectron Tomography ». *Journal of Biological Chemistry* 290 (28): 17451-61. https://doi.org/10.1074/jbc.M115.655373.
Davies, Stephen W., Mark Turmaine, Barbara A. Cozens, et al. 1997. « Formation of Neuronal Intranuclear Inclusions Underlies the Neurological Dysfunction in Mice Transgenic for the HD Mutation ». *Cell* 90 (3): 537-48. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80513-9.
Deep, Satya Narayan, Sarah Seelig, Surojit Paul, et Ranjana Poddar. 2024. « Homocysteine-Induced Sustained GluN2A NMDA Receptor Stimulation Leads to Mitochondrial ROS Generation and Neurotoxicity ». *The Journal of Biological Chemistry* 300 (5): 107253. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107253.
D'Egidio, Francesco, Vanessa Castelli, Annamaria Cimini, et Michele d'Angelo. 2023. « Cell Rearrangement and Oxidant/Antioxidant Imbalance in Huntington's Disease ». *Antioxidants* 12 (3). https://doi.org/10.3390/antiox12030571.
D'Egidio, Francesco, Elvira Qosja, Fabrizio Ammannito, et al. 2025. « Antioxidant and Anti-Inflammatory Defenses in Huntington's Disease: Roles of NRF2 and PGC-1α, and Therapeutic Strategies ». *Life* (Basel, Switzerland) 15 (4): 577. https://doi.org/10.3390/life15040577.
Delgado, Jary Y., et Geoffrey C. Owens. 2012. « The Cytochrome c Gene Proximal Enhancer Drives Activity-Dependent Reporter Gene Expression in Hippocampal Neurons ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* 5: 31. https://doi.org/10.3389/fnmol.2012.00031.
Delmaire, Christine, Eve M. Dumas, Michael A. Sharman, et al. 2013. « The Structural Correlates of Functional Deficits in Early Huntington's Disease ». *Human Brain Mapping* 34 (9): 2141-53. https://doi.org/10.1002/hbm.22055.
Dey, Anindya, Pijush Kanti Pramanik, Shailendra Kumar Dhar Dwivedi, et al. 2023. « A Role for the Cystathionine-β-Synthase /H2S Axis in Astrocyte Dysfunction in the Aging Brain ». *Redox Biology* 68 (décembre): 102958. https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102958.
DiFiglia, Marian, Blair R. Leavitt, Douglas Macdonald, et Leslie M. Thompson. s. d. « Towards Standardizing Nomenclature in Huntington's Disease Research ». *Journal of Huntington's Disease* 13 (2): 119-31. https://doi.org/10.3233/JHD-240044.

Djoussé, Luc, Beth Knowlton, Michael R. Hayden, et al. 2004. « Evidence for a Modifier of Onset Age in Huntington Disease Linked to the HD Gene in 4p16 ». *Neurogenetics* 5 (2): 109-14. https://doi.org/10.1007/s10048-004-0175-2.
Dong, Bingzi, Ying Sun, Bingfei Cheng, Yu Xue, Wei Li, et Xiaofang Sun. 2023. « Activating transcription factor (ATF) 6 upregulates cystathionine β synthetase (CBS) expression and hydrogen sulfide (H2S) synthesis to ameliorate liver metabolic damage ». *European Journal of Medical Research* 28 (novembre): 540. https://doi.org/10.1186/s40001-023-01520-w.
Dorsey, E. Ray, Christopher A. Beck, Kristin Darwin, et al. 2013. « Natural History of Huntington Disease ». *JAMA Neurology* 70 (12): 1520-30. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.4408.
Dorszewska, Jolanta, Jolanta Florczak, Agata Rozycka, et al. 2007. « Oxidative DNA Damage and Level of Thiols as Related to Polymorphisms of MTHFR, MTR, MTHFD1 in Alzheimer's and Parkinson's Diseases ». *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 67 (2): 113-29. https://doi.org/10.55782/ane-2007-1639.
Drees, Frauke, et Frank B. Gertler. 2008. « Ena/VASP: proteins at the tip of the nervous system ». *Current Opinion in Neurobiology*, Development, vol. 18 (1): 53-59. https://doi.org/10.1016/j.conb.2008.05.007.
Dreumont, Natacha, Khalid Mimoun, Carine Pourié, et al. 2021. « Glucocorticoid Receptor Activation Restores Learning Memory by Modulating Hippocampal Plasticity in a Mouse Model of Brain Vitamin B12 Deficiency ». *Molecular Neurobiology* 58 (3): 1024-35. https://doi.org/10.1007/s12035-020-02163-2.
Drew, Cheney J. G., Feras Sharouf, Elizabeth Randell, et al. 2021. « Protocol for an Open Label: Phase I Trial within a Cohort of Foetal Cell Transplants in People with Huntington's Disease ». *Brain Communications* 3 (1): fcaa230. https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa230.
Driessnack, Martha, Janet K. Williams, J. Jackson Barnette, Kathleen J. Sparbel, et Jane S. Paulsen. 2012. « Development of the HD-Teen Inventory ». *Clinical Nursing Research* 21 (2): 213-23. https://doi.org/10.1177/1054773811409397.
Ducker, Gregory S., et Joshua D. Rabinowitz. 2017. « One-Carbon Metabolism in Health and Disease ». *Cell Metabolism* 25 (1): 27-42. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.009.
Duff, Kevin, Jane S. Paulsen, Leigh J. Beglinger, et al. 2010. « "Frontal" Behaviors before the Diagnosis of Huntington's Disease and Their Relationship to Markers of Disease Progression: Evidence of Early Lack of Awareness ». *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 22 (2): 196-207. https://doi.org/10.1176/jnp.2010.22.2.196.
Dufouil, Carole, Annick Alpérovitch, Véronique Ducros, et Christophe Tzourio. 2003. « Homocysteine, White Matter Hyperintensities, and Cognition in Healthy Elderly People ». *Annals of Neurology* 53 (2): 214-21. https://doi.org/10.1002/ana.10440.
Eiraku, Mototsugu, Kiichi Watanabe, Mami Matsuo-Takasaki, et al. 2008. « Self-Organized Formation of Polarized Cortical Tissues from ESCs and Its Active Manipulation by Extrinsic Signals ». *Cell Stem Cell* 3 (5): 519-32. https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.09.002.
Elliotson, John. 1831. « ST. THOMAS'S HOSPITAL.: CLINICAL LECTURE ». *The Lancet (British Edition)* 17 (430): 309-13. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)93200-9.
Ellrichmann, Gisa, Christiane Reick, Carsten Saft, et Ralf A. Linker. 2013. « The Role of the Immune System in Huntington's Disease ». *Clinical and Developmental Immunology* 2013: 541259. https://doi.org/10.1155/2013/541259.
Espina, Marc, Nadia Di Franco, Martina Brañas-Navarro, et al. 2023. « The GRP78-PERK Axis Contributes to Memory and Synaptic Impairments in Huntington's Disease R6/1 Mice ». *Neurobiology of Disease* 184 (août): 106225. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106225.
Estevez-Fraga, Carlos, Andre Altmann, Christopher S. Parker, et al. 2023. « Genetic topography and cortical cell loss in Huntington's disease link development and neurodegeneration ». *Brain*, août 17, awad275. https://doi.org/10.1093/brain/awad275.
Estevez-Fraga, Carlos, Sarah J. Tabrizi, et Edward J. Wild. 2024. « Huntington's Disease Clinical Trials Corner: March 2024 ». *Journal of Huntington's Disease* 13 (1): 1-14. https://doi.org/10.3233/JHD-240017.
Evangelisti, Cecilia, Sherin Ramadan, Antonio Orlacchio, et Emanuele Panza. 2024. « Experimental Cell Models for Investigating Neurodegenerative Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 25 (17): 9747. https://doi.org/10.3390/ijms25179747.

F Hoffmann-La Roche. 2021. *Roche Provides Update on Tominersen Programme in Manifest Huntington's Disease*.
Fão, Lígia, et Ana Cristina Rego. 2021. « Mitochondrial and Redox-Based Therapeutic Strategies in Huntington's Disease ». *Antioxidants & Redox Signaling* 34 (8): 650-73. https://doi.org/10.1089/ars.2019.8004.
Farrer, L. A. 1986. « Suicide and Attempted Suicide in Huntington Disease: Implications for Preclinical Testing of Persons at Risk ». *American Journal of Medical Genetics* 24 (2): 305-11. https://doi.org/10.1002/ajmg.1320240211.
Favaro, Jacopo, Alessandro Iodice, Margherita Nosadini, et al. 2024. « PPP3CA Gene-Related Developmental and Epileptic Encephalopathy: Expanding the Electro-Clinical Phenotype ». *Seizure - European Journal of Epilepsy* 121 (octobre): 253-61. https://doi.org/10.1016/j.seizure.2024.08.017.
Fenech, Michael. 2010a. « Folate, DNA Damage and the Aging Brain ». *Mechanisms of Ageing and Development* 131 (4): 236-41. https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.02.004.
Fenech, Michael. 2010b. « Folate, DNA Damage and the Aging Brain ». *Mechanisms of Ageing and Development* 131 (4): 236-41. https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.02.004.
Fenech, Michael. 2010c. « Folate, DNA Damage and the Aging Brain ». *Mechanisms of Ageing and Development* 131 (4): 236-41. https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.02.004.
Feng, Yang, Rui An, Yajun Zhang, et al. 2022. « AHNAK-Modified Microbubbles for the Intracranial Delivery of Triptolide: In-Vitro and in-Vivo Investigations ». *International Journal of Pharmaceutics* 629 (décembre): 122351. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122351.
Ferlazzo, Nadia, Salvatore Condello, Monica Currò, Giulia Parisi, Riccardo Ientile, et Daniela Caccamo. 2008. « NF-kappaB Activation Is Associated with Homocysteine-Induced Injury in Neuro2a Cells ». *BMC Neuroscience* 9 (juillet): 62. https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-62.
Ferrari, Elena, Diego Scheggia, Elisa Zianni, et al. 2022. « Rabphilin-3A as a Novel Target to Reverse α-Synuclein-Induced Synaptic Loss in Parkinson's Disease ». *Pharmacological Research* 183 (septembre): 106375. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106375.
Ferretti, Gianna, Tiziana Bacchetti, Cinzia Moroni, Arianna Vignini, Laura Nanetti, et Giovanna Curatola. 2004. « Effect of Homocysteinylation of Low Density Lipoproteins on Lipid Peroxidation of Human Endothelial Cells ». *Journal of Cellular Biochemistry* 92 (2): 351-60. https://doi.org/10.1002/jcb.20069.
Field, Martha S., Elena Kamynina, James Chon, et Patrick J. Stover. 2018. « Nuclear Folate Metabolism ». *Annual review of nutrition* 38 (août): 219-43. https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034441.
Fienko, Sandra, Christian Landles, Kirupa Sathasivam, et al. 2022. « Alternative Processing of Human HTT mRNA with Implications for Huntington's Disease Therapeutics ». *Brain: A Journal of Neurology* 145 (12): 4409-24. https://doi.org/10.1093/brain/awac241.
Fink, Kyle D., Peter Deng, Josh Gutierrez, et al. 2016. « Allele-Specific Reduction of the Mutant Huntingtin Allele Using Transcription Activator-Like Effectors in Human Huntington's Disease Fibroblasts ». *Cell Transplantation* 25 (4): 677-86. https://doi.org/10.3727/096368916X690863.
Finkelstein, James D., et John J. Martin. 2000. « Homocysteine ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 32 (4): 385-89. https://doi.org/10.1016/S1357-2725(99)00138-7.
Fisher, Emily R., et Michael R. Hayden. 2014. « Multisource Ascertainment of Huntington Disease in Canada: Prevalence and Population at Risk ». *Movement Disorders* 29 (1): 105-14. https://doi.org/10.1002/mds.25717.
Fish-Low, Cheng-Yee, Leslie Thian Lung Than, King-Hwa Ling, et Zamberi Sekawi. 2024. « The Potential of Eight Plasma Proteins as Biomarkers in Redefining Leptospirosis Diagnosis ». *Journal of Proteome Research* 23 (9): 4027-42. https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.4c00376.
Flori, Lorenzo, Sara Veneziano, Alma Martelli, Eugenia Piragine, et Vincenzo Calderone. 2025. « Transsulfuration Pathway Products and H2S-Donors in Hyperhomocysteinemia: Potential Strategies Beyond Folic Acid ». *International Journal of Molecular Sciences* 26 (13): 6430. https://doi.org/10.3390/ijms26136430.
Flower, Michael, Vilija Lomeikaite, Marc Ciosi, et al. 2019. « MSH3 Modifies Somatic Instability and Disease Severity in Huntington's and Myotonic Dystrophy Type 1 ». *Brain* 142 (7): 1876-86.

https://doi.org/10.1093/brain/awz115.
Fogli, A., et O. Boespflug-Tanguy. 2006. « The large spectrum of eIF2B-related diseases ». *Biochemical Society Transactions* 34 (1): 22-29. https://doi.org/10.1042/BST0340022.
Folstein, S. E. 1989. *Huntington's Disease: A Disorder of Families.* Johns Hopkins University Press : Baltimore. https://www-cambridge-org.bases-doc.univ-lorraine.fr/core/journals/psychological-medicine/article/huntingtons-disease-a-disorder-of-families-by-s-e-folstein-pp-251-2500-johns-hopkins-university-press-baltimore-1989/7567DFBD855422ED4EE8A5785C943889.
Fortugno, Paola, Francesco Angelucci, Gianluca Cestra, et al. 2019. « Recessive Mutations in the Neuronal Isoforms of DST, Encoding Dystonin, Lead to Abnormal Actin Cytoskeleton Organization and HSAN Type VI ». *Human Mutation* 40 (1): 106-14. https://doi.org/10.1002/humu.23678.
Fote, Gianna M., Vinay V. Eapen, Ryan G. Lim, et al. 2024. « Huntingtin Contains an Ubiquitin-Binding Domain and Regulates Lysosomal Targeting of Mitochondrial and RNA-Binding Proteins ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 121 (32): e2319091121. https://doi.org/10.1073/pnas.2319091121.
Franco, Carolina N., Laurence J. Seabrook, Steven T. Nguyen, Jack T. Leonard, et Lauren V. Albrecht. 2022. « Simplifying the B Complex: How Vitamins B6 and B9 Modulate One Carbon Metabolism in Cancer and Beyond ». *Metabolites* 12 (10): 961. https://doi.org/10.3390/metabo12100961.
Franken, Diana G., Henk J. Blom, Godfried H. J. Boers, Albert Tangerman, Chris M. G. Thomas, et Frans J. M. Trijbels. 1996. « Thiamine (vitamin B1) supplementation does not reduces fasting blood homocysteine concentration in most homozygotes for homocystinuria ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1317 (2): 101-4. https://doi.org/10.1016/S0925-4439(96)00033-6.
Friso, Simonetta, Silvia Udali, Domenica De Santis, et Sang-Woon Choi. 2017. « One-Carbon Metabolism and Epigenetics ». *Molecular Aspects of Medicine* 54 (avril): 28-36. https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.11.007.
Froese, D. Sean, et Roy A. Gravel. 2010. « Genetic Disorders of Vitamin B_{12}Metabolism: Eight Complementation Groups – Eight Genes ». *Expert Reviews in Molecular Medicine* 12 (novembre). https://doi.org/10.1017/s1462399410001651.
Fujita, Yuki, et Toshihide Yamashita. 2018. « Sirtuins in Neuroendocrine Regulation and Neurological Diseases ». *Frontiers in Neuroscience* 12 (octobre). https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00778.
Fuso, Andrea, Rosaria A. Cavallaro, Vincenzina Nicolia, et Sigfrido Scarpa. 2012. « PSEN1 Promoter Demethylation in Hyperhomocysteinemic TgCRND8 Mice Is the Culprit, Not the Consequence ». *Current Alzheimer Research* 9 (5): 527-35. https://doi.org/10.2174/156720512800618053.
Fyfe, John C., Mette Madsen, Peter Højrup, et al. 2004. « The Functional Cobalamin (Vitamin B12)-Intrinsic Factor Receptor Is a Novel Complex of Cubilin and Amnionless ». *Blood* 103 (5): 1573-79. https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2852.
Galvan, Laurie, Véronique M. André, Elizabeth A. Wang, Carlos Cepeda, et Michael S. Levine. 2012. « Functional Differences Between Direct and Indirect Striatal Output Pathways in Huntington's Disease ». *Journal of Huntington's disease* 1 (1): 17-25. https://doi.org/10.3233/JHD-2012-120009.
Gammella, Elena, Paolo Buratti, Gaetano Cairo, et Stefania Recalcati. 2017. « The transferrin receptor: the cellular iron gate ». *Metallomics* 9 (10): 1367-75. https://doi.org/10.1039/c7mt00143f.
Gao, Lan, Anuradha Bhattacharyya, Brian Beers, et al. 2024. « Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of PTC518, an Oral Huntingtin Lowering Splicing Modifier: A First-in-Human Study ». *British Journal of Clinical Pharmacology* 90 (12): 3242-51. https://doi.org/10.1111/bcp.16202.
Gardner, Tammy, et Azena Maur. 2022. « H05 Empowering the Huntingtons Community through Early Intervention Support and Disease Management Facilitation ». H: Clinical Care and Clinical Services. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 93 (Suppl 1): A65-A65. https://doi.org/10.1136/jnnp-2022-ehdn.169.
Garriga-Canut, Mireia, Carmen Agustín-Pavón, Frank Herrmann, et al. 2012. « Synthetic Zinc Finger Repressors Reduce Mutant Huntingtin Expression in the Brain of R6/2 Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (45): E3136-3145. https://doi.org/10.1073/pnas.1206506109.
Gehart, Helmuth, Susann Kumpf, Arne Ittner, et Romeo Ricci. 2010. « MAPK Signalling in Cellular Metabolism: Stress or Wellness? » *The EMBO Reports* 11 (11): 834-40.

https://doi.org/10.1038/embor.2010.160.
Gennarino, Vincenzo A., Ravi K. Singh, et H. Zoghbi. 2015. *Pumilio1 Haploinsufficiency Leads to SCA1-like Neurodegeneration by Increasing Wild-Type Ataxin1 Levels: Cell*. https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(15)00177-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867415001774%3Fshowall%3Dtrue.
Geoffroy, Andréa, Racha Kerek, Grégory Pourié, et al. 2017. « Late Maternal Folate Supplementation Rescues from Methyl Donor Deficiency-Associated Brain Defects by Restoring Let-7 and miR-34 Pathways ». *Molecular Neurobiology* 54 (7): 5017-33. https://doi.org/10.1007/s12035-016-0035-8.
Geoffroy, Andréa, Lynda Saber-Cherif, Grégory Pourié, et al. 2019. « Developmental Impairments in a Rat Model of Methyl Donor Deficiency: Effects of a Late Maternal Supplementation with Folic Acid ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (4): 973. https://doi.org/10.3390/ijms20040973.
George, Akash K., Rubens P. Homme, Avisek Majumder, et al. 2019. « Hydrogen sulfide intervention in cystathionine-β-synthase mutant mouse helps restore ocular homeostasis ». *International Journal of Ophthalmology* 12 (5): 754-64. https://doi.org/10.18240/ijo.2019.05.09.
Georgiou, N., J. L. Bradshaw, E. Chiu, A. Tudor, L. O'Gorman, et J. G. Phillips. 1999. « Differential Clinical and Motor Control Function in a Pair of Monozygotic Twins with Huntington's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 14 (2): 320-25. https://doi.org/10.1002/1531-8257(199903)14:2%253C320::aid-mds1018%253E3.0.co;2-z.
Ghemrawi, R., S. Pooya, S. Lorentz, et al. 2013. « Decreased Vitamin B12 Availability Induces ER Stress through Impaired SIRT1-Deacetylation of HSF1 ». *Cell Death & Disease* 4 (3): e553. https://doi.org/10.1038/cddis.2013.69.
Ghemrawi, Rose, Carole Arnold, Shyue-Fang Battaglia-Hsu, et al. 2019. « SIRT1 Activation Rescues the Mislocalization of RNA-Binding Proteins and Cognitive Defects Induced by Inherited Cobalamin Disorders ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 101 (décembre): 153992. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.153992.
Gherasim, Carmen, Michael Lofgren, et Ruma Banerjee. 2013. « Navigating the B(12) Road: Assimilation, Delivery, and Disorders of Cobalamin ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (19): 13186-93. https://doi.org/10.1074/jbc.R113.458810.
Ghosh, Rhia, et Sarah J. Tabrizi. 2018. « Clinical Features of Huntington's Disease ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1049: 1-28. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71779-1_1.
Giralt, A., M. Puigdellívol, O. Carretón, et al. 2012. « Long-term memory deficits in Huntington's disease are associated with reduced CBP histone acetylase activity ». *Human Molecular Genetics* 21 (6): 1203-16. https://doi.org/10.1093/hmg/ddr552.
Goldstrohm, Aaron C., Traci M. Tanaka Hall, et Katherine M. McKenney. 2018. « Post-Transcriptional Regulatory Functions of Mammalian Pumilio Proteins ». *Trends in Genetics* 34 (12): 972-90. https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.09.006.
Gomez-Pastor, Rocio, Eileen T. Burchfiel, Daniel W. Neef, et al. 2017. « Abnormal Degradation of the Neuronal Stress-Protective Transcription Factor HSF1 in Huntington's Disease ». *Nature Communications* 8 (février): 14405. https://doi.org/10.1038/ncomms14405.
Gómez-Tortosa, E., M. E. MacDonald, J. C. Friend, et al. 2001. « Quantitative Neuropathological Changes in Presymptomatic Huntington's Disease ». *Annals of Neurology* 49 (1): 29-34.
Gong, Ru, Linwei Qin, Linlin Chen, Ning Wang, Yifei Bao, et Wei Lu. 2024. « Myosin Va-dependent Transport of NMDA Receptors in Hippocampal Neurons ». *Neuroscience Bulletin* 40 (8): 1053-75. https://doi.org/10.1007/s12264-023-01174-y.
Gonitel, Roman, Hilary Moffitt, Kirupa Sathasivam, et al. 2008. « DNA instability in postmitotic neurons ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (9): 3467-72. https://doi.org/10.1073/pnas.0800048105.
González-Cota, Ana L., Daniel Martínez-Flores, Margarita Jacaranda Rosendo-Pineda, et Luis Vaca. 2024. « NMDA receptor-mediated Ca2+ signaling: Impact on cell cycle regulation and the development of neurodegenerative diseases and cancer ». *Cell Calcium* 119 (mai): 102856.

https://doi.org/10.1016/j.ceca.2024.102856.
Goodchild, Rose E., Kathrin Grundmann, et Antonio Pisani. 2013. « New Genetic Insights Highlight 'Old' Ideas on Motor Dysfunction in Dystonia ». *Trends in Neurosciences (Regular Ed.)* (England) 36 (12): 717-25. https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.09.003.
Green, Ralph, Lindsay H. Allen, Anne-Lise Bjørke-Monsen, et al. 2017. « Vitamin B12 Deficiency ». *Nature Reviews Disease Primers* 3 (1): 17040. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40.
Green, Ralph, et Clara Plattel. 2024. « Vitamin B12 Deficiency in Clinical Practice-Proceedings of the International B12 Conference, June 2023, Rotterdam ». *Food and Nutrition Bulletin* 45 (1_suppl): S3-4. https://doi.org/10.1177/03795721241228631.
Grogans, Shannon E., Eliza Bliss-Moreau, Kristin A. Buss, et al. 2023. « The Nature and Neurobiology of Fear and Anxiety: State of the Science and Opportunities for Accelerating Discovery ». *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 151 (août): 105237. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105237.
Guéant, Jean-Louis, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Viola J. Kosgei, et David Coelho. 2022. « Causes and Consequences of Impaired Methionine Synthase Activity in Acquired and Inherited Disorders of Vitamin B12 Metabolism ». *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 57 (2): 133-55. https://doi.org/10.1080/10409238.2021.1979459.
Guéant, Jean-Louis, Fares Namour, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, et Jean-Luc Daval. 2013. « Folate and Fetal Programming: A Play in Epigenomics? » *Trends in Endocrinology & Metabolism* 24 (6): 279-89. https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.01.010.
Guéant-Rodriguez, Rosa-Maria, Jean-Louis Guéant, Renée Debard, et al. 2006. « Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase *677T* and *1298C* alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations2 ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 83 (3): 701-7. https://doi.org/10.1093/ajcn.83.3.701.
Guedes-Dias, Pedro, Brígida R. Pinho, Tânia R. Soares, João de Proença, Michael R. Duchen, et Jorge M. A. Oliveira. 2016. « Mitochondrial Dynamics and Quality Control in Huntington's Disease ». *Neurobiology of Disease* 90 (juin): 51-57. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.09.008.
Guo, Jiawei, Qingquan Zheng, et Yong Peng. 2023. « BET proteins: Biological functions and therapeutic interventions ». *Pharmacology & Therapeutics* 243 (mars): 108354. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108354.
Guo, Qiang, Bin Huang, Jingdong Cheng, et al. 2018. « The Cryo-Electron Microscopy Structure of Huntingtin ». *Nature* 555 (7694): 117-20. https://doi.org/10.1038/nature25502.
Guo, Tao, Dandan Su, Juan Huang, et al. 2025. « Inhibiting MARS Attenuates Hyperhomocysteinemia-Associated Neurodegeneration in Parkinson's Disease ». *Neuropharmacology* 281 (décembre): 110685. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110685.
Guo, Tao, Lingyan Zhou, Min Xiong, et al. 2024. « N-Homocysteinylation of DJ-1 Promotes Neurodegeneration in Parkinson's Disease ». *Aging Cell* 23 (5): e14124. https://doi.org/10.1111/acel.14124.
Guo, Xiangge, Xumeng Wang, Jiaxuan Wang, Min Ma, et Qian Ren. 2025. « Current Development of iPSC-Based Modeling in Neurodegenerative Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 26 (8): 3774. https://doi.org/10.3390/ijms26083774.
Gupta, Sapna, Liqun Wang, et Warren D. Kruger. 2017. « The c.797 G>A (p.R266K) Cystathionine β-Synthase Mutation Causes Homocystinuria by Affecting Protein Stability ». *Human Mutation* 38 (7): 863-69. https://doi.org/10.1002/humu.23240.
Gusella, James F., et Marcy E. MacDonald. 2006. « Huntington's Disease: Seeing the Pathogenic Process through a Genetic Lens ». *Trends in Biochemical Sciences* 31 (9): 533-40. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.009.
Gusella, James F., Marcy E. MacDonald, et Jong-Min Lee. 2014. « Genetic Modifiers of Huntington's Disease ». *Movement Disorders* 29 (11): 1359-65. https://doi.org/10.1002/mds.26001.
Ha, Minju, et V. Narry Kim. 2014. « Regulation of microRNA Biogenesis ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 15 (8): 509-24. https://doi.org/10.1038/nrm3838.
Handsaker, Robert E., Seva Kashin, Nora M. Reed, et al. 2025a. « Long Somatic DNA-Repeat Expansion Drives Neurodegeneration in Huntington's Disease ». *Cell* 188 (3): 623-639.e19.

https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.11.038.
Handsaker, Robert E., Seva Kashin, Nora M. Reed, et al. 2025b. « Long Somatic DNA-Repeat Expansion Drives Neurodegeneration in Huntington's Disease ». *Cell* 188 (3): 623-639.e19. https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.11.038.
Hansen, Timothy, Claire Thant, Joseph A. White, Rupkatha Banerjee, Bhasirie Thuamsang, et Shermali Gunawardena. 2019. « Excess Active P13K Rescues Huntingtin-Mediated Neuronal Cell Death but Has No Effect on Axonal Transport Defects ». *Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death* 24 (3-4): 341-58. https://doi.org/10.1007/s10495-019-01520-4.
Hansen, Wiebke, Carsten Saft, Jürgen Andrich, et al. 2005a. « Failure to Confirm Influence of Methyltetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms on Age at Onset of Huntington Disease ». *Journal of Negative Results in Biomedicine* 4 (décembre): 12. https://doi.org/10.1186/1477-5751-4-12.
Hansen, Wiebke, Carsten Saft, Jürgen Andrich, et al. 2005b. « Failure to Confirm Influence of Methyltetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphisms on Age at Onset of Huntington Disease ». *Journal of Negative Results in Biomedicine* 4 (décembre): 12. https://doi.org/10.1186/1477-5751-4-12.
Hanson, Filipe M., Rachel E. Hodgson, Madalena I. Ribeiro de Oliveira, K. Elizabeth Allen, et Susan Gerarda Campbell. 2022. « Regulation and function of eIF2B in neurological and metabolic disorders ». *Bioscience Reports* 42 (6): BSR20211699. https://doi.org/10.1042/BSR20211699.
Haque, Mohammad Mahfuzul, Mekki Bayachou, Jesus Tejero, et al. 2014. « Distinct Conformational Behaviors of Four Mammalian Dual-Flavin Reductases (Cytochrome P450 Reductase, Methionine Synthase Reductase, Neuronal Nitric Oxide Synthase, Endothelial Nitric Oxide Synthase) Determine their Unique Catalytic Profiles ». *The FEBS journal* 281 (23): 5325-40. https://doi.org/10.1111/febs.13073.
Hardie, D. Grahame, Fiona A. Ross, et Simon A. Hawley. 2012. « AMPK: A Nutrient and Energy Sensor That Maintains Energy Homeostasis ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 13 (4): 251-62. https://doi.org/10.1038/nrm3311.
Hashim, Khairun Nisa Binti, Yukio Matsuba, Mika Takahashi, et al. 2024. « Neuronal Glutathione Depletion Elevates the Aβ42/Aβ40 Ratio and Tau Aggregation in Alzheimer's Disease Mice ». *FEBS Letters* 598 (13): 1576-90. https://doi.org/10.1002/1873-3468.14895.
Hassan, Ziad, David Coelho, Carine Bossenmeyer-Pourié, et al. 2023. « Cognitive Impairment Is Associated with AMPAR Glutamatergic Dysfunction in a Mouse Model of Neuronal Methionine Synthase Deficiency ». *Cells* 12 (9): 1267. https://doi.org/10.3390/cells12091267.
Hassan, Ziad, David Coelho, Tunay Kokten, et al. 2019. « Brain Susceptibility to Methyl Donor Deficiency: From Fetal Programming to Aging Outcome in Rats ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (22): 5692. https://doi.org/10.3390/ijms20225692.
Hayden, Michael R. 1983. « Reflections on the History of Huntington's Chorea ». *Trends in Neurosciences* 6 (janvier): 122-24. https://doi.org/10.1016/0166-2236(83)90062-0.
Health Research Authority. s. d. « A Study to Evaluate ALN-HTT02 in Adult Patients with Huntington's Disease ». Consulté le 18 décembre 2025. https://www.hra.nhs.uk/planning-and-improving-research/application-summaries/research-summaries/a-study-to-evaluate-aln-htt02-in-adult-patients-with-huntingtons-disease/.
Hegde, Ashok N., Logan E. Timm, Connor J. Sivley, et al. 2025. « Ubiquitin-Proteasome-Mediated Protein Degradation and Disorders of the Central Nervous System ». *International Journal of Molecular Sciences* 26 (3): 966. https://doi.org/10.3390/ijms26030966.
Herrmann, Wolfgang, et Rima Obeid. 2011. « Homocysteine: A Biomarker in Neurodegenerative Diseases ». *Cclm* 49 (3): 435-41. https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.084.
Hiraoka, Mami, et Yasuo Kagawa. 2017. « Genetic Polymorphisms and Folate Status ». *Congenital Anomalies* 57 (5): 142-49. https://doi.org/10.1111/cga.12232.
Ho, P. I., S. C. Collins, S. Dhitavat, et al. 2001. « Homocysteine Potentiates Beta-Amyloid Neurotoxicity: Role of Oxidative Stress ». *Journal of Neurochemistry* 78 (2): 249-53. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00384.x.
Hocaoglu, M. B., E. A. Gaffan, et A. K. Ho. 2012. « The Huntington's Disease Health-Related Quality of Life Questionnaire (HDQoL): A Disease-Specific Measure of Health-Related Quality of Life ». *Clinical Genetics* 81

(2): 117-22. https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01823.x.
Hoffmann-La Roche. 2025a. *A Phase 1/2, Randomized, Sequential, Dose-Escalation Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Efficacy of a One-Time, Bilateral, Intraparenchymal Infusion of SPK-10001 Into the Caudate and Putamen in Participants With Huntington's Disease*. Clinical trial registration No. NCT06826612. Clinicaltrials.gov. https://clinicaltrials.gov/study/NCT06826612.
Hoffmann-La Roche. 2025b. *A Phase II, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Dose-finding Study to Evaluate the Safety, Biomarkers, and Efficacy of Tominersen in Individuals With Prodromal and Early Manifest Huntington's Disease*. Clinical trial registration No. NCT05686551. Clinicaltrials.gov. https://clinicaltrials.gov/study/NCT05686551.
Hogarth, Penelope, Elise Kayson, Karl Kieburtz, et al. 2005. « Interrater Agreement in the Assessment of Motor Manifestations of Huntington's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 20 (3): 293-97. https://doi.org/10.1002/mds.20332.
Hu, Chen, Jing Yang, Ziping Qi, et al. 2022. « Heat Shock Proteins: Biological Functions, Pathological Roles, and Therapeutic Opportunities ». *MedComm* 3 (3): e161. https://doi.org/10.1002/mco2.161.
Hu, Yi, Vanita Chopra, Raman Chopra, et al. 2011. « Transcriptional Modulator H2A Histone Family, Member Y (H2AFY) Marks Huntington Disease Activity in Man and Mouse ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (41): 17141-46. https://doi.org/10.1073/pnas.1104409108.
Huang, Yuying, Shao-Rui Chen, et Hui-Lin Pan. 2022. « Calcineurin Regulates Synaptic Plasticity and Nociceptive Transmission at the Spinal Cord Level ». *The Neuroscientist* 28 (6): 628-38. https://doi.org/10.1177/10738584211046888.
Huemer, Martina, et Matthias R. Baumgartner. 2019. « The Clinical Presentation of Cobalamin-Related Disorders: From Acquired Deficiencies to Inborn Errors of Absorption and Intracellular Pathways ». *Journal of Inherited Metabolic Disease* 42 (4): 686-705. https://doi.org/10.1002/jimd.12012.
Huggins, Christopher J., Manasi K. Mayekar, Nancy Martin, et al. 2016. « C/EBPγ Is a Critical Regulator of Cellular Stress Response Networks through Heterodimerization with ATF4 ». *Molecular and Cellular Biology* 36 (5): 693-713. https://doi.org/10.1128/MCB.00911-15.
Humbert, Sandrine, et Monia Barnat. 2022. « Huntington's Disease and Brain Development ». *Comptes Rendus Biologies* 345 (2): 77-90. https://doi.org/10.5802/crbiol.93.
Hung, Chiu-Yueh, Chuanshu Zhu, Farooqahmed S. Kittur, et al. 2022. « A Plant-Based Mutant Huntingtin Model-Driven Discovery of Impaired Expression of GTPCH and DHFR ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 79 (11): 553. https://doi.org/10.1007/s00018-022-04587-6.
Hung, Claudia Lin-Kar, Tamara Maiuri, Laura Erin Bowie, et al. 2018. « A Patient-Derived Cellular Model for Huntington's Disease Reveals Phenotypes at Clinically Relevant CAG Lengths ». *Molecular Biology of the Cell* 29 (23): 2809-20. https://doi.org/10.1091/mbc.E18-09-0590.
Huntington, George. 2003. « On Chorea. George Huntington, M.D ». *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 15 (1): 109-12. https://doi.org/10.1176/jnp.15.1.109.
Huntington Study Group. 2006. « Tetrabenazine as Antichorea Therapy in Huntington Disease: A Randomized Controlled Trial ». *Neurology* 66 (3): 366-72. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000198586.85250.13.
Iannello, Grazia, Achchhe Patel, Dario Sirabella, et al. 2023. « Simple, Fast, and Efficient Method for Derivation of Dermal Fibroblasts From Skin Biopsies ». *Current Protocols* 3 (3): e714. https://doi.org/10.1002/cpz1.714.
Jacobsen, D. W. 2000. « Hyperhomocysteinemia and Oxidative Stress: Time for a Reality Check? » *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20 (5): 1182-84. https://doi.org/10.1161/01.atv.20.5.1182.
Jahanshahi, Marjan, Ignacio Obeso, John C. Rothwell, et José A. Obeso. 2015. « A Fronto–Striato–Subthalamic–Pallidal Network for Goal-Directed and Habitual Inhibition ». *Nature Reviews Neuroscience* 16 (12): 719-32. https://doi.org/10.1038/nrn4038.
Jakubowski, H. 1999. « Protein Homocysteinylation: Possible Mechanism Underlying Pathological Consequences of Elevated Homocysteine Levels ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13 (15): 2277-83.

Jakubowski, Hieronim. 2019. « Homocysteine Modification in Protein Structure/Function and Human Disease ». *Physiological Reviews* 99 (1): 555-604. https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2018.
Jakubowski, Hieronim. 2024a. « Homocysteine Thiolactone Detoxifying Enzymes and Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 25 (15): 8095. https://doi.org/10.3390/ijms25158095.
Jakubowski, Hieronim. 2024b. « Homocysteine Thiolactone Detoxifying Enzymes and Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 25 (15): 8095. https://doi.org/10.3390/ijms25158095.
Jakubowski, Hieronim, et Rafał Głowacki. 2011. « Chemical Biology of Homocysteine Thiolactone and Related Metabolites ». *Advances in Clinical Chemistry* 55: 81-103. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387042-1.00005-8.
Jankovic, Joseph. 2009. *Treatment of Hyperkinetic Movement Disorders*.
Jankovic, Joseph, et Raymund A. C. Roos. 2014. « Chorea Associated with Huntington's Disease: To Treat or Not to Treat? » *Movement Disorders* 29 (11): 1414-18. https://doi.org/10.1002/mds.25996.
Jiang, Andrew, Renee R. Handley, Klaus Lehnert, et Russell G. Snell. 2023. « From Pathogenesis to Therapeutics: A Review of 150 Years of Huntington's Disease Research ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (16). https://doi.org/10.3390/ijms241613021.
Jiang, Peipei, et Qian Bian. 2025. « Pre-Established ATF4 Occupancy and Chromatin Organization Instruct Selective Transcription Activation during Integrated Stress Response ». *Nature Communications* 16 (1): 9502. https://doi.org/10.1038/s41467-025-64577-7.
Jin, Xin, Fatuel Tecuapetla, et Rui M. Costa. 2014. « Basal Ganglia Subcircuits Distinctively Encode the Parsing and Concatenation of Action Sequences ». *Nature neuroscience* 17 (3): 423-30. https://doi.org/10.1038/nn.3632.
Jin, Youngnam N., Yanxun V. Yu, Soner Gundemir, et al. 2013. « Impaired Mitochondrial Dynamics and Nrf2 Signaling Contribute to Compromised Responses to Oxidative Stress in Striatal Cells Expressing Full-Length Mutant Huntingtin ». *PLoS ONE* 8 (3): e57932. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057932.
Johri, Ashu, Abhishek Chandra, et M. Flint Beal. 2013. « PGC-1α, Mitochondrial Dysfunction and Huntington's Disease ». *Free radical biology & medicine* 62 (septembre): 37-46. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.04.016.
Jomova, Klaudia, Renata Raptova, Suliman Y. Alomar, et al. 2023. « Reactive Oxygen Species, Toxicity, Oxidative Stress, and Antioxidants: Chronic Diseases and Aging ». *Archives of Toxicology* 97 (10): 2499-574. https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9.
Jomova, Klaudia, et Marian Valko. 2011. « Advances in Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease ». *Toxicology* 283 (2-3): 65-87. https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001.
Joshi, Garima, Harsh Vardhan Singh, et Ram Kumar Mishra. 2025. « Coronin1C SUMOylation Modulates Filopodia Formation, Neuritogenesis, and Neuronal Differentiation ». Prépublication, bioRxiv, septembre 30. https://doi.org/10.1101/2025.09.29.679180.
Jothi, D., et Linda Anna Michelle Kulka. 2024. « Strategies for Modeling Aging and Age-Related Diseases ». *Npj Aging* 10 (1): 32. https://doi.org/10.1038/s41514-024-00161-5.
Ju, Tz-Chuen, Yow-Sien Lin, et Yijuang Chern. 2012. « Energy Dysfunction in Huntington's Disease: Insights from PGC-1α, AMPK, and CKB ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 69 (24): 4107-20. https://doi.org/10.1007/s00018-012-1025-2.
Jung, Taeyang, Baehyun Shin, Giorgio Tamo, et al. 2020. « The Polyglutamine Expansion at the N-Terminal of Huntingtin Protein Modulates the Dynamic Configuration and Phosphorylation of the C-Terminal HEAT Domain ». *Structure (London, England : 1993)* 28 (9): 1035-1050.e8. https://doi.org/10.1016/j.str.2020.06.008.
Jurcau, Anamaria. 2021. « Insights into the Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases: Focus on Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (21): 11847. https://doi.org/10.3390/ijms222111847.
Jurcau, Anamaria. 2022. « Molecular Pathophysiological Mechanisms in Huntington's Disease ». *Biomedicines* 10 (6). https://doi.org/10.3390/biomedicines10061432.
Jurcau, Anamaria, et Carolina Maria Jurcau. 2022. « Mitochondria in Huntington's disease: implications in pathogenesis and mitochondrial-targeted therapeutic strategies ». *Neural Regeneration Research* 18 (7):

1472-77. https://doi.org/10.4103/1673-5374.360289.
K, Arora, Sequeira Jm, Alarcon Jm, et al. 2019. « Neuropathology of Vitamin B12 Deficiency in the Cd320-/- Mouse ». *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 33 (2). https://doi.org/10.1096/fj.201800754RR.
K C, Basavaraju, et Poornima Priyadarshini. 2025. « From Synaptic Dynamics to Cognitive Decline: Molecular Insights into Neuroplasticity ». *Life Sciences* 380 (novembre): 123937. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2025.123937.
Kacher, Radhia, Coline Mounier, Jocelyne Caboche, et Sandrine Betuing. 2022. « Altered Cholesterol Homeostasis in Huntington's Disease ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 14 (avril): 797220. https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.797220.
Kapadia, C. R., D. Serfilippi, K. Voloshin, et R. M. Donaldson. 1983. « Intrinsic Factor-Mediated Absorption of Cobalamin by Guinea Pig Ileal Cells ». *The Journal of Clinical Investigation* 71 (3): 440-48. https://doi.org/10.1172/jci110788.
Kaplan, Peter, Zuzana Tatarkova, Monika Kmetova Sivonova, Peter Racay, et Jan Lehotsky. 2020. « Homocysteine and Mitochondria in Cardiovascular and Cerebrovascular Systems ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (20): 7698. https://doi.org/10.3390/ijms21207698.
Kar, Pulak, Chatrin Chatrin, Nina Đukić, et al. 2024. « PARP14 and PARP9/DTX3L regulate interferon-induced ADP-ribosylation ». *The EMBO Journal* 43 (14): 2929-53. https://doi.org/10.1038/s44318-024-00126-0.
Kennedy, Laura, Elizabeth Evans, Chiung-Mei Chen, et al. 2003. « Dramatic tissue-specific mutation length increases are an early molecular event in Huntington disease pathogenesis ». *Human Molecular Genetics* 12 (24): 3359-67. https://doi.org/10.1093/hmg/ddg352.
Kerek, R., A. Geoffroy, A. Bison, et al. 2013. « Early Methyl Donor Deficiency May Induce Persistent Brain Defects by Reducing Stat3 Signaling Targeted by miR-124 ». *Cell Death & Disease* 4 (8): e755. https://doi.org/10.1038/cddis.2013.278.
Khazaei, Sima, Reza Yousefi, et Mohammad-Mehdi Alavian-Mehr. 2012. « Aggregation and Fibrillation of Eye Lens Crystallins by Homocysteinylation; Implication in the Eye Pathological Disorders ». *The Protein Journal* 31 (8): 717-27. https://doi.org/10.1007/s10930-012-9451-4.
Khodadadi, Sirus, Gholam Hossein Riazi, Shahin Ahmadian, Elham Hoveizi, Oveis Karima, et Hassan Aryapour. 2012. « Effect of N-Homocysteinylation on Physicochemical and Cytotoxic Properties of Amyloid β-Peptide ». *FEBS Letters* 586 (2): 127-31. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.12.018.
Kim, Hyuck, et Rocio Gomez-Pastor. 2023. « HSF1 and Its Role in Huntington's Disease Pathology ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1410: 35-95. https://doi.org/10.1007/5584_2022_742.
King, Zayna T., Mitchell T. Butler, Max A. Hockenberry, et al. 2022. « Coro1B and Coro1C regulate lamellipodia dynamics and cell motility by tuning branched actin turnover ». *Journal of Cell Biology* 221 (8): e202111126. https://doi.org/10.1083/jcb.202111126.
Kipps, C. M., A. J. Duggins, N. Mahant, L. Gomes, J. Ashburner, et E. A. McCusker. 2005. « Progression of Structural Neuropathology in Preclinical Huntington's Disease: A Tensor Based Morphometry Study ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 76 (5): 650-55. https://doi.org/10.1136/jnnp.2004.047993.
Klemmensen, Madelyn M., Seth H. Borrowman, Colin Pearce, Benjamin Pyles, et Bharatendu Chandra. 2024. « Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Disorders ». *Neurotherapeutics* 21 (1). https://doi.org/10.1016/j.neurot.2023.10.002.
Koch, Ellen T., Judy Cheng, Daniel Ramandi, et al. 2024. « Deep Behavioural Phenotyping of the Q175 Huntington Disease Mouse Model: Effects of Age, Sex, and Weight ». *BMC Biology* 22 (1): 121. https://doi.org/10.1186/s12915-024-01919-9.
Koch, Ellen T., et Lynn A. Raymond. 2019. « Dysfunctional Striatal Dopamine Signaling in Huntington's Disease ». *Journal of Neuroscience Research* 97 (12): 1636-54. https://doi.org/10.1002/jnr.24495.
Koklesova, Lenka, Alena Mazurakova, Marek Samec, et al. 2021. « Homocysteine metabolism as the target for predictive medical approach, disease prevention, prognosis, and treatments tailored to the person ». *The EPMA Journal* 12 (4): 477-505. https://doi.org/10.1007/s13167-021-00263-0.
Koo, E. H., P. T. Lansbury, et J. W. Kelly. 1999. « Amyloid Diseases: Abnormal Protein Aggregation in

Neurodegeneration ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (18): 9989-90. https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.9989.
Kosgei, Viola J., David Coelho, Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, et Jean-Louis Guéant. 2020. « Sirt1-PPARS Cross-Talk in Complex Metabolic Diseases and Inherited Disorders of the One Carbon Metabolism ». *Cells* 9 (8): 1882. https://doi.org/10.3390/cells9081882.
Koval, Igor, Thomas Dighiero-Brecht, Allan J. Tobin, et al. 2022. « Forecasting Individual Progression Trajectories in Huntington Disease Enables More Powered Clinical Trials ». *Scientific Reports* 12 (1): 18928. https://doi.org/10.1038/s41598-022-18848-8.
Kovalenko, Marina, Ella Dragileva, Jason St. Claire, et al. 2012. « Msh2 Acts in Medium-Spiny Striatal Neurons as an Enhancer of CAG Instability and Mutant Huntingtin Phenotypes in Huntington's Disease Knock-In Mice ». *PLoS ONE* 7 (9): e44273. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044273.
Kowluru, Renu A., et Ghulam Mohammad. 2022. « Mitochondrial Fragmentation in a High Homocysteine Environment in Diabetic Retinopathy ». *Antioxidants* 11 (2). https://doi.org/10.3390/antiox11020365.
Kraeuter, Ann-Katrin, Paul C. Guest, et Zoltán Sarnyai. 2019. « The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1916: 105-11. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_10.
Kremer, B., E. Almqvist, J. Theilmann, et al. 1995. « Sex-Dependent Mechanisms for Expansions and Contractions of the CAG Repeat on Affected Huntington Disease Chromosomes ». *American Journal of Human Genetics* 57 (2): 343-50.
Kremer, H. P., R. A. Roos, G. M. Dingjan, G. T. Bots, G. W. Bruyn, et M. A. Hofman. 1991. « The Hypothalamic Lateral Tuberal Nucleus and the Characteristics of Neuronal Loss in Huntington's Disease ». *Neuroscience Letters* 132 (1): 101-4. https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90443-w.
Krzystek, Thomas J., et Shermali Gunawardena. 2025. « Navigating the Neuronal Recycling Bin: Another Look at Huntingtin in Coordinating Autophagy ». *Autophagy Reports* 4 (1): 2472450. https://doi.org/10.1080/27694127.2025.2472450.
Kulesskaya, Natalia, et Vootele Voikar. 2014. « Assessment of Mouse Anxiety-like Behavior in the Light-Dark Box and Open-Field Arena: Role of Equipment and Procedure ». *Physiology & Behavior* 133 (juin): 30-38. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.006.
Kumar, Amit, et Rajiv R. Ratan. 2016. « Oxidative Stress and Huntington's Disease: The Good, The Bad, and The Ugly ». *Journal of Huntington's Disease* 5 (3): 217-37. https://doi.org/10.3233/JHD-160205.
Kumar, Ashwini Prem, et Devaraj Thittayil Puthussery. 2025. « Regulation of PPAR-γ Coactivator-1α and Its Implication in Mitochondrial Function and Neurodegenerative Diseases ». *Ageing Research Reviews* 112 (décembre): 102887. https://doi.org/10.1016/j.arr.2025.102887.
Kwa, Lauren, Danielle Larson, Chen Yeh, et Danny Bega. 2020. « Influence of Age of Onset on Huntington's Disease Phenotype ». *Tremor and Other Hyperkinetic Movements* 10 (0). https://doi.org/10.5334/tohm.536.
L, Peng, Dreumont N, Coelho D, Guéant Jl, et Arnold C. 2016. « Genetic Animal Models to Decipher the Pathogenic Effects of Vitamin B12 and Folate Deficiency ». *Biochimie* 126 (juillet). https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.05.007.
Labbadia, John, et Richard I. Morimoto. 2013. « Huntington's disease: underlying molecular mechanisms and emerging concepts ». *Trends in biochemical sciences* 38 (8): 378-85. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.05.003.
Laccone, F., U. Engel, E. Holinski-Feder, et al. 1999. « DNA Analysis of Huntington's Disease: Five Years of Experience in Germany, Austria, and Switzerland ». *Neurology* 53 (4): 801-6. https://doi.org/10.1212/wnl.53.4.801.
Lai, Shao-Chiang, Yasumi Nakayama, Jeffrey M. Sequeira, et al. 2013. « The Transcobalamin Receptor Knockout Mouse: A Model for Vitamin B12 Deficiency in the Central Nervous System ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 27 (6): 2468-75. https://doi.org/10.1096/fj.12-219055.
Lajoie, Patrick, et Erik L. Snapp. 2011. « Changes in BiP Availability Reveal Hypersensitivity to Acute Endoplasmic Reticulum Stress in Cells Expressing Mutant Huntingtin ». *Journal of Cell Science* 124 (Pt 19): 3332-43. https://doi.org/10.1242/jcs.087510.

Lang, Yue, Yanan Lyu, Yehui Tan, et Zheng Hu. 2023. « Progress in Construction of Mouse Models to Investigate the Pathogenesis and Immune Therapy of Human Hematological Malignancy ». *Frontiers in Immunology* 14 (août). https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1195194.
Langbehn, Douglas R., Michael R. Hayden, Jane S. Paulsen, et and the PREDICT-HD Investigators of the Huntington Study Group. 2010. « CAG-Repeat Length and the Age of Onset in Huntington Disease (HD): A Review and Validation Study of Statistical Approaches ». *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 153B (2): 397-408. https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30992.
L'Association Huntington France – Huntington. s. d. Consulté le 18 mars 2025. https://huntington.fr/association/.
Lee, Hyeseung, Robert J. Fenster, S. Sebastian Pineda, et al. 2020. « Cell Type-Specific Transcriptomics Reveals That Mutant Huntingtin Leads to Mitochondrial RNA Release and Neuronal Innate Immune Activation ». *Neuron* 107 (5): 891-908.e8. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.021.
Lee, Jong-Min, Kevin Correia, Jacob Loupe, et al. 2019. « CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset ». *Cell* 178 (4): 887-900.e14. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.036.
Lee, Jong-Min, Zachariah L. McLean, Kevin Correia, et al. 2025. « Genetic Modifiers of Somatic Expansion and Clinical Phenotypes in Huntington's Disease Highlight Shared and Tissue-Specific Effects ». *Nature Genetics* 57 (6): 1426-36. https://doi.org/10.1038/s41588-025-02191-5.
Lee, Jong-Min, Vanessa C. Wheeler, Michael J. Chao, et al. 2015. « Identification of Genetic Factors That Modify Clinical Onset of Huntington's Disease ». *Cell* 162 (3): 516-26. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.003.
Leite, Diana Moreira, Rhianna Lenham, Philippa Malko, et al. 2025. « Profiling Lysosomal and Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Diseases Using Human Fibroblasts for Translational Therapeutic Screening ». Prépublication, bioRxiv, juin 25. https://doi.org/10.1101/2025.06.24.661057.
Lenoir, Sophie, Romane A. Lahaye, Hélène Vitet, et al. 2022. « Pridopidine Rescues BDNF/TrkB Trafficking Dynamics and Synapse Homeostasis in a Huntington Disease Brain-on-a-Chip Model ». *Neurobiology of Disease* 173 (octobre): 105857. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105857.
Leoni, Valerio, et Claudio Caccia. 2014. « Study of Cholesterol Metabolism in Huntington's Disease ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 446 (3): 697-701. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.01.188.
Lesca, G., C. Goizet, et A. Durr. 2002. « Predictive testing in the context of pregnancy: experience in Huntington's disease and autosomal dominant cerebellar ataxia ». *Journal of Medical Genetics* 39 (7): 522-25. https://doi.org/10.1136/jmg.39.7.522.
Levine, M. S., G. J. Klapstein, A. Koppel, et al. 1999. « Enhanced Sensitivity to N-Methyl-D-Aspartate Receptor Activation in Transgenic and Knockin Mouse Models of Huntington's Disease ». *Journal of Neuroscience Research* 58 (4): 515-32.
Levin-Konigsberg, Roni, Koushambi Mitra, Kaitlyn Spees, et al. 2025. « An SLC12A9-Dependent Ion Transport Mechanism Maintains Lysosomal Osmolarity ». *Developmental Cell* 60 (2): 220-235.e7. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2024.10.003.
Levy, Julien, Rosa-Maria Rodriguez-Guéant, Abderrahim Oussalah, et al. 2021. « Cardiovascular Manifestations of Intermediate and Major Hyperhomocysteinemia Due to Vitamin B12 and Folate Deficiency and/or Inherited Disorders of One-Carbon Metabolism: A 3.5-Year Retrospective Cross-Sectional Study of Consecutive Patients ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 113 (5): 1157-67. https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa432.
Li, Jin, Xiaohan Pan, Guihua Pan, et al. 2020. « Transferrin Receptor 1 Regulates Thermogenic Capacity and Cell Fate in Brown/Beige Adipocytes ». *Advanced Science* 7 (12): 1903366. https://doi.org/10.1002/advs.201903366.
Licking, Nicole, Charles Murchison, Brenna Cholerton, et al. 2017. « Homocysteine and Cognitive Function in Parkinson's Disease ». *Parkinsonism & Related Disorders* 44 (novembre): 1-5. https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.08.005.

Lin, Wan-Hsin, Caroline A. Nebhan, Bridget R. Anderson, et Donna J. Webb. 2010. « Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein (VASP) Induces Actin Assembly in Dendritic Spines to Promote Their Development and Potentiate Synaptic Strength * ». *Journal of Biological Chemistry* 285 (46): 36010-20. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.129841.
Lionaki, Eirini, Christina Ploumi, et Nektarios Tavernarakis. 2022. « One-Carbon Metabolism: Pulling the Strings behind Aging and Neurodegeneration ». *Cells* 11 (2): 214. https://doi.org/10.3390/cells11020214.
Liot, Géraldine, Julien Valette, Jérémy Pépin, Julien Flament, et Emmanuel Brouillet. 2017. « Energy Defects in Huntington's Disease: Why "in Vivo" Evidence Matters ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 483 (4): 1084-95. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.065.
Liu, Li, Huichun Tong, Yize Sun, et al. 2023. « Huntingtin Interacting Proteins and Pathological Implications ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (17): 13060. https://doi.org/10.3390/ijms241713060.
Liu, Meng-Lu, Tong Zang, et Chun-Li Zhang. 2016. « Direct Lineage Reprogramming Reveals Disease-Specific Phenotypes of Motor Neurons from Human ALS Patients ». *Cell Reports* 14 (1): 115-28. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.018.
Liu, XinJian ; Huang, Qian ; Li, Fang ; Li, Chuan-Yuan. 2014. *Enhancing the efficiency of direct reprogramming of human primary fibroblasts into dopaminergic neuron-like cells through p53 suppression | Science China Life Sciences*. https://link-springer-com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/10.1007/s11427-014-4730-2.
Liu, Yang, Zhen Wang, Ya-Ting Ma, et al. 2025. « STAT1 and STAT6 orchestrate Cbs transcription and transsulfur metabolism in microglia and contribute to parkinson's disease-related neuroinflammation ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 82 (1): 294. https://doi.org/10.1007/s00018-025-05768-9.
Long, Junpeng, Shasha Liu, Yaning Shi, Chanjuan Zhang, Li Qin, et Qidi Ai. 2026. « Targeting Lipid Metabolism in Neurodegenerative Diseases: From Experimental to Clinical ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 175 (février): 156436. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2025.156436.
Lontay, Beata, Andrea Kiss, László Virág, et Krisztina Tar. 2020. « How Do Post-Translational Modifications Influence the Pathomechanistic Landscape of Huntington's Disease? A Comprehensive Review ». *International Journal of Molecular Sciences* 21 (12): 4282. https://doi.org/10.3390/ijms21124282.
Lorenzo, Damaris N., Reginald J. Edwards, et Anastasia L. Slavutsky. 2023a. « Spectrins: Molecular Organizers and Targets of Neurological Disorders ». *Nature Reviews. Neuroscience* 24 (4): 195-212. https://doi.org/10.1038/s41583-022-00674-6.
Lorenzo, Damaris N., Reginald J. Edwards, et Anastasia L. Slavutsky. 2023b. « Spectrins: Molecular Organizers and Targets of Neurological Disorders ». *Nature Reviews Neuroscience* 24 (4): 195-212. https://doi.org/10.1038/s41583-022-00674-6.
Loureiro, Samanta Oliveira, Luana Heimfarth, Bruna Arcce Lacerda, et al. 2009. « Homocysteine Induces Hypophosphorylation of Intermediate Filaments and Reorganization of Actin Cytoskeleton in C6 Glioma Cells ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 30 (4): 557-68. https://doi.org/10.1007/s10571-009-9480-5.
Lubos, Edith, Joseph Loscalzo, et Diane E. Handy. 2011. « Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities ». *Antioxidants & Redox Signaling* 15 (7): 1957-97. https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586.
Luthra, Nijee S., Soeun Kim, Yunxi Zhang, Chadwick W. Christine, et NINDS NET-PD Investigators. 2018. « Characterization of Vitamin D Supplementation and Clinical Outcomes in a Large Cohort of Early Parkinson's Disease ». *Journal of Clinical Movement Disorders* 5: 7. https://doi.org/10.1186/s40734-018-0074-6.
Luzzi, Simona, Veronica Cherubini, Lorenzo Falsetti, Giovanna Viticchi, Mauro Silvestrini, et Alessio Toraldo. 2022. « Homocysteine, Cognitive Functions, and Degenerative Dementias: State of the Art ». *Biomedicines* 10 (11): 2741. https://doi.org/10.3390/biomedicines10112741.
Lyon, Peter, Victoria Strippoli, Byron Fang, et Luisa Cimmino. 2020. « B Vitamins and One-Carbon Metabolism: Implications in Human Health and Disease ». *Nutrients* 12 (9): 2867. https://doi.org/10.3390/nu12092867.
M, Watanabe, Osada J, Aratani Y, et al. 1995. « Mice Deficient in Cystathionine Beta-Synthase: Animal Models for Mild and Severe Homocyst(e)Inemia ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92 (5). https://doi.org/10.1073/pnas.92.5.1585.

MacDonald, M. E., J. P. Vonsattel, J. Shrinidhi, et al. 1999. « Evidence for the GluR6 Gene Associated with Younger Onset Age of Huntington's Disease ». *Neurology* 53 (6): 1330-32. https://doi.org/10.1212/wnl.53.6.1330.
MacDonald, Marcy E., Christine M. Ambrose, Mabel P. Duyao, et al. 1993. « A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes ». *Cell* 72 (6): 971-83. https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-E.
Macdonald, V., G. M. Halliday, R. J. Trent, et E. A. McCusker. 1997. « Significant Loss of Pyramidal Neurons in the Angular Gyrus of Patients with Huntington's Disease ». *Neuropathology and Applied Neurobiology* 23 (6): 492-95. https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1997.tb01326.x.
Majtan, Tomas, Ela Mijatovic, et Maria Petrosino. 2025. « Understanding the Impact of Mutations in the Cystathionine Beta-Synthase Gene: Towards Novel Therapeutics for Homocystinuria ». *Molecular and Cellular Biology* 45 (8): 327-42. https://doi.org/10.1080/10985549.2025.2511338.
Mamdani, Firoza, Matthieu D. Weber, Blynn Bunney, et al. 2022. « Identification of Potential Blood Biomarkers Associated with Suicide in Major Depressive Disorder ». *Translational Psychiatry* 12 (1): 159. https://doi.org/10.1038/s41398-022-01918-w.
Mangiarini, Laura, Kirupa Sathasivam, Mary Seller, et al. 1996. « Exon 1 of the HD Gene with an Expanded CAG Repeat Is Sufficient to Cause a Progressive Neurological Phenotype in Transgenic Mice ». *Cell* 87 (3): 493-506. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81369-0.
Mangin, Jean-Francois, Denis Rivière, Edouard Duchesnay, et al. 2020. « Neocortical morphometry in Huntington's disease: Indication of the coexistence of abnormal neurodevelopmental and neurodegenerative processes ». *NeuroImage: Clinical* 26 (janvier): 102211. https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102211.
Margolis, Russell L., Susan E. Holmes, Adam Rosenblatt, et al. 2004. « Huntington's Disease-like 2 (HDL2) in North America and Japan ». *Annals of Neurology* 56 (5): 670-74. https://doi.org/10.1002/ana.20248.
Marinina, Ksenia S., Daria S. Malkova, Ilya B. Bezprozvanny, et Polina A. Egorova. 2026. « Alleviation of Cerebellar Impairment, Cognitive Decline, and Depression by a Chlorzoxazone-Folic Acid Combination in a Huntington's Disease Transgenic Mouse Model ». *Journal of Huntington's Disease*, février 25, 18796397261426432. https://doi.org/10.1177/18796397261426432.
Marro, Samuele, Zhiping P. Pang, Nan Yang, et al. 2011. « Direct Lineage Conversion of Terminally Differentiated Hepatocytes to Functional Neurons ». *Cell Stem Cell* 9 (4): 374-82. https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.09.002.
Martin, Dale D. O., Safia Ladha, Dagmar E. Ehrnhoefer, et Michael R. Hayden. 2015. « Autophagy in Huntington Disease and Huntingtin in Autophagy ». *Trends in Neurosciences* 38 (1): 26-35. https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.09.003.
Martinez, Mauricio, Geraldine J. Cuskelly, Jerry Williamson, John P. Toth, et Jesse F. Gregory. 2000. « Vitamin B-6 Deficiency in Rats Reduces Hepatic Serine Hydroxymethyltransferase and Cystathionine β-Synthase Activities and Rates of In Vivo Protein Turnover, Homocysteine Remethylation and Transsulfuration ». *The Journal of Nutrition* 130 (5): 1115-23. https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1115.
Massacci, Giorgia, Livia Perfetto, et Francesca Sacco. 2023. « The Cyclin-Dependent Kinase 1: More than a Cell Cycle Regulator ». *British Journal of Cancer* 129 (11): 1707-16. https://doi.org/10.1038/s41416-023-02468-8.
Matilla-Dueñas, Antoni, Marc Corral-Juan, Agustí Rodríguez-Palmero Seuma, et al. 2017. « Rare Neurodegenerative Diseases: Clinical and Genetic Update ». In *Rare Diseases Epidemiology: Update and Overview*, édité par Manuel Posada de la Paz, Domenica Taruscio, et Stephen C. Groft. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67144-4_25.
Matmat, Karim, Jean-Baptiste Conart, Paul-Henri Graindorge, et al. 2023. « A transgenic mice model of retinopathy of cblG-type inherited disorder of one-carbon metabolism highlights epigenome-wide alterations related to cone photoreceptor cells development and retinal metabolism ». *Clinical Epigenetics* 15 (octobre): 158. https://doi.org/10.1186/s13148-023-01567-w.
Matmat, Karim, Ziad Hassan, Grégory Pourié, et al. 2026. « SIRT1 Mediates Brain Metabolic and Developmental Consequences of Methionine Synthase Deficiency in Inborn Errors of Cobalamin

Metabolism. » *Cell Rep Med*, 102643-102643.
Matuszek, Zaneta, Mandana Arbab, Maheswaran Kesavan, et al. 2025. « Base Editing of Trinucleotide Repeats That Cause Huntington's Disease and Friedreich's Ataxia Reduces Somatic Repeat Expansions in Patient Cells and in Mice ». *Nature Genetics* 57 (6): 1437-51. https://doi.org/10.1038/s41588-025-02172-8.
McCorvie, Thomas J., Douglas Ferreira, Wyatt W. Yue, et D. Sean Froese. 2023. « The Complex Machinery of Human Cobalamin Metabolism ». *Journal of Inherited Metabolic Disease* 46 (3): 406-20. https://doi.org/10.1002/jimd.12593.
McCubrey, James A., Michelle M. LaHair, et Richard A. Franklin. 2006. « Reactive Oxygen Species-Induced Activation of the MAP Kinase Signaling Pathways ». *Antioxidants & Redox Signaling* 8 (9-10): 1775-89. https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1775.
McDonald, Tanya S., Titaya Lerskiatiphanich, Trent M. Woodruff, Pamela A. McCombe, et John D. Lee. 2023. « Potential Mechanisms to Modify Impaired Glucose Metabolism in Neurodegenerative Disorders ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 43 (1): 26-43. https://doi.org/10.1177/0271678X221135061.
McDowell, I. F., et D. Lang. 2000. « Homocysteine and Endothelial Dysfunction: A Link with Cardiovascular Disease ». *The Journal of Nutrition* 130 (2S Suppl): 369S-372S. https://doi.org/10.1093/jn/130.2.369S.
Medina, Alex, Yasamin Mahjoub, Larry Shaver, et Tamara Pringsheim. 2022a. « Prevalence and Incidence of Huntington's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis ». *Movement Disorders* 37 (12): 2327-35. https://doi.org/10.1002/mds.29228.
Medina, Alex, Yasamin Mahjoub, Larry Shaver, et Tamara Pringsheim. 2022b. « Prevalence and Incidence of Huntington's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis ». *Movement Disorders* 37 (12): 2327-35. https://doi.org/10.1002/mds.29228.
Meer, L. B. van der, E. van Duijn, R. Wolterbeek, et A. Tibben. 2012. « Adverse Childhood Experiences of Persons at Risk for Huntington's Disease or BRCA1/2 Hereditary Breast/Ovarian Cancer ». *Clinical Genetics* 81 (1): 18-23. https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01778.x.
Mei, Xin-Yu, Xia-Di He, Lei Huang, et al. 2016. « Dehomocysteinylation Is Catalysed by the Sirtuin-2-like Bacterial Lysine Deacetylase CobB ». *The FEBS Journal* 283 (22): 4149-62. https://doi.org/10.1111/febs.13912.
Mellor, Christopher, Elisabeth A. Larson, et Meng Wang. 2025. « Mechanisms of Genome Instability from Cellular Folate Stress ». *The Journal of Cell Biology* 224 (9): e202502205. https://doi.org/10.1083/jcb.202502205.
Menalled, Liliana B., et Marie-Françoise Chesselet. 2002. « Mouse Models of Huntington's Disease ». *Trends in Pharmacological Sciences* 23 (1): 32-39. https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01884-8.
Menalled, Liliana B., Andrea E. Kudwa, Sam Miller, et al. 2012. « Comprehensive Behavioral and Molecular Characterization of a New Knock-in Mouse Model of Huntington's Disease: zQ175 ». *PloS One* 7 (12): e49838. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049838.
Menalled, Liliana B., Jessica D. Sison, Ioannis Dragatsis, Scott Zeitlin, et Marie-Françoise Chesselet. 2003. « Time Course of Early Motor and Neuropathological Anomalies in a Knock-in Mouse Model of Huntington's Disease with 140 CAG Repeats ». *The Journal of Comparative Neurology* 465 (1): 11-26. https://doi.org/10.1002/cne.10776.
Menalled, Liliana, Bassem F. El-Khodor, Monica Patry, et al. 2009. « Systematic behavioral evaluation of Huntington's disease transgenic and knock-in mouse models ». *Neurobiology of Disease* 35 (3): 319-36. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.05.007.
Michael Whitehead, V. 2006. « Acquired and Inherited Disorders of Cobalamin and Folate in Children ». *British Journal of Haematology* 134 (2): 125-36. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06133.x.
Mihara, Akane, Tomoyuki Ohara, Jun Hata, et al. 2022. « Association of Serum S-Adenosylmethionine, s-Adenosylhomocysteine, and Their Ratio with the Risk of Dementia and Death in a Community ». *Scientific Reports* 12 (1): 12427. https://doi.org/10.1038/s41598-022-16242-y.
Mishra, Priya, Amit Kumar Mittal, Harikesh Kalonia, et al. 2021. « SIRT1 Promotes Neuronal Fortification in Neurodegenerative Diseases through Attenuation of Pathological Hallmarks and Enhancement of Cellular Lifespan ». *Current Neuropharmacology* 19 (7): 1019-37.

https://doi.org/10.2174/1570159X18666200729111744.
Miura, Yuki, Min-Yin Li, Fikri Birey, et al. 2020. « Generation of Human Striatal Organoids and Cortico-Striatal Assembloids from Human Pluripotent Stem Cells ». *Nature Biotechnology* 38 (12): 1421-30. https://doi.org/10.1038/s41587-020-00763-w.
Mizuno, H., H. Shibayama, F. Tanaka, et al. 2000. « An Autopsy Case with Clinically and Molecular Genetically Diagnosed Huntington's Disease with Only Minimal Non-Specific Neuropathological Findings ». *Clinical Neuropathology* 19 (2): 94-103.
Modica, Joseph S., Catherine Déry, Ryan Canissario, et al. 2023. « A Systematic Review of the Potential Consequences of Abnormal Serum Levels of Vitamin B6 in People Living with Parkinson's Disease ». *Journal of the Neurological Sciences* 450 (juillet): 120690. https://doi.org/10.1016/j.jns.2023.120690.
Moffitt, Hilary, Graham D. McPhail, Ben Woodman, Carl Hobbs, et Gillian P. Bates. 2009. « Formation of Polyglutamine Inclusions in a Wide Range of Non-CNS Tissues in the HdhQ150 Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease ». *PLoS ONE* 4 (11): e8025. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008025.
Moily, Nagaraj S., Angelique R. Ormsby, Aleksandar Stojilovic, et al. 2017. « Transcriptional Profiles for Distinct Aggregation States of Mutant Huntingtin Exon 1 Protein Unmask New Huntington's Disease Pathways ». *Molecular and Cellular Neurosciences* 83 (septembre): 103-12. https://doi.org/10.1016/j.mcn.2017.07.004.
Molero, et al. 2016. *Selective Expression of Mutant Huntingtin during Development Recapitulates Characteristic Features of Huntington's Disease*. https://doi.org/10.1073/pnas.1603871113.
Mørkbak, Anne L., Anne-Mette Hvas, Zouë Lloyd-Wright, et al. 2006. « Effect of Vitamin B12 Treatment on Haptocorrin ». *Clinical Chemistry* 52 (6): 1104-11. https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.061549.
Moss, Davina J. Hensman, Antonio F. Pardiñas, Douglas Langbehn, et al. 2017. « Identification of Genetic Variants Associated with Huntington's Disease Progression: A Genome-Wide Association Study ». *The Lancet. Neurology* 16 (9): 701-11. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30161-8.
Moutou, Céline, Nathalie Gardes, et Stéphane Viville. 2004. « New Tools for Preimplantation Genetic Diagnosis of Huntington's Disease and Their Clinical Applications ». *European Journal of Human Genetics* 12 (12): 1007-14. https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201291.
Mulder, Cees, Wiesje M. Van Der Flier, Robert Veerhuis, et al. 2007. « Association between vitamin B6 and white matter hyperintensities in patients with Alzheimer's disease not mediated by homocysteine metabolism [2] ». *Journal of the American Geriatrics Society* 55 (6): 956-58. https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2007.01174.x.
Murphy, Brennah, Resham Bhattacharya, et Priyabrata Mukherjee. 2019. « Hydrogen Sulfide Signaling in Mitochondria and Disease ». *The FASEB Journal* 33 (12): 13098-125. https://doi.org/10.1096/fj.201901304R.
Murphy, K. P., R. J. Carter, L. A. Lione, et al. 2000. « Abnormal Synaptic Plasticity and Impaired Spatial Cognition in Mice Transgenic for Exon 1 of the Human Huntington's Disease Mutation ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 20 (13): 5115-23. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-13-05115.2000.
Murphy, Michael P. 2009. « How Mitochondria Produce Reactive Oxygen Species ». *The Biochemical Journal* 417 (1): 1-13. https://doi.org/10.1042/BJ20081386.
Myers, Candace T., Nicholas Stong, Emily I. Mountier, et al. 2017. « De Novo Mutations in PPP3CA Cause Severe Neurodevelopmental Disease with Seizures ». *The American Journal of Human Genetics* 101 (4): 516-24. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.08.013.
Myers, R. H., J. P. Vonsattel, P. A. Paskevich, et al. 1991. « Decreased Neuronal and Increased Oligodendroglial Densities in Huntington's Disease Caudate Nucleus ». *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 50 (6): 729-42. https://doi.org/10.1097/00005072-199111000-00005.
Myte, Robin, Björn Gylling, Jenny Häggström, et al. 2017. « Untangling the Role of One-Carbon Metabolism in Colorectal Cancer Risk: A Comprehensive Bayesian Network Analysis ». *Scientific Reports* 7 (1): 43434. https://doi.org/10.1038/srep43434.
Nagaike, Takashi, Tsutomu Suzuki, Takayuki Katoh, et Takuya Ueda. 2005. « Human Mitochondrial mRNAs Are Stabilized with Polyadenylation Regulated by Mitochondria-Specific Poly(A) Polymerase and Polynucleotide Phosphorylase * ». *Journal of Biological Chemistry* 280 (20): 19721-27.

https://doi.org/10.1074/jbc.M500804200.
Naia, Luana, et A. Cristina Rego. 2015. « Sirtuins: Double Players in Huntington's Disease ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1852 (10 Pt A): 2183-94. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.07.003.
Nakamori, Masayuki, et Hideki Mochizuki. 2021. « Targeting Expanded Repeats by Small Molecules in Repeat Expansion Disorders ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 36 (2): 298-305. https://doi.org/10.1002/mds.28397.
Nebuka, Mao, Yu Ohmura, Shuntaro Izawa, et al. 2020. « Behavioral Characteristics of 5-HT2C Receptor Knockout Mice: Locomotor Activity, Anxiety-, and Fear Memory-Related Behaviors ». *Behavioural Brain Research* 379 (février): 112394. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112394.
Nefic, Hilada, Mirela Mackic-Djurovic, et Izet Eminovic. 2018. « The Frequency of the 677C>T and 1298A>C Polymorphisms in the Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene in the Population ». *Medical Archives* (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina) 72 (3): 164-69. https://doi.org/10.5455/medarh.2018.72.164-169.
Nekrasov, Evgeny D., Vladimir A. Vigont, Sergey A. Klyushnikov, et al. 2016. « Manifestation of Huntington's Disease Pathology in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neurons ». *Molecular Neurodegeneration* 11 (1): 27. https://doi.org/10.1186/s13024-016-0092-5.
Neueder, Andreas, Theresa A. Gipson, Sophie Batterton, et al. 2017. « HSF1-dependent and -independent regulation of the mammalian in vivo heat shock response and its impairment in Huntington's disease mouse models ». *Scientific Reports* 7 (octobre): 12556. https://doi.org/10.1038/s41598-017-12897-0.
Ng, Gavin Yong-Quan, Zachary Wai-Loon Loh, David Y. Fann, Karthik Mallilankaraman, Thiruma V. Arumugam, et M. Prakash Hande. 2024. « Role of Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways in Metabolic Diseases ». *Genome Integrity* 15 (janvier): 20230003. https://doi.org/10.14293/genint.14.1.004.
Nielsen, Marianne J., Mie R. Rasmussen, Christian B. F. Andersen, Ebba Nexø, et Søren K. Moestrup. 2012. « Vitamin B12 Transport from Food to the Body's Cells--a Sophisticated, Multistep Pathway ». *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 9 (6): 345-54. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.76.
Nithianantharajah, J., et A. J. Hannan. 2013. « Dysregulation of Synaptic Proteins, Dendritic Spine Abnormalities and Pathological Plasticity of Synapses as Experience-Dependent Mediators of Cognitive and Psychiatric Symptoms in Huntington's Disease ». *Neuroscience* 251 (octobre): 66-74. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.05.043.
Nittari, Giulio, Proshanta Roy, Ilenia Martinelli, et al. 2023. « Rodent Models of Huntington's Disease: An Overview ». *Biomedicines* 11 (12): 3331. https://doi.org/10.3390/biomedicines11123331.
Obeid, Rima, et Wolfgang Herrmann. 2006. « Mechanisms of Homocysteine Neurotoxicity in Neurodegenerative Diseases with Special Reference to Dementia ». *FEBS Letters* 580 (13): 2994-3005. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.04.088.
Olesen, Margrethe A., Francisca Villavicencio-Tejo, et Rodrigo A. Quintanilla. 2022. « The Use of Fibroblasts as a Valuable Strategy for Studying Mitochondrial Impairment in Neurological Disorders ». *Translational Neurodegeneration* (London) 11 (1): 36-25. https://doi.org/10.1186/s40035-022-00308-y.
Ong, Gideon, et Susan E. Logue. 2023. « Unfolding the Interactions between Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress ». *Antioxidants* 12 (5). https://doi.org/10.3390/antiox12050981.
Ortega, Zaira, et Jose J. Lucas. 2014. « Ubiquitin–proteasome system involvement in Huntington's disease ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* 7 (septembre): 77. https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00077.
Ossato, Giulia, Michelle A. Digman, Charity Aiken, Tamas Lukacsovich, J. Lawrence Marsh, et Enrico Gratton. 2010. « A Two-Step Path to Inclusion Formation of Huntingtin Peptides Revealed by Number and Brightness Analysis ». *Biophysical Journal* 98 (12): 3078-85. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.02.058.
Ostrakhovitch, E. A., et S. Tabibzadeh. 2019. « Homocysteine and Age-Associated Disorders ». *Ageing Research Reviews* 49 (janvier): 144-64. https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.10.010.
Outinen, P. A., S. K. Sood, S. I. Pfeifer, et al. 1999. « Homocysteine-Induced Endoplasmic Reticulum Stress and Growth Arrest Leads to Specific Changes in Gene Expression in Human Vascular Endothelial Cells ». *Blood* 94 (3): 959-67.
Ozgun, Alp, David J. Lomboni, Amy Aylsworth, et al. 2024. « Unraveling the Assembloid: Real-Time Monitoring of Dopaminergic Neurites in an Inter-Organoid Pathway Connecting Midbrain and Striatal

Regions ». *Materials Today Bio* 25 (avril): 100992. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.100992.
Padovani, Dominique. 2017. « Un nouveau lien entre des taux élevés d'homocystéine, les cancers et les maladies neurodégénératives ». *médecine/sciences* 33 (mai): 494-97. https://doi.org/10.1051/medsci/20173305012.
Pajak, Aleksandra, Isabelle Laine, Paula Clemente, et al. 2019. « Defects of Mitochondrial RNA Turnover Lead to the Accumulation of Double-Stranded RNA in Vivo ». *PLOS Genetics* 15 (7): e1008240. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008240.
Panda, Prajnadipta, Vivek Sarohi, Trayambak Basak, et Prasad Kasturi. 2023. « Elucidation of Site-Specific Ubiquitination on Chaperones in Response to Mutant Huntingtin ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 44 (1): 3. https://doi.org/10.1007/s10571-023-01446-1.
Pang, Terence Y. C., Xin Du, Michelle S. Zajac, Monique L. Howard, et Anthony J. Hannan. 2009. « Altered Serotonin Receptor Expression Is Associated with Depression-Related Behavior in the R6/1 Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease ». *Human Molecular Genetics* 18 (4): 753-66. https://doi.org/10.1093/hmg/ddn385.
Paoli, Paolo, Francesca Sbrana, Bruno Tiribilli, et al. 2010. « Protein N-Homocysteinylation Induces the Formation of Toxic Amyloid-like Protofibrils ». *Journal of Molecular Biology* 400 (4): 889-907. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.05.039.
Papoutsi, Marina, Izelle Labuschagne, Sarah J. Tabrizi, et Julie C. Stout. 2014. « The Cognitive Burden in Huntington's Disease: Pathology, Phenotype, and Mechanisms of Compensation ». *Movement Disorders* 29 (5): 673-83. https://doi.org/10.1002/mds.25864.
Parkin, Georgia M., Elizabeth A. Thomas, et Jody Corey-Bloom. 2024. « Mapping Neurodegeneration across the Huntington's Disease Spectrum: A Five-Year Longitudinal Analysis of Plasma Neurofilament Light ». *EBioMedicine* 104 (juin): 105173. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105173.
Parsai, Louis-Habib, Farah Chali, Enejda Subashi, et al. 2025. « Astrocyte-Neuron Combined Targeting for CYP46A1 Gene Therapy in Huntington's Disease ». *Acta Neuropathologica Communications* 13 (1): 184. https://doi.org/10.1186/s40478-025-02054-4.
Paul, Bindu D., Juan I. Sbodio, et Solomon H. Snyder. 2018. « Cysteine metabolism in neuronal redox homeostasis ». *Trends in pharmacological sciences* 39 (5): 513-24. https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.02.007.
Paul, Bindu D., Juan I. Sbodio, et Solomon H. Snyder. 2022a. « Mutant Huntingtin Derails Cysteine Metabolism in Huntington's Disease at Both Transcriptional and Post-Translational Levels ». *Antioxidants* 11 (8): 1470. https://doi.org/10.3390/antiox11081470.
Paul, Bindu D., Juan I. Sbodio, et Solomon H. Snyder. 2022b. « Mutant Huntingtin Derails Cysteine Metabolism in Huntington's Disease at Both Transcriptional and Post-Translational Levels ». *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 11 (8): 1470. https://doi.org/10.3390/antiox11081470.
Paul, Bindu D., Juan I. Sbodio, Risheng Xu, et al. 2014a. « Cystathionine γ-Lyase Deficiency Mediates Neurodegeneration in Huntington's Disease ». *Nature* 509 (7498): 96-100. https://doi.org/10.1038/nature13136.
Paul, Bindu D., Juan I. Sbodio, Risheng Xu, et al. 2014b. « Cystathionine γ-lyase deficiency mediates neurodegeneration in Huntington's disease ». *Nature* 509 (7498): 96-100. https://doi.org/10.1038/nature13136.
Paul, Bindu D., et Solomon H. Snyder. 2014. « Neurodegeneration in Huntington's Disease Involves Loss of Cystathionine γ-Lyase ». *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 13 (16): 2491-93. https://doi.org/10.4161/15384101.2014.950538.
Paulsen, J. S., D. R. Langbehn, J. C. Stout, et al. 2008. « Detection of Huntington's Disease Decades before Diagnosis: The Predict-HD Study ». Research Paper. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 79 (8): 874-80. https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.128728.
Pazzin, Douglas Bottega, Thales Thor Ramos Previato, João Ismael Budelon Gonçalves, et al. 2024. « Induced Pluripotent Stem Cells and Organoids in Advancing Neuropathology Research and Therapies ». *Cells* 13 (9): 745. https://doi.org/10.3390/cells13090745.
Peavy, Guerry M., Mark W. Jacobson, Jody L. Goldstein, et al. 2010. « Cognitive and Functional Decline in

Huntington's Disease: Dementia Criteria Revisited ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 25 (9): 1163-69. https://doi.org/10.1002/mds.22953.
Peng, Wuxue, Changhong Tan, Lijuan Mo, et al. 2021. « Glucose Transporter 3 in Neuronal Glucose Metabolism: Health and Diseases ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 123 (octobre): 154869. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154869.
Penney, J. B., J. P. Vonsattel, M. E. MacDonald, J. F. Gusella, et R. H. Myers. 1997. « CAG Repeat Number Governs the Development Rate of Pathology in Huntington's Disease ». *Annals of Neurology* 41 (5): 689-92. https://doi.org/10.1002/ana.410410521.
Perła-Kaján, J., T. Twardowski, et H. Jakubowski. 2007a. « Mechanisms of Homocysteine Toxicity in Humans ». *Amino Acids* 32 (4): 561-72. https://doi.org/10.1007/s00726-006-0432-9.
Perła-Kaján, J., T. Twardowski, et H. Jakubowski. 2007b. « Mechanisms of Homocysteine Toxicity in Humans ». *Amino Acids* 32 (4): 561-72. https://doi.org/10.1007/s00726-006-0432-9.
Perła-Kaján, Joanna, et Hieronim Jakubowski. 2019. « Dysregulation of Epigenetic Mechanisms of Gene Expression in the Pathologies of Hyperhomocysteinemia ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (13): 3140. https://doi.org/10.3390/ijms20133140.
Perry, Charles H., Nathan A. Mullins, Razan B. A. Sweileh, et al. 2022. « MAP3K4 Promotes Fetal and Placental Growth by Controlling the Receptor Tyrosine Kinases IGF1R/IR and Akt Signaling Pathway ». *Journal of Biological Chemistry* 298 (9). https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102310.
Petrova, Boryana, Adam G. Maynard, Peng Wang, et Naama Kanarek. 2023. « Regulatory mechanisms of one-carbon metabolism enzymes ». *The Journal of Biological Chemistry* 299 (12): 105457. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105457.
Petzold, Axel. 2005. « Neurofilament Phosphoforms: Surrogate Markers for Axonal Injury, Degeneration and Loss ». *Journal of the Neurological Sciences* 233 (1-2): 183-98. https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.03.015.
Piao, Xuejiao, Dan Li, Hui Liu, Qing Guo, et Yang Yu. 2025. « Advances in gene and cellular therapeutic approaches for Huntington's disease ». *Protein & Cell* 16 (5): 307-37. https://doi.org/10.1093/procel/pwae042.
Plas, Ellen van der, Douglas R. Langbehn, Amy L. Conrad, et al. 2019. « Abnormal brain development in child and adolescent carriers of mutant huntingtin ». *Neurology* 93 (10): e1021-30. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008066.
Pons, Laurent, Shyue-Fang Battaglia-Hsu, Carlos Enrique Orozco-Barrios, et al. 2009. « Anchoring Secreted Proteins in Endoplasmic Reticulum by Plant Oleosin: The Example of Vitamin B12 Cellular Sequestration by Transcobalamin ». *PLoS ONE* 4 (7): e6325. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006325.
Pool, Martin R., Joachim Stumm, Tudor A. Fulga, Irmgard Sinning, et Bernhard Dobberstein. 2002. « Distinct Modes of Signal Recognition Particle Interaction with the Ribosome ». *Science* (New York, N.Y.) 297 (5585): 1345-48. https://doi.org/10.1126/science.1072366.
Pradhan, Subrata, Rui Gao, Keegan Bush, Nan Zhang, Yogesh P. Wairkar, et Partha S. Sarkar. 2022. « Polyglutamine Expansion in Huntingtin and Mechanism of DNA Damage Repair Defects in Huntington's Disease ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 16 (avril). https://doi.org/10.3389/fncel.2022.837576.
Pridmore, S. A. 1990. « The Large Huntington's Disease Family of Tasmania ». *The Medical Journal of Australia* 153 (10): 593-95. https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1990.tb126270.x.
Prilenia. 2025. « Nature Medicine Publishes Phase 3 Data on Pridopidine in Early-Stage Huntington's Disease, Highlighting Impact on Clinical Progression ». https://news.prilenia.com/press-releases/press-release-details/2025/Nature-Medicine-Publishes-Phase-3-Data-on-Pridopidine-in-Early-Stage-Huntingtons-Disease-Highlighting-Impact-on-Clinical-Progression/default.aspx.
Prowse, Emily N. P., Abdullah R. Chaudhary, David Sharon, et Adam G. Hendricks. 2023. « Huntingtin S421 Phosphorylation Increases Kinesin and Dynein Engagement on Early Endosomes and Lysosomes ». *Biophysical Journal* 122 (7): 1168-84. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2023.02.006.
Quadros, Edward V. 2010. « Advances in the Understanding of Cobalamin Assimilation and Metabolism ». *British Journal of Haematology* 148 (2): 195-204. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07937.x.
Quaid, Kimberly A., Sharon L. Sims, Melinda M. Swenson, et al. 2008. « Living at Risk: Concealing Risk and Preserving Hope in Huntington Disease ». *Journal of Genetic Counseling* 17 (1): 117-28.

https://doi.org/10.1007/s10897-007-9133-0.
Ramdzan, Yasmin M., Mikhail M. Trubetskov, Angelique R. Ormsby, et al. 2017. « Huntingtin Inclusions Trigger Cellular Quiescence, Deactivate Apoptosis, and Lead to Delayed Necrosis ». *Cell Reports* 19 (5): 919-27. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.029.
Rao, Geeta, Brennah Murphy, Anindya Dey, et al. 2020. « Cystathionine Beta Synthase Regulates Mitochondrial Dynamics and Function in Endothelial Cells ». *The FASEB Journal* 34 (7): 9372-92. https://doi.org/10.1096/fj.202000173R.
Ravaglia, Giovanni, Paola Forti, Fabiola Maioli, et al. 2005. « Homocysteine and Folate as Risk Factors for Dementia and Alzheimer Disease ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 82 (3): 636-43. https://doi.org/10.1093/ajcn.82.3.636.
Ray, Arnab, Jahnavy Madhukar Joshi, Pradeep Kumar Sundaravadivelu, et al. 2021. « An Overview on Promising Somatic Cell Sources Utilized for the Efficient Generation of Induced Pluripotent Stem Cells ». *Stem Cell Reviews and Reports* 17 (6): 1954-74. https://doi.org/10.1007/s12015-021-10200-3.
Reddy, P. Hemachandra, et Ulziibat P. Shirendeb. 2012. « Mutant Huntingtin, Abnormal Mitochondrial Dynamics, Defective Axonal Transport of Mitochondria, and Selective Synaptic Degeneration in Huntington's Disease ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1822 (2): 101-10. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.10.016.
Redgrave, Peter, Manuel Rodriguez, Yoland Smith, et al. 2010. « Goal-directed and habitual control in the basal ganglia: implications for Parkinson's disease ». *Nature reviews. Neuroscience* 11 (11): 760-72. https://doi.org/10.1038/nrn2915.
Rehman, Abdur, Israr Fatima, Fatima Noor, et al. 2024. « Role of Small Molecules as Drug Candidates for Reprogramming Somatic Cells into Induced Pluripotent Stem Cells: A Comprehensive Review ». *Computers in Biology and Medicine* 177 (juillet): 108661. https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2024.108661.
Reilmann, R., S. Bohlen, C. Saß, et al. 2013. « Q-motor – Quantitative motor assessments: Potential novel endpoints for clinical trials in pre-manifest and symptomatic Huntington's disease – 36 months longitudinal results from the multicenter TRACK-HD study ». *Basal Ganglia* 3 (1): 67-68. https://doi.org/10.1016/j.baga.2013.01.074.
Reilmann, R., F. Kirsten, L. Quinn, H. Henningsen, K. Marder, et A. M. Gordon. 2001. « Objective Assessment of Progression in Huntington's Disease: A 3-Year Follow-up Study ». *Neurology* 57 (5): 920-24. https://doi.org/10.1212/wnl.57.5.920.
Reilmann, Ralf, Blair R. Leavitt, et Christopher A. Ross. 2014. « Diagnostic Criteria for Huntington's Disease Based on Natural History ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 29 (11): 1335-41. https://doi.org/10.1002/mds.26011.
Ribeiro, Márcio, Tatiana R. Rosenstock, Ana M. Oliveira, Catarina R. Oliveira, et A. Cristina Rego. 2014. « Insulin and IGF-1 Improve Mitochondrial Function in a PI-3K/Akt-Dependent Manner and Reduce Mitochondrial Generation of Reactive Oxygen Species in Huntington's Disease Knock-in Striatal Cells ». *Free Radical Biology & Medicine* 74 (septembre): 129-44. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.06.023.
Ridley, Anne J. 1995. « Rho-related proteins: actin cytoskeleton and cell cycle ». *Current Opinion in Genetics & Development* 5 (1): 24-30. https://doi.org/10.1016/S0959-437X(95)90049-7.
Rinaldi, Carlo, et Matthew J. A. Wood. 2018. « Antisense Oligonucleotides: The next Frontier for Treatment of Neurological Disorders ». *Nature Reviews. Neurology* 14 (1): 9-21. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.148.
Robins Wahlin, T. B., L. Bäckman, A. Lundin, A. Haegermark, B. Winblad, et M. Anvret. 2000. « High Suicidal Ideation in Persons Testing for Huntington's Disease ». *Acta Neurologica Scandinavica* 102 (3): 150-61. https://doi.org/10.1034/j.1600-0404.2000.102003150.x.
Rockabrand, Erica, Natalia Slepko, Antonello Pantalone, et al. 2007. « The first 17 amino acids of Huntingtin modulate its sub-cellular localization, aggregation and effects on calcium homeostasis ». *Human Molecular Genetics* 16 (1): 61-77. https://doi.org/10.1093/hmg/ddl440.
Rodrigues, Filipe B., Lauren M. Byrne, Rosanna Tortelli, et al. 2020. « Mutant Huntingtin and Neurofilament Light Have Distinct Longitudinal Dynamics in Huntington's Disease ». *Science Translational Medicine* 12 (574): eabc2888. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc2888.
Rodrigues, Filipe Brogueira, Lauren Byrne, Peter McColgan, et al. 2016. « Cerebrospinal Fluid Total Tau

Concentration Predicts Clinical Phenotype in Huntington's Disease ». *Journal of Neurochemistry* 139 (1): 22-25. https://doi.org/10.1111/jnc.13719.
Rosas, H. Diana, David S. Tuch, Nathanael D. Hevelone, et al. 2006. « Diffusion Tensor Imaging in Presymptomatic and Early Huntington's Disease: Selective White Matter Pathology and Its Relationship to Clinical Measures ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 21 (9): 1317-25. https://doi.org/10.1002/mds.20979.
Rosenblatt, Adam, Brahma V. Kumar, Alisa Mo, Claire S. Welsh, Russell L. Margolis, et Christopher A. Ross. 2012. « Age, CAG Repeat Length, and Clinical Progression in Huntington's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 27 (2): 272-76. https://doi.org/10.1002/mds.24024.
Ross, Christopher A., Elizabeth H. Aylward, Edward J. Wild, et al. 2014. « Huntington Disease: Natural History, Biomarkers and Prospects for Therapeutics ». *Nature Reviews Neurology* 10 (4): 204-16. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.24.
Ross, Christopher A., et Michelle A. Poirier. 2004. « Protein Aggregation and Neurodegenerative Disease ». *Nature Medicine* 10 Suppl (juillet): S10-17. https://doi.org/10.1038/nm1066.
Rui, Yan-Ning, Zhen Xu, Bindi Patel, et al. 2015. « Huntingtin Functions as a Scaffold for Selective Macroautophagy ». *Nature Cell Biology* 17 (3): 262-75. https://doi.org/10.1038/ncb3101.
Ruiz-Barrio, Iñigo, Anna Vázquez-Oliver, Arnau Puig-Davi, et al. 2024. « Skin Tau Quantification as a Novel Biomarker in Huntington's Disease ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 39 (11): 2067-74. https://doi.org/10.1002/mds.29989.
Sah, Ram Prakash, C. S. Vidya, Pratibha Pereira, Shubha Jayaram, Anshu Kumar Yadav, et P. Sujatha. 2024. « Elevated Homocysteine Level and Brain Atrophy Changes as Markers to Screen the Alzheimer Disease: Case Series ». *Annals of Geriatric Medicine and Research* 28 (1): 116-20. https://doi.org/10.4235/agmr.23.0135.
Sakaria, Rishika P., Megan P. Fonville, Silpa Peravali, et al. 2022. « A Novel Variant in the Dystonin Gene Causing Hereditary Sensory Autonomic Neuropathy Type VI in a Male Infant: Case Report and Literature Review ». *American Journal of Medical Genetics. Part A* 188 (4): 1245-50. https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62609.
Salpietro, Vincenzo, Christine L. Dixon, Hui Guo, et al. 2019. « AMPA Receptor GluA2 Subunit Defects Are a Cause of Neurodevelopmental Disorders ». *Nature Communications* 10 (1): 3094. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10910-w.
Sampedro, Frederic, Saul Martínez-Horta, Andrea Horta-Barba, et al. 2022. « Increased Homocysteine Levels Correlate with Cortical Structural Damage in Parkinson's Disease ». *Journal of the Neurological Sciences* 434 (mars): 120148. https://doi.org/10.1016/j.jns.2022.120148.
Sánchez-Castañeda, Cristina, Andrea Cherubini, Francesca Elifani, et al. 2013. « Seeking Huntington Disease Biomarkers by Multimodal, Cross-Sectional Basal Ganglia Imaging ». *Human Brain Mapping* 34 (7): 1625-35. https://doi.org/10.1002/hbm.22019.
Santos, Tiago Marcon dos, Cassiana Siebert, Micaela Federizzi de Oliveira, Vanusa Manfredini, et Angela T. S. Wyse. 2019. « Chronic mild Hyperhomocysteinemia impairs energy metabolism, promotes DNA damage and induces a Nrf2 response to oxidative stress in rats brain ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 39 (5): 687-700. https://doi.org/10.1007/s10571-019-00674-8.
Saudou, Frédéric, et Sandrine Humbert. 2016. « The Biology of Huntingtin ». *Neuron* 89 (5): 910-26. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.02.003.
Sawant, Neha, Hallie Morton, Sudhir Kshirsagar, Arubala P. Reddy, et P. Hemachandra Reddy. 2021. « Mitochondrial Abnormalities and Synaptic Damage in Huntington's Disease: A Focus on Defective Mitophagy and Mitochondria-Targeted Therapeutics ». *Molecular Neurobiology* 58 (12): 6350-77. https://doi.org/10.1007/s12035-021-02556-x.
Sbodio, Juan I., Solomon H. Snyder, et Bindu D. Paul. 2016. « Transcriptional Control of Amino Acid Homeostasis Is Disrupted in Huntington's Disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (31): 8843-48. https://doi.org/10.1073/pnas.1608264113.
Sbodio, Juan I., Solomon H. Snyder, et Bindu D. Paul. 2018. « Golgi stress response reprograms cysteine metabolism to confer cytoprotection in Huntington's disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (4): 780-85. https://doi.org/10.1073/pnas.1717877115.

Sbodio, Juan I., Solomon H. Snyder, et Bindu D. Paul. 2019a. « Redox Mechanisms in Neurodegeneration: From Disease Outcomes to Therapeutic Opportunities ». *Antioxidants & Redox Signaling* 30 (11): 1450-99. https://doi.org/10.1089/ars.2017.7321.
Sbodio, Juan I., Solomon H. Snyder, et Bindu D. Paul. 2019b. « Regulators of the Transsulfuration Pathway ». *British Journal of Pharmacology* 176 (4): 583-93. https://doi.org/10.1111/bph.14446.
Sbodio, Juan I., Solomon H. Snyder, et Bindu D. Paul. 2019c. « Regulators of the Transsulfuration Pathway ». *British Journal of Pharmacology* 176 (4): 583-93. https://doi.org/10.1111/bph.14446.
Scahill, Rachael I., Paul Zeun, Katherine Osborne-Crowley, et al. 2020. « Biological and Clinical Characteristics of Gene Carriers Far from Predicted Onset in the Huntington's Disease Young Adult Study (HD-YAS): A Cross-Sectional Analysis ». *The Lancet. Neurology* 19 (6): 502-12. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30143-5.
Schaefer, Martin H., Jean-Fred Fontaine, Arunachalam Vinayagam, Pablo Porras, Erich E. Wanker, et Miguel A. Andrade-Navarro. 2012. « HIPPIE: Integrating Protein Interaction Networks with Experiment Based Quality Scores ». *PloS One* 7 (2): e31826. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031826.
Schaffert, Larissa-Nele, et Wayne G. Carter. 2020. « Do Post-Translational Modifications Influence Protein Aggregation in Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review ». *Brain Sciences* 10 (4): 232. https://doi.org/10.3390/brainsci10040232.
Schmidt, Sissel Ida, Morten Blaabjerg, Kristine Freude, et Morten Meyer. 2022. « RhoA Signaling in Neurodegenerative Diseases ». *Cells* 11 (9). https://doi.org/10.3390/cells11091520.
Scott, Tammy Maria, Katherine L. Tucker, Afsan Bhadelia, et al. 2004. « Homocysteine and B Vitamins Relate to Brain Volume and White-Matter Changes in Geriatric Patients with Psychiatric Disorders ». *The American Journal of Geriatric Psychiatry: Official Journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 12 (6): 631-38. https://doi.org/10.1176/appi.ajgp.12.6.631.
Seehusen, Frauke, Kirsten Kiel, Stefano Jottini, et al. 2016. « Axonopathy in the Central Nervous System Is the Hallmark of Mice with a Novel Intragenic Null Mutation of Dystonin ». *Genetics* 204 (1): 191-203. https://doi.org/10.1534/genetics.116.186932.
Senyilmaz, Deniz, Sam Virtue, Xiaojun Xu, et al. 2015. « Regulation of Mitochondrial Morphology and Function by Stearoylation of TFR1 ». *Nature* 525 (7567): 124-28. https://doi.org/10.1038/nature14601.
Setten, Ryan L., John J. Rossi, et Si-Ping Han. 2019. « The Current State and Future Directions of RNAi-Based Therapeutics ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 18 (6): 421-46. https://doi.org/10.1038/s41573-019-0017-4.
Seyoum Tola, Fikadu. 2024. « The Concept of Folic Acid Supplementation and Its Role in Prevention of Neural Tube Defect among Pregnant Women: PRISMA ». *Medicine* 103 (19): e38154. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000038154.
Shaha, Rinku, et Angel Godad. 2026. « Huntingtin Protein in Health and Huntington's Disease: Molecular Mechanisms, Pathology and Therapeutic Strategies ». *Ageing Research Reviews* 114 (janvier): 102984. https://doi.org/10.1016/j.arr.2025.102984.
Sharma, Gurumayum Suraj, Reshmee Bhattacharya, et Laishram Rajendrakumar Singh. 2021. « Functional inhibition of redox regulated heme proteins: A novel mechanism towards oxidative stress induced by homocysteine ». *Redox Biology* 46 (octobre): 102080. https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102080.
Sharma, Gurumayum Suraj, Tarun Kumar, et Laishram Rajendrakumar Singh. 2014. « N-Homocysteinylation Induces Different Structural and Functional Consequences on Acidic and Basic Proteins ». *PloS One* 9 (12): e116386. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116386.
Sharma, Meenakshi, Manisha Tiwari, et Rakesh Kumar Tiwari. 2015a. « Hyperhomocysteinemia: Impact on Neurodegenerative Diseases ». *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 117 (5): 287-96. https://doi.org/10.1111/bcpt.12424.
Sharma, Meenakshi, Manisha Tiwari, et Rakesh Kumar Tiwari. 2015b. « Hyperhomocysteinemia: Impact on Neurodegenerative Diseases ». *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 117 (5): 287-96. https://doi.org/10.1111/bcpt.12424.
Sharma, Veerta, Prateek Sharma, et Thakur Gurjeet Singh. 2025. *Mechanistic insights on the role of Nrf-2 signalling in Huntington's disease | Neurological Sciences | Springer Nature Link*. https://link.springer.com/article/10.1007/s10072-024-07802-3.
Shenoy, Sushila A., Sushuang Zheng, Wencheng Liu, et al. 2022. « A Novel and Accurate Full-Length HTT

Mouse Model for Huntington's Disease ». *eLife* 11 (janvier): e70217. https://doi.org/10.7554/eLife.70217.
Shin, Hyeeun, Man Ho Kim, Su Jin Lee, et al. 2013. « Decreased Metabolism in the Cerebral Cortex in Early-Stage Huntington's Disease: A Possible Biomarker of Disease Progression? » *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)* 9 (1): 21-25. https://doi.org/10.3988/jcn.2013.9.1.21.
Shirendeb, Ulziibat P., Marcus J. Calkins, Maria Manczak, et al. 2012. « Mutant huntingtin's interaction with mitochondrial protein Drp1 impairs mitochondrial biogenesis and causes defective axonal transport and synaptic degeneration in Huntington's disease ». *Human Molecular Genetics* 21 (2): 406-20. https://doi.org/10.1093/hmg/ddr475.
Shirendeb, Ulziibat, Arubala P. Reddy, Maria Manczak, et al. 2011. « Abnormal mitochondrial dynamics, mitochondrial loss and mutant huntingtin oligomers in Huntington's disease: implications for selective neuronal damage ». *Human Molecular Genetics* 20 (7): 1438-55. https://doi.org/10.1093/hmg/ddr024.
Shoulson, I. 1981. « Huntington Disease: Functional Capacities in Patients Treated with Neuroleptic and Antidepressant Drugs ». *Neurology* 31 (10): 1333-35. https://doi.org/10.1212/wnl.31.10.1333.
Shoulson, I., et S. Fahn. 1979. « Huntington Disease: Clinical Care and Evaluation ». *Neurology* 29 (1): 1-3. https://doi.org/10.1212/wnl.29.1.1.
Shuang, Chen, Dong Zhiping, et Zhao Sun. 2017. *Homocysteine induces mitochondrial dysfunction involving the crosstalk between oxidative stress and mitochondrial pSTAT3 in rat ischemic brain | Scientific Reports*. juillet 31. https://www.nature.com/articles/s41598-017-07112-z.
Sibrian-Vazquez, Martha, Jorge O. Escobedo, Soojin Lim, George K. Samoei, et Robert M. Strongin. 2010. « Homocystamides Promote Free-Radical and Oxidative Damage to Proteins ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (2): 551-54. https://doi.org/10.1073/pnas.0909737107.
Sies, Helmut. 2020. « Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects ». *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 9 (9): 852. https://doi.org/10.3390/antiox9090852.
Siesling, S., J. P. van Vugt, K. A. Zwinderman, K. Kieburtz, et R. A. Roos. 1998. « Unified Huntington's Disease Rating Scale: A Follow Up ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 13 (6): 915-19. https://doi.org/10.1002/mds.870130609.
Silla, Yumnam, Swati Varshney, Arjun Ray, et al. 2019. « Hydrolysis of Homocysteine Thiolactone Results in the Formation of Protein-Cys-S-S-Homocysteinylation ». *Proteins* 87 (8): 625-34. https://doi.org/10.1002/prot.25681.
Simpson, S. A. & Rae, D. 2012. *A standard of care for Huntington's disease: who, what and why.* Neurodegener. Dis. Manag. Édition. Neurodegener. Dis. Manag. Édition.
Singh, Mahavir, Akash K. George, Rubens P. Homme, Naira Metreveli, et Suresh C. Tyagi. 2019. « Abstract P159: Reversing Ocular Hypertension and Blindness by Hydrogen Sulfide ». *Hypertension* 74 (Suppl_1): AP159-AP159. https://doi.org/10.1161/hyp.74.suppl_1.P159.
Singh, Sunil Kumar, Ruchi Roy, Sandeep Kumar, et al. 2023. « Molecular Insights of MAP4K4 Signaling in Inflammatory and Malignant Diseases ». *Cancers* 15 (8). https://doi.org/10.3390/cancers15082272.
Sjøstrøm, Emilie, Dorota Studniarczyk, Xinyao Dou, et al. 2025. « Clinical and Neurodevelopmental Characteristics of Paralogous Gain-of-Function Variants at GRIA2 p.Gly792 and GRIA3 p.Gly803 ». *Clinical Genetics* 108 (5): 553-65. https://doi.org/10.1111/cge.14770.
Skovronsky, Daniel M., Virginia M. Y. Lee, et John Q. Trojanowski. 2006. « Neurodegenerative Diseases: New Concepts of Pathogenesis and Their Therapeutic Implications ». *Annual Review of Pathology* 1: 151-70. https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.1.110304.100113.
Skyhawk Therapeutics69. 2025. « Skyhawk Therapeutics Announces Positive First Interim Results in Patients from Its Phase 1 Clinical Trial of SKY-0515 as a Treatment for Huntington's Disease ». Skyhawk Therapeutics, septembre 17. https://www.skyhawktx.com/post/skyhawk-therapeutics-announces-positive-first-interim-results-in-patients-from-its-phase-1-clinical.
Slow, Elizabeth J., Jeremy van Raamsdonk, Daniel Rogers, et al. 2003. « Selective Striatal Neuronal Loss in a YAC128 Mouse Model of Huntington Disease ». *Human Molecular Genetics* 12 (13): 1555-67. https://doi.org/10.1093/hmg/ddg169.
Smith, A. David, et Helga Refsum. 2016. « Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment ». *Annual*

Review of Nutrition 36 (juillet): 211-39. https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071715-050947.
Smith, A. David, Helga Refsum, Teodoro Bottiglieri, et al. 2018. « Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement ». *Journal of Alzheimer's Disease* 62 (2): 561-70. https://doi.org/10.3233/JAD-171042.
Smith, Ruben, Pontus Klein, Yeliz Koc-Schmitz, et al. 2007. « Loss of SNAP-25 and Rabphilin 3a in Sensory-Motor Cortex in Huntington's Disease ». *Journal of Neurochemistry* 103 (1): 115-23. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04703.x.
Smith, Ruben, Asa Petersén, Gillian P. Bates, Patrik Brundin, et Jia-Yi Li. 2005. « Depletion of Rabphilin 3A in a Transgenic Mouse Model (R6/1) of Huntington's Disease, a Possible Culprit in Synaptic Dysfunction ». *Neurobiology of Disease* 20 (3): 673-84. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.05.008.
Snowden, J. S., Craufurd ,D., Thompson ,J., et D. and Neary. 2002. « Psychomotor, Executive, and Memory Function in Preclinical Huntington's Disease ». *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 24 (2): 133-45. https://doi.org/10.1076/jcen.24.2.133.998.
Soares, Tânia R., Sara D. Reis, Brígida R. Pinho, Michael R. Duchen, et Jorge M. A. Oliveira. 2019. « Targeting the proteostasis network in Huntington's disease ». *Ageing Research Reviews* 49 (janvier): 92-103. https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.11.006.
Song, Qiaoyun, Bo Meng, Haidong Xu, et Zixu Mao. 2020. « The Emerging Roles of Vacuolar-Type ATPase-Dependent Lysosomal Acidification in Neurodegenerative Diseases ». *Translational Neurodegeneration* 9 (1): 17. https://doi.org/10.1186/s40035-020-00196-0.
Song, Yang, Meina Quan, Tingting Li, et Jianping Jia. 2022. « Serum Homocysteine, Vitamin B12, Folate, and Their Association with Mild Cognitive Impairment and Subtypes of Dementia ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 90 (2): 681-91. https://doi.org/10.3233/JAD-220410.
Sontag, Emily M., Lukasz A. Joachimiak, Zhiqun Tan, et al. 2013. « Exogenous Delivery of Chaperonin Subunit Fragment ApiCCT1 Modulates Mutant Huntingtin Cellular Phenotypes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (8): 3077-82. https://doi.org/10.1073/pnas.1222663110.
Southwell, Amber L., Amy Smith-Dijak, Chris Kay, et al. 2016. « An Enhanced Q175 Knock-in Mouse Model of Huntington Disease with Higher Mutant Huntingtin Levels and Accelerated Disease Phenotypes ». *Human Molecular Genetics* 25 (17): 3654-75. https://doi.org/10.1093/hmg/ddw212.
Spargo, E., I. P. Everall, et P. L. Lantos. 1993. « Neuronal Loss in the Hippocampus in Huntington's Disease: A Comparison with HIV Infection ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 56 (5): 487-91. https://doi.org/10.1136/jnnp.56.5.487.
Squitieri, Ferdinando, Cinzia Gellera, Milena Cannella, et al. 2003. « Homozygosity for CAG Mutation in Huntington Disease Is Associated with a More Severe Clinical Course ». *Brain: A Journal of Neurology* 126 (Pt 4): 946-55. https://doi.org/10.1093/brain/awg077.
Stach, Kamilla, Wojciech Stach, et Katarzyna Augoff. 2021. « Vitamin B6 in Health and Disease ». *Nutrients* 13 (9): 3229. https://doi.org/10.3390/nu13093229.
Stack, Edward C., James K. Kubilus, Karen Smith, et al. 2005. « Chronology of Behavioral Symptoms and Neuropathological Sequela in R6/2 Huntington's Disease Transgenic Mice ». *The Journal of Comparative Neurology* 490 (4): 354-70. https://doi.org/10.1002/cne.20680.
Stoffers, D., S. Sheldon, J. M. Kuperman, J. Goldstein, J. Corey-Bloom, et A. R. Aron. 2010. « Contrasting Gray and White Matter Changes in Preclinical Huntington Disease: An MRI Study ». *Neurology* 74 (15): 1208-16. https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181d8c20a.
Stout, Julie C., Rebecca Jones, Izelle Labuschagne, et al. 2012. « Evaluation of Longitudinal 12 and 24 Month Cognitive Outcomes in Premanifest and Early Huntington's Disease ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 83 (7): 687-94. https://doi.org/10.1136/jnnp-2011-301940.
Stout, Julie C., Jane S. Paulsen, Sarah Queller, et al. 2011. « Neurocognitive Signs in Prodromal Huntington Disease ». *Neuropsychology* 25 (1): 1-14. https://doi.org/10.1037/a0020937.
Stroylova, Yulia Y., Jean-Marc Chobert, Vladimir I. Muronetz, Hieronim Jakubowski, et Thomas Haertlé. 2012. « N-Homocysteinylation of Ovine Prion Protein Induces Amyloid-like Transformation ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 526 (1): 29-37. https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.06.008.

Subhan, Iqra, et Yasir Hasan Siddique. 2021. « Modulation of Huntington's Disease in Drosophila ». *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* 20 (10): 894-903. https://doi.org/10.2174/1871527320666210412155508.
Subramanian, Aravind, Pablo Tamayo, Vamsi K. Mootha, et al. 2005. « Gene Set Enrichment Analysis: A Knowledge-Based Approach for Interpreting Genome-Wide Expression Profiles ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (43): 15545-50. https://doi.org/10.1073/pnas.0506580102.
Sun, Zhao, Ji-Sun Kwon, Yudong Ren, et al. 2024. « Modeling late-onset Alzheimer's disease neuropathology via direct neuronal reprogramming ». *Science* 385 (6708): adl2992. https://doi.org/10.1126/science.adl2992.
Sundararaj, Srinivasan, Agin Ravindran, et Marco G. Casarotto. 2021. « AHNAK: The quiet giant in calcium homeostasis ». *Cell Calcium* 96 (juin): 102403. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2021.102403.
Szablewski, Leszek. 2025. « Human Glucose Transporters in Health and Selected Neurodegenerative Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 26 (15): 7392. https://doi.org/10.3390/ijms26157392.
Tabrizi, Sarah J., Michael D. Flower, Christopher A. Ross, et Edward J. Wild. 2020. « Huntington Disease: New Insights into Molecular Pathogenesis and Therapeutic Opportunities ». *Nature Reviews Neurology* 16 (10): 529-46. https://doi.org/10.1038/s41582-020-0389-4.
Tabrizi, Sarah J., Douglas R. Langbehn, Blair R. Leavitt, et al. 2009. « Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data ». *Lancet neurology* 8 (9): 791-801. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70170-X.
Tabrizi, Sarah J., Blair R. Leavitt, G. Bernhard Landwehrmeyer, et al. 2019. « Targeting Huntingtin Expression in Patients with Huntington's Disease ». *The New England Journal of Medicine* 380 (24): 2307-16. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1900907.
Tabrizi, Sarah J., Ralf Reilmann, Raymund A. C. Roos, et al. 2012. « Potential Endpoints for Clinical Trials in Premanifest and Early Huntington's Disease in the TRACK-HD Study: Analysis of 24 Month Observational Data ». *The Lancet. Neurology* 11 (1): 42-53. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70263-0.
Tabrizi, Sarah J., Rachael I. Scahill, Alexandra Durr, et al. 2011. « Biological and Clinical Changes in Premanifest and Early Stage Huntington's Disease in the TRACK-HD Study: The 12-Month Longitudinal Analysis ». *The Lancet. Neurology* 10 (1): 31-42. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70276-3.
Tabrizi, Sarah J., Rachael I. Scahill, Gail Owen, et al. 2013a. « 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 ». *The Lancet. Neurology* 12 (7): 637-49. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70088-7.
Tabrizi, Sarah J., Rachael I. Scahill, Gail Owen, et al. 2013b. « 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 ». *The Lancet. Neurology* 12 (7): 637-49. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70088-7.
Tabrizi, Sarah J., Scott Schobel, Emily C. Gantman, et al. 2022a. « A Biological Classification of Huntington's Disease: The Integrated Staging System ». *The Lancet. Neurology* 21 (7): 632-44. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00120-X.
Tabrizi, Sarah J., Scott Schobel, Emily C. Gantman, et al. 2022b. « A Biological Classification of Huntington's Disease: The Integrated Staging System ». *The Lancet. Neurology* 21 (7): 632-44. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00120-X.
Takahashi, Kazutoshi, Koji Tanabe, Mari Ohnuki, et al. 2007. « Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors ». *Cell* 131 (5): 861-72. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019.
Takano, H., G. Cancel, T. Ikeuchi, et al. 1998. « Close Associations between Prevalences of Dominantly Inherited Spinocerebellar Ataxias with CAG-Repeat Expansions and Frequencies of Large Normal CAG Alleles in Japanese and Caucasian Populations ». *The American Journal of Human Genetics* 63 (4): 1060-66. https://doi.org/10.1086/302067.
Takasato, Minoru, Pei X. Er, Han S. Chiu, et al. 2016. « Kidney Organoids from Human iPS Cells Contain Multiple Lineages and Model Human Nephrogenesis ». *Nature* 536 (7615): 238. https://doi.org/10.1038/nature17982.

Tam, Stephen, Christoph Spiess, William Auyeung, et al. 2009. « The Chaperonin TRiC Blocks a Huntingtin Sequence Element That Promotes the Conformational Switch to Aggregation ». *Nature Structural & Molecular Biology* 16 (12): 1279-85. https://doi.org/10.1038/nsmb.1700.
Tan, Michelle G. K., Chingli Lee, Jasinda H. Lee, et al. 2014. « Decreased Rabphilin 3A Immunoreactivity in Alzheimer's Disease Is Associated with Aβ Burden ». *Neurochemistry International* 64 (janvier): 29-36. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.10.013.
Tang, Bor Luen. 2018. « Unconventional Secretion and Intercellular Transfer of Mutant Huntingtin ». *Cells* 7 (6). https://doi.org/10.3390/cells7060059.
Tang, Chris C., Andrew Feigin, Yilong Ma, et al. 2013. « Metabolic Network as a Progression Biomarker of Premanifest Huntington's Disease ». *The Journal of Clinical Investigation* 123 (9): 4076-88. https://doi.org/10.1172/JCI69411.
Tang, Daolin, Rui Kang, Herbert J. Zeh, et Michael T. Lotze. 2023. « The Multifunctional Protein HMGB1: 50 Years of Discovery ». *Nature Reviews Immunology* 23 (12): 824-41. https://doi.org/10.1038/s41577-023-00894-6.
Tassone, Annalisa, Maria Meringolo, Giulia Ponterio, Paola Bonsi, Tommaso Schirinzi, et Giuseppina Martella. 2023. « Mitochondrial Bioenergy in Neurodegenerative Disease: Huntington and Parkinson ». *International Journal of Molecular Sciences* 24 (8): 7221. https://doi.org/10.3390/ijms24087221.
Tebbe, Lars, Larissa Ikelle, Mustafa S. Makia, Mashal Kakakhel, Muayyad R. Al-Ubaidi, et Muna I. Naash. 2026. « Syntaxin 3B Mediates Light-Dependent Interactions with STXBP1 and Arrestin 4: Distinct Roles in Rods and Cones ». *Advanced Science* 13 (6): e13319. https://doi.org/10.1002/advs.202513319.
Temel, Yasin, Arjan Blokland, Harry W. M. Steinbusch, et Veerle Visser-Vandewalle. 2005. « The Functional Role of the Subthalamic Nucleus in Cognitive and Limbic Circuits ». *Progress in Neurobiology* 76 (6): 393-413. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.09.005.
Thibault, Patricia A., Aravindhan Ganesan, Subha Kalyaanamoorthy, Joseph-Patrick W. E. Clarke, Hannah E. Salapa, et Michael C. Levin. 2021. « hnRNP A/B Proteins: An Encyclopedic Assessment of Their Roles in Homeostasis and Disease ». *Biology* 10 (8). https://doi.org/10.3390/biology10080712.
Thompson, Jennifer C., Jenny Harris, Andrea C. Sollom, et al. 2012. « Longitudinal Evaluation of Neuropsychiatric Symptoms in Huntington's Disease ». *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 24 (1): 53-60. https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.11030057.
Tibben, A., M. Vegter-vd Vlis, M. F. vd Niermeijer, et al. 1990. « Testing for Huntington's Disease with Support for All Parties ». *Lancet (London, England)* 335 (8688): 553. https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90796-8.
Torres, Martine, et Henry Jay Forman. 2003. « Redox Signaling and the MAP Kinase Pathways ». *BioFactors* 17 (1-4): 287-96. https://doi.org/10.1002/biof.5520170128.
Torres, Mauricio, You Lu, Brent Pederson, et al. 2025. « Neuronal SEL1L-HRD1 ERAD Regulates One-Carbon Metabolism and Is Essential for Motor Function and Survival ». *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*, juin 18, 2025.06.16.659938. https://doi.org/10.1101/2025.06.16.659938.
Toyoshima, Yasuko, Mitsunori Yamada, Osamu Onodera, et al. 2004. « SCA17 Homozygote Showing Huntington's Disease-like Phenotype ». *Annals of Neurology* 55 (2): 281-86. https://doi.org/10.1002/ana.10824.
Tremblay, Léon, Yulia Worbe, Stéphane Thobois, Véronique Sgambato-Faure, et Jean Féger. 2015. « Selective Dysfunction of Basal Ganglia Subterritories: From Movement to Behavioral Disorders ». *Movement Disorders* 30 (9): 1155-70. https://doi.org/10.1002/mds.26199.
Troshev, Dmitry, Ekaterina Pavlova, Vsevolod Bogdanov, et Michael Ugrumov. 2025. « Expression of Genes Encoding Receptors for Classical Neurotransmitters, Neuropeptides and Hormones in the Substantia Nigra, Especially in Dopaminergic Neurons, in Intact Mice and Mouse Models of Parkinson's Disease ». *Cells* 14 (19): 1570. https://doi.org/10.3390/cells14191570.
Tsai, Tsung-Huang, Elaine Chen, Lan Li, et al. 2017. « The constitutive lipid droplet protein PLIN2 regulates autophagy in liver ». *Autophagy* 13 (7): 1130-44. https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1319544.
Tshilenge, Kizito-Tshitoko, Carlos Galicia Aguirre, Joanna Bons, et al. 2023. « Proteomic Analysis of Huntington's Disease Medium Spiny Neurons Identifies Alterations in Lipid Droplets ». *Molecular & Cellular*

Proteomics 22 (5): 100534. https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2023.100534.
Tucci, Sara, Khaled Ibrahim Alatibi, et Zeinab Wehbe. 2021. « Altered Metabolic Flexibility in Inherited Metabolic Diseases of Mitochondrial Fatty Acid Metabolism ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (7). https://doi.org/10.3390/ijms22073799.
« Unified Huntington's Disease Rating Scale: Reliability and Consistency ». 1996a. *Movement Disorders* (Hoboken) 11 (2): 136-42. https://doi.org/10.1002/mds.870110204.
« Unified Huntington's Disease Rating Scale: Reliability and Consistency. Huntington Study Group ». 1996b. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 11 (2): 136-42. https://doi.org/10.1002/mds.870110204.
uniQure. s. d. « Clinical Trials | Programs & Pipeline ». uniQure. Consulté le 18 décembre 2025. https://www.uniqure.com/programs-pipeline/clinical-trials.
Valavanidis, Athanasios, Thomais Vlachogianni, et Constantinos Fiotakis. 2009. « 8-Hydroxy-2' -Deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis ». *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews* 27 (2): 120-39. https://doi.org/10.1080/10590500902885684.
Valenza, Marta, Giulia Birolini, et Elena Cattaneo. 2023. « The Translational Potential of Cholesterol-Based Therapies for Neurological Disease ». *Nature Reviews. Neurology* 19 (10): 583-98. https://doi.org/10.1038/s41582-023-00864-5.
Valionyte, Evelina, Yi Yang, Sheridan L. Roberts, Jack Kelly, Boxun Lu, et Shouqing Luo. 2020. « Lowering Mutant Huntingtin Levels and Toxicity: Autophagy-Endolysosome Pathways in Huntington's Disease ». *Journal of Molecular Biology* 432 (8): 2673-91. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.11.012.
Van Der Lee, Sven J., Frank J. Wolters, M. Kamran Ikram, et al. 2018. « The Effect of APOE and Other Common Genetic Variants on the Onset of Alzheimer's Disease and Dementia: A Community-Based Cohort Study ». *The Lancet Neurology* 17 (5): 434-44. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30053-X.
van der Plas. 2020. *The Neurodevelopmental Hypothesis of Huntington's Disease*. https://doi.org/10.3233/JHD-200394.
Vercauteren, Kristel, Raymond A. Pasko, Natalie Gleyzer, Vita Maria Marino, et Richard C. Scarpulla. 2006. « PGC-1-Related Coactivator: Immediate Early Expression and Characterization of a CREB/NRF-1 Binding Domain Associated with Cytochrome c Promoter Occupancy and Respiratory Growth ». *Molecular and Cellular Biology* 26 (20): 7409-19. https://doi.org/10.1128/MCB.00585-06.
Victor, Matheus B., Michelle Richner, Hannah E. Olsen, et al. 2018. « Striatal Neurons Directly Converted from Huntington's Disease Patient Fibroblasts Recapitulate Age-Associated Disease Phenotypes ». *Nature Neuroscience* 21 (3): 341-52. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0075-7.
Vidal, R., B. Caballero, A. Couve, et C. Hetz. 2011. « Converging Pathways in the Occurrence of Endoplasmic Reticulum (ER) Stress in Huntington's Disease ». *Current Molecular Medicine* 11 (1): 1-12. https://doi.org/10.2174/156652411794474419.
Vodicka, Petr, Kathryn Chase, Maria Iuliano, et al. 2016. « Autophagy Activation by Transcription Factor EB (TFEB) in Striatum of HDQ175/Q7 Mice ». *Journal of Huntington's Disease* 5 (3): 249-60. https://doi.org/10.3233/JHD-160211.
Vonsattel, J. P., R. H. Myers, T. J. Stevens, R. J. Ferrante, E. D. Bird, et E. P. Richardson. 1985. « Neuropathological Classification of Huntington's Disease ». *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 44 (6): 559-77. https://doi.org/10.1097/00005072-198511000-00003.
Walker, Francis O. 2007a. « Huntington's Disease ». *Lancet (London, England)* 369 (9557): 218-28. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60111-1.
Walker, Francis O. 2007b. « Huntington's Disease ». *The Lancet* 369 (9557): 218-28. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60111-1.
Wang, Chao, Dong Li, Fengying Cai, et al. 2019. « Mutation Spectrum of MMACHC in Chinese Pediatric Patients with Cobalamin C Disease: A Case Series and Literature Review ». *European Journal of Medical Genetics* 62 (10): 103713. https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103713.
Wang, Dennis Ding-Hwa, Xuning Emily Guo, Aram Sandaldjian Modrek, Chi-Fen Chen, Phang-Lang Chen, et Wen-Hwa Lee. 2014. « Helicase SUV3, Polynucleotide Phosphorylase, and Mitochondrial Polyadenylation

Polymerase Form a Transient Complex to Modulate Mitochondrial mRNA Polyadenylated Tail Lengths in Response to Energetic Changes * ». *Journal of Biological Chemistry* 289 (24): 16727-35. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.536540.
Wang, Erming, Kaiwen Yu, Jiqing Cao, et al. 2025. « Multiscale proteomic modeling reveals protein networks driving Alzheimer's disease pathogenesis ». *Cell* 188 (22): 6186-6204.e13. https://doi.org/10.1016/j.cell.2025.08.038.
Wang, Jie, Jessica Lee, David Liem, et Peipei Ping. 2017. « *HSPA5* Gene encoding Hsp70 chaperone BiP in the endoplasmic reticulum ». *Gene* 618 (juin): 14-23. https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.005.
Wang, Nan, Shasha Zhang, Peter Langfelder, et al. 2025. « Distinct Mismatch-Repair Complex Genes Set Neuronal CAG-Repeat Expansion Rate to Drive Selective Pathogenesis in HD Mice ». *Cell* 188 (6): 1524-1544.e22. https://doi.org/10.1016/j.cell.2025.01.031.
Wave Life Sciences. 2021. *Wave Life Sciences Announces Initiation of Dosing in Phase 1b/2a SELECT-HD Clinical Trial of WVE-003 in Huntington's Disease*.
Wd, Kruger. 2017. « Cystathionine β-Synthase Deficiency: Of Mice and Men ». *Molecular Genetics and Metabolism* 121 (3). https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.05.011.
Weber Hoss, Giovana R., Fernanda Sperb-Ludwig, Ida V. D. Schwartz, et Henk J. Blom. 2020. « Classical homocystinuria: A common inborn error of metabolism? An epidemiological study based on genetic databases ». *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 8 (6): e1214. https://doi.org/10.1002/mgg3.1214.
Wehbe, Zeinab, Sidney Behringer, Khaled Alatibi, et al. 2019. « The emerging role of the mitochondrial fatty-acid synthase (mtFASII) in the regulation of energy metabolism ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1864 (11): 1629-43. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.07.012.
Weir, David W., Aaron Sturrock, et Blair R. Leavitt. 2011. « Development of Biomarkers for Huntington's Disease ». *The Lancet. Neurology* 10 (6): 573-90. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70070-9.
Weiss, Andreas, Dorothée Abramowski, Miriam Bibel, et al. 2009. « Single-Step Detection of Mutant Huntingtin in Animal and Human Tissues: A Bioassay for Huntington's Disease ». *Analytical Biochemistry* 395 (1): 8-15. https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.08.001.
Werge, Mikkel Parsberg, Adrian McCann, Elisabeth Douglas Galsgaard, et al. 2021. « The Role of the Transsulfuration Pathway in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease ». *Journal of Clinical Medicine* 10 (5): 1081. https://doi.org/10.3390/jcm10051081.
Wexler, Nancy S., Judith Lorimer, Julie Porter, et al. 2004. « Venezuelan Kindreds Reveal That Genetic and Environmental Factors Modulate Huntington's Disease Age of Onset ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (10): 3498-503. https://doi.org/10.1073/pnas.0308679101.
What is Enroll-HD? – Enroll. s. d. Consulté le 18 mars 2025. https://www.enroll-hd.org/fr/for-hd-families/about-this-study/.
Wheeler, V. C., F. Persichetti, S. M. McNeil, et al. 2007. « Factors associated with HD CAG repeat instability in Huntington disease ». *Journal of Medical Genetics* 44 (11): 695-701. https://doi.org/10.1136/jmg.2007.050930.
Whyte, Ellen M., Benoit H. Mulsant, Meryl A. Butters, et al. 2002. « Cognitive and Behavioral Correlates of Low Vitamin B12 Levels in Elderly Patients with Progressive Dementia ». *The American Journal of Geriatric Psychiatry: Official Journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 10 (3): 321-27.
Wiatr, Kalina, Wojciech J. Szlachcic, Marta Trzeciak, Marek Figlerowicz, et Maciej Figiel. 2018. « Huntington Disease as a Neurodevelopmental Disorder and Early Signs of the Disease in Stem Cells ». *Molecular Neurobiology* 55 (4): 3351-71. https://doi.org/10.1007/s12035-017-0477-7.
Wiedemann, Arnaud, Abderrahim Oussalah, Nathalie Lamireau, et al. 2022. « Clinical, Phenotypic and Genetic Landscape of Case Reports with Genetically Proven Inherited Disorders of Vitamin B12 Metabolism: A Meta-Analysis ». *Cell Reports. Medicine* 3 (7): 100670. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100670.
Wild, Edward, Maria Björkqvist, et Sarah J. Tabrizi. 2008. « Immune Markers for Huntington's Disease? » *Expert Review of Neurotherapeutics* 8 (12): 1779-81. https://doi.org/10.1586/14737175.8.12.1779.
Williamson, Rosalind C., Christopher A. M. Cowell, Christina L. Hammond, et al. 2014. « Coronin-1C and RCC2 guide mesenchymal migration by trafficking Rac1 and controlling GEF exposure ». *Journal of Cell Science* 127 (19): 4292-307. https://doi.org/10.1242/jcs.154864.

Wilson, Matthew P., Barbara Plecko, Philippa B. Mills, et Peter T. Clayton. 2019. « Disorders Affecting Vitamin B6 Metabolism ». *Journal of Inherited Metabolic Disease* 42 (4): 629-46. https://doi.org/10.1002/jimd.12060.
Witucki, Łukasz, et Hieronim Jakubowski. 2023. « Homocysteine Metabolites Inhibit Autophagy, Elevate Amyloid Beta, and Induce Neuropathy by Impairing Phf8/H4K20me1-Dependent Epigenetic Regulation of mTOR in Cystathionine β-Synthase-Deficient Mice ». *Journal of Inherited Metabolic Disease* 46 (6): 1114-30. https://doi.org/10.1002/jimd.12661.
Wright, Galen E. B., Hailey Findlay Black, Jennifer A. Collins, et al. 2020. « Interrupting Sequence Variants and Age of Onset in Huntington's Disease: Clinical Implications and Emerging Therapies ». *The Lancet Neurology* 19 (11): 930-39. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30343-4.
Wu, Shanshan, Yuan Hong, Chu Chu, et al. 2024. « Construction of Human 3D Striato-Nigral Assembloids to Recapitulate Medium Spiny Neuronal Projection Defects in Huntington's Disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 121 (22): e2316176121. https://doi.org/10.1073/pnas.2316176121.
Xiang, Chunchen, Shun Zhang, Xiaoyu Dong, Shuang Ma, et Shuyan Cong. 2018. « Transcriptional Dysregulation and Post-translational Modifications in Polyglutamine Diseases: From Pathogenesis to Potential Therapeutic Strategies ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* 11 (mai): 153. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00153.
Xie, Jiahua, Farooqahmed S. Kittur, Chiu-Yueh Hung, et Tomas T. Ding. 2023. « Regulation of one-carbon metabolism may open new avenues to slow down the initiation and progression of Huntington's disease ». *Neural Regeneration Research* 18 (11): 2401-2. https://doi.org/10.4103/1673-5374.371363.
Xing, Zheng, et Benjamin P. Tu. 2025. « Mechanisms and Rationales of SAM Homeostasis ». *Trends in Biochemical Sciences* 50 (3): 242-54. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2024.12.009.
Yamada, Hidenori, Noriyuki Akahoshi, Shotaro Kamata, et al. 2012. « Methionine Excess in Diet Induces Acute Lethal Hepatitis in Mice Lacking Cystathionine γ-Lyase, an Animal Model of Cystathioninuria ». *Free Radical Biology & Medicine* 52 (9): 1716-26. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.02.033.
Yang, Guangdong, Lingyun Wu, Bo Jiang, et al. 2008. « H2S as a Physiologic Vasorelaxant: Hypertension in Mice with Deletion of Cystathionine Gamma-Lyase ». *Science* (New York, N.Y.) 322 (5901): 587-90. https://doi.org/10.1126/science.1162667.
Yang, Haiyan, Qiang Wang, Yuemei Xi, et al. 2023. « AMPD2 Plays Important Roles in Regulating Hepatic Glucose and Lipid Metabolism ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 577 (novembre): 112039. https://doi.org/10.1016/j.mce.2023.112039.
Yang, Hui, Chao Liu, Yongwang Zhong, Shouqing Luo, Mervyn J. Monteiro, et Shengyun Fang. 2010. « Huntingtin Interacts with the Cue Domain of Gp78 and Inhibits Gp78 Binding to Ubiquitin and P97/VCP ». *PLOS ONE* 5 (1): e8905. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008905.
Yang, Hui, Xiaoyan Zhong, Petek Ballar, et al. 2007. « Ubiquitin Ligase Hrd1 Enhances the Degradation and Suppresses the Toxicity of Polyglutamine-Expanded Huntingtin ». *Experimental Cell Research* 313 (3): 538-50. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.10.031.
Yang, Jiakai, Weijia Zhi, Lifeng Wang, Jiakai Yang, Weijia Zhi, et Lifeng Wang. 2024. « Role of Tau Protein in Neurodegenerative Diseases and Development of Its Targeted Drugs: A Literature Review ». *Molecules* 29 (12). https://doi.org/10.3390/molecules29122812.
Yang, Junsheng, Xiaoli Chen, et Huilin Xu. 2021. « SQSTM1/P62 Droplet -Mediated Autophagosome Formation:Insights into Huntington Disease ». *Autophagy* 17 (10): 3256-59. https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1953820.
Yang, Xin, Yu-Wen Alvin Huang, et John Marshall. 2024. « Targeting TrkB–PSD-95 coupling to mitigate neurological disorders ». *Neural Regeneration Research* 20 (3): 715-24. https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-23-02000.
Yao, Jia, Shao-En Ong, et Sandra Bajjalieh. 2014. « Huntingtin Is Associated with Cytomatrix Proteins at the Presynaptic Terminal ». *Molecular and Cellular Neurosciences* 63 (novembre): 96-100. https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.10.003.
Ye, Lin, Xinzhi Fu, et Qi Li. 2025. « Mitochondrial Quality Control in Health and Disease ». *MedComm* 6 (8):

e70319. https://doi.org/10.1002/mco2.70319.
Ye, Qi, Jian Ma, Zixi Wang, et al. 2024. « DTX3L-mediated TIRR nuclear export and degradation regulates DNA repair pathway choice and PARP inhibitor sensitivity ». *Nature Communications* 15 (décembre): 10596. https://doi.org/10.1038/s41467-024-54978-5.
Yousefi, Reza, Shima Jalili, Parnian Alavi, et Ali-Akbar Moosavi-Movahedi. 2012. « The Enhancing Effect of Homocysteine Thiolactone on Insulin Fibrillation and Cytotoxicity of Insulin Fibril ». *International Journal of Biological Macromolecules* 51 (3): 291-98. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.021.
Youssov, Katia, Etienne Audureau, Jérémie Pariente, et al. 2025. « Comparison of Tetrabenazine, Tiapride and Olanzapine in Huntington's Disease: A One-Year French Randomized Multicenter Study (Neuro-HD) ». *Parkinsonism & Related Disorders* 140 (novembre): 108017. https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2025.108017.
Youssov, Katia, Guillaume Dolbeau, Patrick Maison, et al. 2013. « Unified Huntington's disease rating scale for advanced patients: Validation and follow-up study ». *Movement Disorders* 28 (12): 1717-23. https://doi.org/10.1002/mds.25654.
Yu, Junying, Maxim A. Vodyanik, Kim Smuga-Otto, et al. 2007. « Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells ». *Science* 318 (5858): 1917-20.
Yuen, Eunice Y., Jing Wei, Ping Zhong, et Zhen Yan. 2012. « Disrupted GABAAR Trafficking and Synaptic Inhibition in a Mouse Model of Huntington's Disease ». *Neurobiology of Disease* 46 (2): 497-502. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.02.015.
Zadegan, Shayan Abdollah, Frank Ramirez, Jung Woo Park, Natalia Pessoa Rocha, Erin Furr Stimming, et Antonio L. Teixeira. 2025. « Frequency of Depression in Huntington's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Huntington's Disease* 14 (1): 43-58. https://doi.org/10.1177/18796397241301774.
Zaganjor, Ibrahim, Ahlia Sekkarie, Becky L. Tsang, et al. 2016. « Describing the Prevalence of Neural Tube Defects Worldwide: A Systematic Literature Review ». *PLOS ONE* 11 (4): e0151586. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151586.
Zappacosta, Bruno, Mirella Graziano, Silvia Persichilli, Augusto Di Castelnuovo, Pierpaolo Mastroiacovo, et Licia Iacoviello. 2014. « 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphisms: Genotype Frequency and Association with Homocysteine and Folate Levels in Middle-Southern Italian Adults ». *Cell Biochemistry and Function* 32 (1): 1-4. https://doi.org/10.1002/cbf.3019.
Zeitler, Bryan, Steven Froelich, Kimberly Marlen, et al. 2019. « Allele-Selective Transcriptional Repression of Mutant HTT for the Treatment of Huntington's Disease ». *Nature Medicine* 25 (7): 1131-42. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0478-3.
Zhang, C., Y. Cai, M. T. Adachi, et al. 2001. « Homocysteine Induces Programmed Cell Death in Human Vascular Endothelial Cells through Activation of the Unfolded Protein Response ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (38): 35867-74. https://doi.org/10.1074/jbc.M100747200.
Zhang, Chuangchuang, Qian Wu, Hongshuai Liu, et al. 2020. « Abnormal Brain Development in Huntington' Disease Is Recapitulated in the zQ175 Knock-In Mouse Model ». *Cerebral Cortex Communications* 1 (1): tgaa044. https://doi.org/10.1093/texcom/tgaa044.
Zhang, Meng, Dong Chen, Jing Xia, et al. 2017. « Post-Transcriptional Regulation of Mouse Neurogenesis by Pumilio Proteins ». *Genes & Development* 31 (13): 1354-69. https://doi.org/10.1101/gad.298752.117.
Zhang, Ying, Jeffrey D. Long, James A. Mills, et al. 2011. « Indexing Disease Progression at Study Entry with Individuals At-Risk for Huntington Disease ». *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 156B (7): 751-63. https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31232.
Zhao, Rongbao, Larry H. Matherly, et I. David Goldman. 2009. « Membrane Transporters and Folate Homeostasis: Intestinal Absorption and Transport into Systemic Compartments and Tissues ». *Expert Reviews in Molecular Medicine* 11 (janvier): e4. https://doi.org/10.1017/S1462399409000969.
Zhao, Yan, Yingling Ge, Zixuan Zhang, et al. 2025. « The Effects of Methyl Nutrients on Cognition and One Carbon Metabolism in Older Adults with Mild Cognitive Impairment, A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Geriatric Nursing* (New York, N.Y.) 63: 395-406. https://doi.org/10.1016/j.gerinurse.2025.03.038.

Zheng, Ju, Joris Winderickx, Vanessa Franssens, et Beidong Liu. 2018. « A Mitochondria-Associated Oxidative Stress Perspective on Huntington's Disease ». *Frontiers in Molecular Neuroscience* 11 (septembre). https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00329.
Zheng, Shuqiu, Erin B. D. Clabough, Sovan Sarkar, Marie Futter, David C. Rubinsztein, et Scott O. Zeitlin. 2010. « Deletion of the Huntingtin Polyglutamine Stretch Enhances Neuronal Autophagy and Longevity in Mice ». *PLOS Genetics* 6 (2): e1000838. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000838.
Zheng, Zhanjie, Jindong Wang, Lei Yi, et al. 2014. « Correlation between Behavioural and Psychological Symptoms of Alzheimer Type Dementia and Plasma Homocysteine Concentration ». *BioMed Research International* 2014: 383494. https://doi.org/10.1155/2014/383494.
Zhong, Min, Sha Zhu, Ruxin Gu, et al. 2022. « Elevation of Plasma Homocysteine and Minor Hallucinations in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study ». *Behavioural Neurology* 2022: 4797861. https://doi.org/10.1155/2022/4797861.
Zhou, Lingyan, Tao Guo, Lanxia Meng, et al. 2022. « N-homocysteinylation of α-synuclein promotes its aggregation and neurotoxicity ». *Aging Cell* 22 (3): e13745. https://doi.org/10.1111/acel.13745.
Zhou, Lingyan, Tao Guo, Lanxia Meng, et al. 2023. « N-Homocysteinylation of α-Synuclein Promotes Its Aggregation and Neurotoxicity ». *Aging Cell* 22 (3): e13745. https://doi.org/10.1111/acel.13745.
Zuccato, Chiara, et Elena Cattaneo. 2007. « Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease ». *Progress in Neurobiology*, Cortical-Striatal Dysfunction in Huntington's Disease, vol. 81 (5): 294-330. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.01.003.
Zuhra, Karim, Fiona Augsburger, Tomas Majtan, et Csaba Szabo. 2020. « Cystathionine-β-Synthase: Molecular Regulation and Pharmacological Inhibition ». *Biomolecules* 10 (5). https://doi.org/10.3390/biom10050697.

Résumé

La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative autosomique dominante causée par l'expansion des répétitions CAG dans le gène *HTT* entrainant l'agrégation et la perte de fonction de la huntingtine (HTT). Les patients présentent une variabilité phénotypique extrême en termes d'âge d'apparition et de gravité des symptômes. L'hyperhomocystéinémie, fréquemment observée, pourrait résulter de carences en vitamines B6, B9 et B12, cofacteurs essentiels du métabolisme des monocarbonés (MMC), ou de polymorphismes des enzymes de cette voie. La mutation de la HTT perturbe la voie de la *transsulfuration* du MMC, entrainant l'accumulation d'homocystéine neurotoxique. Dans ce contexte, l'homocystéine peut se lier irréversiblement aux lysines de certaines protéines (N-homocystéinylation) via l'enzyme MARS, provoquant agrégation, accumulation et perte de fonction protéique. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'altération du MMC et l'hyperhomocystéinémie associée pourraient être des facteurs de risque aggravant dans la MH en termes de gravité et de précocité des symptômes. Nos objectifs sont les suivants : (1) Analyser l'influence du MMC dans la physiopathologie de la MH et (2) Analyser les conséquences comportementales, cellulaires et moléculaires de la N-HCY de la HTT. 77 patients ont été recrutés dans la cohorte HO-HD, dont 32 ont subi une biopsie cutanée (8 présymptomatiques, 24 symptomatiques) pour des études mécanistiques sur fibroblastes, avec 8 témoins. Un modèle murin (*HdhQ111*) a été soumis à une carence nutritionnelle en vitamines B9/B12 sur 15 mois d'âge, avec suivi comportemental et biochimique, afin d'évaluer l'effet sur l'apparition et la progression des symptômes moteurs et cognitifs. Les résultats cliniques montrent que 61 % des patients présentent un trouble du MMC, et que l'homocystéinémie est significativement plus élevée que chez les témoins. Chez les patients hyperhomocystéinémiques, les symptômes cognitifs précèdent de manière inattendue les symptômes moteurs, qui progressent statistiquement plus rapidement. La protéomique identifie un profil spécifique de protéines N-HCY corrélé au statut biochimique des patients. Dans les fibroblastes, HTT et HCY colocalisent dans des agrégats périnucléaires, la N-HCY de mHTT est supérieure dans un contexte hyperhomocystéinémique en parallèle d'une diminution significative des métabolites de la *transsulfuration* du MMC. Chez les souris, la carence en vitamines B entraîne des déficits d'apprentissage dès 9 mois, des troubles moteurs à 12 mois, une altération du MMC et une hyperhomocystéinémie, avec un profil protéomique N-HCY spécifique chez les animaux portant la mutation mHTT. Le taux d'homocystéine ne fait pas partie, à l'heure actuelle, du screening clinique de la maladie de Huntington. Nos résultats tendent à montrer qu'une analyse systématique des principaux métabolites du MMC devrait être considéré afin de pouvoir prendre en charge dès le départ cette hyperhomocystéinémie afin d'éviter une possible aggravation des symptômes chez ses patients. De plus, l'identification de nouveaux biomarqueurs périphériques spécifiquement N-HCY offrent de nouvelles possibilités de traitements mais également de suivi de la maladie.

Mots clés : Maladie de Huntington, Métabolisme des monocarbones, Hyperhomocystéinémie, N-homocystéynilation

Abstract

Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by the expansion of CAG repeats in the *HTT* gene, leading to huntingtin (HTT) aggregation and loss of function. Patients show extreme phenotypic variability in terms of age of onset and severity of symptoms. Hyperhomocysteinemia, which is frequently observed, could result from vitamins B6, B9, and B12 deficiencies, which are essential cofactors in one-carbon metabolism (OCM), or from enzyme polymorphisms involved in this pathway. The HTT mutation disrupts the OCM transsulfuration pathway, leading to the accumulation of neurotoxic homocysteine. In this context, homocysteine can irreversibly bind to protein lysine residues (N-homocysteinylation) thanks to the MARS enzyme, causing aggregation, accumulation, and loss of protein function. We therefore hypothesized that OCM alteration and associated hyperhomocysteinemia could be an aggravating risk factors in HD in terms of symptom severity and onset age. Our objectives are as follows: (1) To analyze the influence of OCM in the pathophysiology of HD and (2) To analyze the behavioral, cellular and molecular consequences of N-HCY. 77 patients were recruited into the HO-HD cohort, of whom 32 underwent skin biopsy (8 presymptomatic, 24 symptomatic) for mechanistic studies on fibroblasts, and compared to 8 controls. A mouse model (*HdhQ111*) was fed with a vitamin B9/B12 deficient diet for 15 months, with behavioral and biochemical monitoring, in order to assess the effect on the onset and progression of motor and cognitive symptoms. Clinical results show that 61% of patients have OCM disorder, and that homocysteinemia is significantly higher than in controls. In hyperhomocysteinemic patients, cognitive symptoms unexpectedly precede motor symptoms, which progress statistically faster. Proteomics identifies a specific N-HCY protein profile correlated with the biochemical status of patients. In fibroblasts, HTT and HCY colocalize in perinuclear aggregates, mHTT N-HCY is higher in a hyperhomocysteinemic context, and there is a significant decrease in *transsulfuration* metabolites of the OCM. In mice, vitamin B deficiency leads to learning deficits at 9 months, motor disorders at 12 months, impaired OCM and hyperhomocysteinemia, with a specific N-HCY proteomic profile in heterozygous animals carrying the mHTT mutation. Homocysteine levels are not currently included in clinical screening for Huntington's disease. Our results suggest that a systematic analyze of principal metabolites of OCM should be considered in order to treat hyperhomocysteinemia as earlier as possible, and prevent a possible worsening of symptoms in these patients. In addition, the identification of new peripheral biomarkers specific to N-HCY offers new possibilities for treatment and disease monitoring.

Keywords: Huntignton's disease, One-carbon metabolism, Hyperhomocysteinemia, N-Homocysteinylation