UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2

**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

**Année :** 2013

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT**

**DE DOCTEUR EN MEDECINE**

# *Etude de l'influence du sexe dans la maladie de Parkinson :*

# *De l'épidémiologie à l'expression génique.*

**Présentée et soutenue publiquement le 12/09/2013 à 14h**
**Au Pôle Formation**
**Par Lucie Hopes**

**Jury**

**Président : Monsieur le Professeur Alain Destée**

**Assesseurs : Madame le Professeur Florence Pasquier**
**Monsieur le Professeur Luc Defebvre**
**Madame le Docteur Marie-Christine Chartier-Harlin**

**Directeur de Thèse : Madame le Docteur Eugénie Mutez**

**Travail en collaboration avec le service de Neurologie et Pathologies du Mouvement du CHRU de Lille et avec l'unité INSERM UMR837, équipe 6**

**Résumé**

La maladie de Parkinson (MP) présente un sexe ratio allant de 1,5 à 2 en défaveur des hommes. Des études épidémiologiques ont montré un lien possible entre des facteurs hormonaux et le risque ainsi que la sévérité de la maladie. Par ailleurs, la MP est une pathologie multifactorielle avec une interaction de facteurs environnementaux et génétiques. Nous avons donc voulu évaluer si le sexe, et en particulier les facteurs hormonaux, ont une influence sur la MP, et si les facteurs environnementaux et l'expression génique sont différents entre hommes et femmes parkinsoniens. Nous avons réalisé un questionnaire chez 474 femmes et 383 hommes parkinsoniens suivis dans le service de Neurologie et Pathologies du Mouvement du CHRU de Lille, ainsi que chez 125 femmes et 72 hommes témoins. Certains sujets ont également bénéficié d'un bilan biologique. Enfin, nous avons complété notre étude par l'analyse du transcriptome de cellules mononucléées sanguines périphériques par micropuces, afin d'évaluer si l'expression génique diffère selon le sexe et la MP. Nos résultats montrent un âge de début de la maladie plus tardif chez les femmes parkinsoniennes de forme sporadique, corrélé à l'âge de la ménopause, au nombre de grossesses et à l'âge de prise d'une contraception. De plus, les facteurs environnementaux délétères ou protecteurs sont plus nombreux chez les femmes. Enfin, les gènes dont l'expression est dérégulée sont en partie différents chez les hommes et femmes, avec en particulier une dérégulation uniquement chez les femmes parkinsoniennes de gènes clés et impliqués dans la pathogénie de la MP. La prévalence plus élevée de la MP chez les hommes serait donc secondaire à la fois à l'absence du rôle protecteur des œstrogènes, et à une dérégulation de l'expression génique entraînant une vulnérabilité plus importante au stress cellulaire chez l'homme. Enfin, la pathogénie de la MP serait en partie différente selon le sexe, ce qui pourrait nous inciter à envisager la recherche et la prise en charge de la MP de façon sexe spécifique.

**Abstract**

Parkinson's disease (PD) occurs more often in men than female with a sex ratio from 1.5 to 2. Epidemiologic studies have shown a possible link between hormonal factors and PD risk and severity. PD is a multifactorial disease, with an interaction of environmental and genetic factors. The aim of our study is to evaluate if these factors are different between men and women, and if women hormonal factors have protective effects on PD. Data from 474 women and 383 men with PD in the Lille university neurology and movement disorders department, and 125 women and 72 men controls were collected. Some of these patients and controls had biological tests. The second part of our work is a microarray transcriptomic study from peripheral blood mononuclear cells to analyse if gene expression is different dependent of sex and/or PD. Our results show a later age of onset of the disease in sporadic PD women with a positive correlation with age of menopause, number of pregnancy and age of contraceptive use. Furthermore, protective and deleterious environmental factors are more numerous in female PD. Besides, dysregulated genes are partially different between women and men parkinsonian patients, with several key genes in PD pathogenesis which are only dysregulated in women. Men PD prevalence could thus be the result of a lack of potential protective estrogen and of a greater vulnerability to cellular stress because of dysregulated gene expression. PD pathogenesis is probably to a certain extent sex different, future research and PD patient medcial care should then be sex-specific

# Tables des matières

**Introduction…… 1**

**1. Généralités sur la maladie de Parkinson…… 1**

1.1. Epidémiologie…….. 1

1.2. Signes cliniques…… 1

*1.2.1. Signes moteurs…… 1*

*1.2.2. Signes non moteurs…… 2*

*1.2.3. Signes pré-moteurs…… 2*

**2. Anatomopathologie de la MP…….. 3**

**3. Etiopathogénie de la MP…….. 4**

3.1. Facteurs environnementaux…….. 4

*3.1.1. Pesticides…… 4*

*3.1.2. Tabac…… 4*

*3.1.3. Café et thé…… 4*

*3.1.4. Facteurs de risque vasculaire…… 5*

*3.1.5. Traitements anti-inflammatoires et statines…… 6*

3.2. Facteurs génétiques…….. 6

*3.2.1. Gènes associés à des formes autosomiques dominantes de la MP…… 6*

*3.2.2. Gènes associés à des formes autosomiques récessives…… 7*

*3.2.3. Facteurs de susceptibilité génétique…… 8*

3.3. Pathogénie de la MP……. 9

*3.3.1. Stress oxydant et dysfonctionnement mitochondrial…… 9*

*3.3.2. Dérégulation de la voie du calcium…… 9*

*3.3.3. Voies de dégradation cellulaire…… 10*

*3.3.4. Inflammation…… 10*

*3.3.5. Propagation de l'alpha-synucléine…… 10*

3.4. Modèles expérimentaux…… 11

3.5. Etudes transcriptomiques…….. 12

**4. Influence du sexe dans la MP…….. 14**

4.1. Phénotype de la MP selon le sexe…… 14

4.2. Différence d'innervation dopaminergique selon le sexe…….. 14

4.3. Etudes transcriptomiques selon le sexe…… 15

4.4. Implication des facteurs hormonaux dans la MP…….. 16

*4.4.1. Etudes épidémiologiques…… 16*

*4.4.2. Œstrogènes et pathogénie de la MP…… 18*

4.4.2.1. Synthèse des hormones sexuelles…….. 18
4.4.2.2. Synthèse cérébrale des œstrogènes…… 18
4.4.2.3. Voies de signalisation des œstrogènes…… 18
4.4.2.4. Œstradiol et mécanismes pathogéniques de lMP…….. 19
4.4.2.5. Variants des récepteurs aux œstrogènes…… 20
*4.4.3. Utilisation du THS dans la MP…….. 21*

**Objectifs……... 23**

**Matériel et Méthodes…….. 24**
**1. Etude épidémiologique et biologique…….. 24**
1.1. Population étudiée…… 24
*1.1.1. PARADIGME et CONVERGENCE…… 24*
*1.1.2. Recrutement complémentaire de femmes parkinsoniennes…….. 25*
*1.1.3. PARKFANORD…….. 26*
1.2. Analyse statistique…… 27
*1.2.1. Description des différentes étapes d'analyse…….. 27*
*1.2.2. Test statistiques utilisés…… 28*
**2. Etude transcriptomique……... 29**
2.1. Micropuces à ADNc……. 29
2.2. Listes de gènes dérégulés (Genespring GX®)……... 31
2.3. Analyse des données par le logiciel Ingenuity® Pathway Analysis (IPA)…… 31

**Résultats……... 33**
**1. Sexe ratio……...… 33**
**2. Description de la population totale de notre étude…… 33**
**3. Facteurs environnementaux…… 34**
3.1.Etude des facteurs environnementaux selon le sexe……... 34
3.2.Etude des facteurs environnementaux selon la maladie……. 36
**4. Caractéristiques de la maladie entre hommes et femmes parkinsoniens…… 38**
4.1. Age de début, âge au diagnostic et délai diagnostic…… 38
4.2. Premier signe moteur…… 39
4.3. Evolution et complications de la MP…… 40
4.4. Stimulation cérébrale profonde des noyaux sub-thalamiques…….. 40
4.5. Equivalence L-Dopa du traitement anti-parkinsonien…….. 40
**5. Caractéristiques hormonales de la femme……. 41**

5.1. Comparaison entre les femmes parkinsoniennes et les femmes témoins……. 41
5.2. Influence du statut hormonal sur les caractéristiques de la MP chez les femmes…… 42
*5.2.1. Age de début de la MP et facteurs hormonaux…… 42*
*5.2.2. Evolution et complications de la MP…… 44*
**6. Données biologiques…… 45**
6.1. Etude des données biologiques selon le sexe…….. 45
6.2. Etude des données biologiques selon la MP……. 47
**7. Etude transcriptomique……... 49**
7.1. Dérégulations communes ou sexe spécifique de l'expression génique et des voies canoniques dans la MP……. 49
*7.1.1. Voies canoniques dérégulées chez les parkinsoniens sans distinction de sexe……. 49*
*7.1.2. Voies canoniques et gènes dérégulés chez les malades sporadiques par rapport aux témoins en fonction du sexe…….... 53*
*7.1.3. Gènes dérégulés « spécifiques » de la MP…… 57*
*7.1.4. Gènes dérégulées « spécifiques » de la MP selon le sexe…… 58*
7.2. Dérégulations de l'expression génique et des voies canoniques spécifiques du sexe…….. 60

**Discussion…… 63**
**1. Une différence d'âge de début et de l'évolution de la MP chez les parkinsoniens sporadiques selon le sexe…… 63**
**2. Des facteurs environnementaux délétères ou protecteurs différents selon le sexe……. 65**
**3. Influence des facteurs hormonaux sur la MP chez la femme……. 68**
**4. Dosages biologiques selon le sexe : un reflet de l'implication du fer et de l'homocystéine dans la MP ?..... 72**
**5. Des dérégulations de l'expression des gènes impliqués dans la pathogénie de la MP différentes selon le sexe…… 75**
**6. Influence du sexe dans d'autres pathologies neurologiques : exemple de la maladie d'Alzheimer et de la sclérose en plaques…… 81**
**7. Un ensemble de facteurs hormonaux et génétiques faisant du sexe masculin un facteur de risque de la MP……..... 82**

**Conclusion…… 84**
**Références…… 85**
**Annexes……..... 99**

# Introduction

## 1. Généralités sur la Maladie de Parkinson

### 1.1. Epidémiologie

La maladie de Parkinson (MP) est la deuxième pathologie neurodégénérative derrière la maladie d'Alzheimer ; elle touche 6,3 millions de personnes dans le monde d'après les chiffres de l'Organisation Mondiale pour la Santé et concerne 1,7% des sujets de plus de 65 ans (De Rijk *et al*., 2001).

### 1.2. Signes cliniques

#### *1.2.1. Signes moteurs*

La MP est le plus souvent diagnostiquée devant les signes de la triade parkinsonienne qui comprend le tremblement de repos, l'akinésie et la rigidité plastique. Le tremblement n'est pas toujours retrouvé mais il est inaugural dans plus de 70 % des cas. Lors de l'évolution de la maladie apparaissent les signes axiaux avec des troubles de la marche, une instabilité posturale avec des chutes, une dysarthrie et des troubles de la déglutition.

Les traitements, entre autres les agonistes dopaminergiques et la L-Dopa, permettent un contrôle satisfaisant de ces signes moteurs pendant les premières années de la maladie. Secondairement vont cependant apparaître les complications motrices qui comprennent les fluctuations motrices (résurgence du syndrome parkinsonien) et les dyskinésies (mouvements involontaires de surdosage). Ces complications ont un impact important sur la vie quotidienne des patients, conduisant parfois au recours à des thérapeutiques chirurgicales et de stimulation

dopaminergique continue (Stimulation cérébrale profonde des noyaux sub-thalamiques, pompe sous-cutanée à apomorphine, pompe d'injection intra duodénale de L-Dopa).

### *1.2.2. Signes non moteurs*

En dehors de ces signes moteurs, il existe de nombreux signes dits non-moteurs qui ont un impact fonctionnel important chez les patients.

Les malades peuvent ainsi présenter des troubles neuro-végétatifs avec hypersudation, hypersialorrhée, et hypotension artérielle orthostatique. Il peut également exister des troubles digestifs avec ralentissement du transit et gastroparésie, et des troubles génito-sphinctériens (mictions impérieuses, fuites urinaires, diminution de la libido et impuissance).

Les troubles cognitifs de la MP concernent principalement des troubles des fonctions exécutives, de l'attention, des fonctions visuo spatiales et de la mémoire. Il existe également des troubles neuropsychiatriques particulièrement invalidants avec notamment un syndrome dépressif qui peut être inaugural, une apathie et des troubles secondaires aux traitements tels que le trouble du contrôle des impulsions (TCI) ou le syndrome de dysrégulation dopaminergique. Enfin, les patients présentent parfois une somnolence diurne excessive qui peut être en lien avec des troubles du sommeil, souvent de mauvaise qualité du à la fois à une résurgence du syndrome parkinsonien mais également à des troubles du comportement en sommeil paradoxal (TCSP), à un syndrome d'apnées du sommeil ou un syndrome des jambes sans repos.

### *1.2.3. Signes pré-moteurs*

Le diagnostic actuel de la MP repose principalement sur les signes moteurs, or les études d'anatomopathologie ont montré que l'atteinte des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée est déjà avancée lors de l'apparition de ces symptômes (Cheng *et al*., 2010). Il est

maintenant établi qu'il existe un stade dit pré-moteur de la MP, où l'on retrouve des signes déjà cités ci-dessus en particulier les troubles digestifs, les TCSP et l'hyposmie qui peuvent précéder les signes moteurs de plusieurs années.

## 2. Anatomopathologie de la MP

La MP est définie en anatomopathologie par la présence de corps de Lewy dans les neurones pigmentés du tronc cérébral et par la dégénérescence des neurones dopaminergiques, principalement de la *pars compacta* de la substance noire (SN), qui se projettent sur le striatum, entraînant une déplétion dopaminergique et les signes moteurs de la maladie. Cependant, il existe également une dégénérescence des neurones noradrénergiques, sérotoninergiques et cholinergiques à l'origine des symptômes non moteurs de la MP. On retrouve aussi des dépôts d'alpha-synucléine dans de nombreuses localisations extra-cérébrales, telles que le système nerveux entérique (Lebouvier *et al*., 2008), les terminaisons nerveuses sous cutanées (Ikemura *et al*., 2008), les glandes salivaires sous maxillaires (Del Tredici *et al*., 2010) et le système nerveux autonome (Jellinger *et al*., 2011). Ces atteintes indiquent que la MP peut être considérée comme une véritable maladie multi-systémique.

La plupart des thérapeutiques actuellement disponibles permettent de supplémenter le déficit et de limiter la dégradation de la dopamine. Cependant, ces traitements n'agissent pas sur le phénomène initial de neurodégénérescence. L'enjeu actuel est donc de mieux comprendre la pathogénie de la MP afin d'aborder de nouvelles pistes thérapeutiques qui ralentiraient le cours évolutif de la maladie (*disease modifier*). Dans cet objectif, les cliniciens et scientifiques ont permis de mettre en évidence les origines multifactorielles de la MP avec une interaction de facteurs environnementaux et génétiques, mais une grande partie des mécanismes de mort cellulaire reste inconnue.

# 3. Etiopathogénie de la MP

## 3.1. Facteurs environnementaux et facteurs de risque de la MP

### *3.1.1. Pesticides*

Le lien entre pesticides et MP a tout d'abord été mis en évidence dans les années 80 suite à la découverte de syndromes parkinsoniens chez les toxicomanes exposés au MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6,-tetrahydropyridine), substance proche du paraquat. Par la suite, plusieurs études ont montré que les pesticides (paraquat, roténone), herbicides, insecticides, et fongicides étaient des facteurs de risque de la MP qui peut être reconnue comme maladie professionnelle chez certains agriculteurs. La plupart des études ont montré une augmentation du risque de MP en cas d'exposition aux pesticides, avec un odd ratio (OR) supérieur à 2, et le risque augmenterait avec la durée et le niveau d'exposition (Wirdefeldt *et al*., 2011).

### *3.1.2. Tabac*

Le tabac, pourtant facteur de risque de nombreuses maladies cardiovasculaires et pulmonaires, aurait un effet protecteur pour la MP avec des OR allant de 0,32 à 0,77 chez l'ensemble des fumeurs (actuels et sevrés=« ever smockers ») selon les études (Wirdefeldt *et al*., 2011). Cette association inverse serait d'autant plus forte si on ne prend en compte que les fumeurs actuels par rapport aux témoins (dits « never smockers ») (Hernán *et al*., 2002).

### *3.1.3. Café et thé*

De nombreuses études ont été menées sur la consommation de café, et près d'une dizaine d'équipes ont montré une relation inverse entre la consommation de café et le risque de MP (Wirdefeldt *et al*., 2011). Ainsi, une méta-analyse de 8 études a montré une diminution du risque de développer la MP avec un OR de 0,69 chez les consommateurs de café (Hernán *et*

*al*., 2002). Cet effet protecteur serait d'autant plus fort en cas de consommation importante (Ragonese *et al*., 2003).

Concernant le thé, les données sont plus contradictoires. Sur les 7 études cas témoins, trois ont montré une relation inverse avec le risque de MP, trois n'ont pas révélé d'association et la dernière a montré une augmentation du risque de développer la maladie (Wirdefeldt *et al*., 2011).

### *3.1.4. Facteurs de risque vasculaire*

L'implication des facteurs de risque vasculaire (HTA, hypercholestérolémie et diabète) est débattue. Devant les résultats contradictoires des différentes études, une méta-analyse menée en 2011 n'a pas montré d'association entre le diabète et la MP, mais il existerait une corrélation entre l'âge de début du diabète et le risque de la MP (Cereda *et al*., 2011).La plupart des études cas-témoins ou prospectives n'ont pas mis en évidence de lien entre l'hypercholestérolémie et la MP. Une étude prospective finlandaise a montré une augmentation du risque de MP en cas de dosage élevé du cholestérol total (Hu *et al*., 2008), mais un taux élevé de cholestérol pourrait également être associé à une progression plus lente de la MP (Huang *et al*., 2011). Enfin, une étude cas témoins japonaise a montré une association inverse entre HTA, hypercholestérolémie et diabète d'une part et MP d'autre part (Miyake *et al*., 2010), mais une grande étude prospective américaine n'a quant à elle retrouvé aucune association (Simon *et al*., 2007).

#### *3.1.5. Traitements anti-inflammatoires et statines*

Les études ont montré une inflammation avec activation de la microglie dans la MP. Des essais thérapeutiques ont donc été mis en place avec des traitements par aspirine, AINS (Wirdefeldt *et al.,* 2011) ou par des statines qui comportent des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Tan *et al*., 2013) et diminueraient le risque de développer une MP (Undela *et al*., 2013) mais les données restent contradictoires.

### 3.2. Facteurs génétiques

Le rôle des facteurs génétiques a été évoqué dès le début du 20$^{ème}$ siècle devant la présence de 15% de cas familiaux de la MP. Des formes mono-géniques ont ensuite été identifiées.

#### *3.2.1. Gènes associés à des formes autosomiques dominantes*

- SNCA (alpha-synucléine) (PARK1/4) : duplication, triplication du locus ou mutations ponctuelles. L'alpha-synucléine est le composant principal des corps de Lewy et a un rôle central dans la pathogénie de la MP.

- LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2) (PARK8) : une centaine de mutations ponctuelles ont été retrouvées dont 6 causales de la MP. La plus fréquente, G2019S, est responsable d'1% des formes sporadiques (Healy *et al*., 2008), de 4 % des formes autosomiques dominantes chez les caucasiens et de 40% chez les maghrébins (Ozelius *et al*., 2006). La protéine Lrrk2 est impliquée dans le trafic vésiculaire, la transduction des signaux (voie MAPK), la traduction et la dynamique du cytosquelette (Rideout *et al*., 2013).

- EIF4G1 (eukaryotic translation initiation factor 4 gamma, 1) (PARK 18) : des mutations ont été mises en évidence par notre équipe de recherche (Chartier-Harlin *et al*., 2011).

- VPS35 (vacuolar protein sorting 35 homolog) (PARK 17) : la mutation D620N du gène VPS35 est retrouvée chez moins de 0,1 % des sujets parkinsoniens sporadiques et chez 1 % des formes familiales autosomiques dominantes (Lesage *et al*., 2012).

- ATXN2 (ataxine 2) : l'ataxie spinocerebelleuse de type 2 (SCA2) est due à une expansion de triplets CAG au sein du gène de l'ataxine 2. Il existe différents phénotypes cliniques, le plus fréquent étant la forme cérébelleuse mais on peut également trouver un phénotype de MP typique et dopasensible. Cette mutation est plus fréquente dans la population asiatique (Furtado *et al*., 2004).

#### *3.2.2. Gènes associés à des formes autosomiques récessives*

- PARKIN (parkinson protein 2, E3 ubiquitin protein ligase) (PARK2) : les mutations de la PARKIN sont les mutations les plus fréquentes associées à la MP de début précoce (âge de début avant 45 ans). La parkin est entre autres une enzyme importante dans le processus de dégradation protéique par le protéasome et la dynamique mitochondriale (Karbowski *et al*., 2011).

- PINK1 (PTEN induced putative kinase 1) (PARK 6) : les mutations de PINK1 sont également retrouvées dans les MP précoces. La protéine joue un rôle essentiel dans la dégradation et la fission des mitochondries (Hauser *et al*., 2013).

- DJ-1 (PARK 7) : le phénotype clinique des sujets porteur d'une mutation de DJ-1 est similaire à celui de la mutation de la PARKIN et de PINK1. La protéine DJ-1 a une action antioxydante au sein de la mitochondrie (Hauser *et al*., 2013) et limiterait l'agrégation de l'alpha-synucléine (Batelli *et al*., 2008).

### *3.2.3. Facteurs de susceptibilité génétique*

En dehors des formes monogéniques qui n'expliquent que 10 % des MP, les études par GWAS (Genome Wide Association Study) ont permis d'identifier des polymorphismes qui seraient des facteurs de risque de MP. Les méta- analyses retrouvent ainsi de façon récurrente des polymorphismes de SNCA, LRRK2, MAPT (microtubule-associated protein tau) et GBA (glucosidase, beta, acid). Si une mutation homozygote de GBA est responsable de la maladie de Gaucher, des mutations hétérozygotes de ce gène augmenteraient aussi de 5 fois le risque de MP (Sidransky *et al*., 2009).

L'hypothèse actuelle est donc qu'il existerait une interaction entre les facteurs environnementaux et les facteurs génétiques, entraînant des dysfonctionnements des mécanismes cellulaires et les lésions anatomopathologiques de la MP (figure 1).

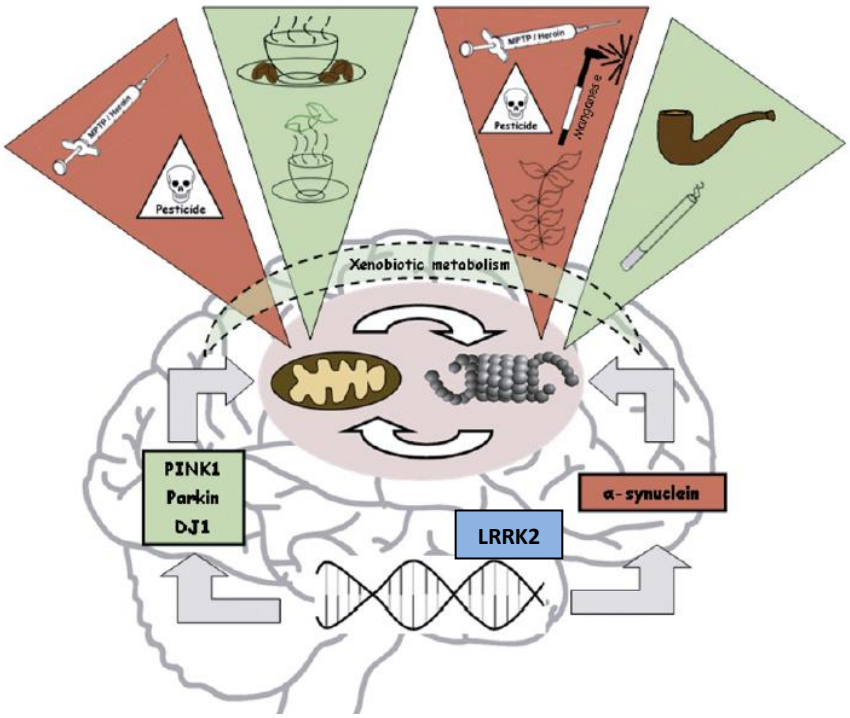



*Figure 1*. Interactions supposées des facteurs environnementaux et génétiques dans la MP (d'après Burbulla *et al.*, 2011).

### 3.3. Pathogénie de la MP

Les différents travaux de recherche ont permis de mieux comprendre les dérégulations des mécanismes cellulaires dans la MP que l'on peut regrouper en plusieurs axes mais qui sont toutefois interconnectés (figure 2).

#### *3.3.1. Stress oxydant et dysfonctionnement mitochondrial*

La substance noire est particulièrement sensible au stress oxydant du fait de la production de radicaux libres lors de la dégradation de la dopamine, d'un déficit en enzymes détoxifiantes et de la présence de fer. Ce dernier va majorer le stress oxydant par des réactions d'oxydation et par la formation de radicaux libres. Dans un cercle vicieux, le dysfonctionnement de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie (complexe I) entraîne une accumulation de fer en dénaturant des protéines possédant des clusters fer-souffre. De plus, il existe des dysfonctionnements des mécanismes de fission/fusion des mitochondries et de la mitophagie (dégradation des mitochondries par autophagie), régulés entre autres par les protéines Parkin et Pink1 (Schapira *et al*., 2011).

#### *3.3.2. Dérégulation de la voie du calcium*

La dérégulation de la voie du calcium dans les pathologies neurodégénératives induit une activation des protéases calcium dépendantes nommées calpaines. Cette activation va entraîner le clivage de protéines neuronales essentielles à la survie cellulaire et participer au processus de neurodégénérescence (Vosler *et al*., 2008). L'excès de calcium dans la mitochondrie va également être responsable d'altérations de sa membrane.

Le dysfonctionnement de la signalisation médiée par le calcium entraîne également une dérégulation de l'interaction entre le réticulum endoplasmique (RE) et la mitochondrie, essentielle au métabolisme énergétique cellulaire (Calì *et al*., 2013).

### *3.3.3. Voies de dégradation cellulaire*

Le dysfonctionnement du système ubiquitine-protéasome qui permet normalement la dégradation de protéines marquées par l'ubiquitine, entraîne une accumulation de protéines en particulier de l'alpha-synucléine (Rideout *et al*., 2004). Dans une interaction à double sens, l'alpha-synucléine inhiberait le système ubiquitine-protéasome (Stefanis *et al*., 2001). L'autophagie, autre voie de dégradation cellulaire via les lysosomes, jouerait également un rôle clé dans la pathogénie de la MP car plusieurs gènes impliqués dans la maladie (GBA, LRRK2) ont un lien direct avec le lysosome. Enfin, la voie du stress du réticulum endoplasmique qui permet la dégradation de protéines anormales, peut induire une mort cellulaire programmée. Or une augmentation du stress du RE a été retrouvée dans la SN de sujets parkinsoniens (Hoozemans *et al*., 2007) et l'agrégation d'alpha-synucléine favoriserait cette activation (Bellucci *et al*., 2011).

### *3.3.4. Inflammation*

Il existe des phénomènes inflammatoires dans de nombreuses pathologies neurodégénératives et cela pourrait même être un évènement très précoce dans la pathogénie de la MP. Les études ont montré qu'il existait une activation de la microglie et des astrocytes, un relargage de molécules pro-inflammatoires (cytokines, dérivés actifs de l'oxygène-ROS, chemokines) et une infiltration de lymphocytes périphériques. Les gènes impliqués dans la MP ont de plus un rôle important dans la régulation de ces différents phénomènes inflammatoires. (Deleidi *et al*., 2013).

### *3.3.5. Propagation de l'alpha-synucléine*

Une des nouvelles hypothèses actuellement à l'étude est celle d'une propagation de l'alpha-synucléine de cellule en cellule via les exosomes avec un mécanisme similaire à celui du prion. Ceci expliquerait l'extension progressive des dépôts d'alpha-synucléine dans la MP

(Braak *et al*., 2003) et la « contamination » de cellules saines qui avaient été greffées 10 ans auparavant à des sujets parkinsoniens (Angot *et al*., 2013).

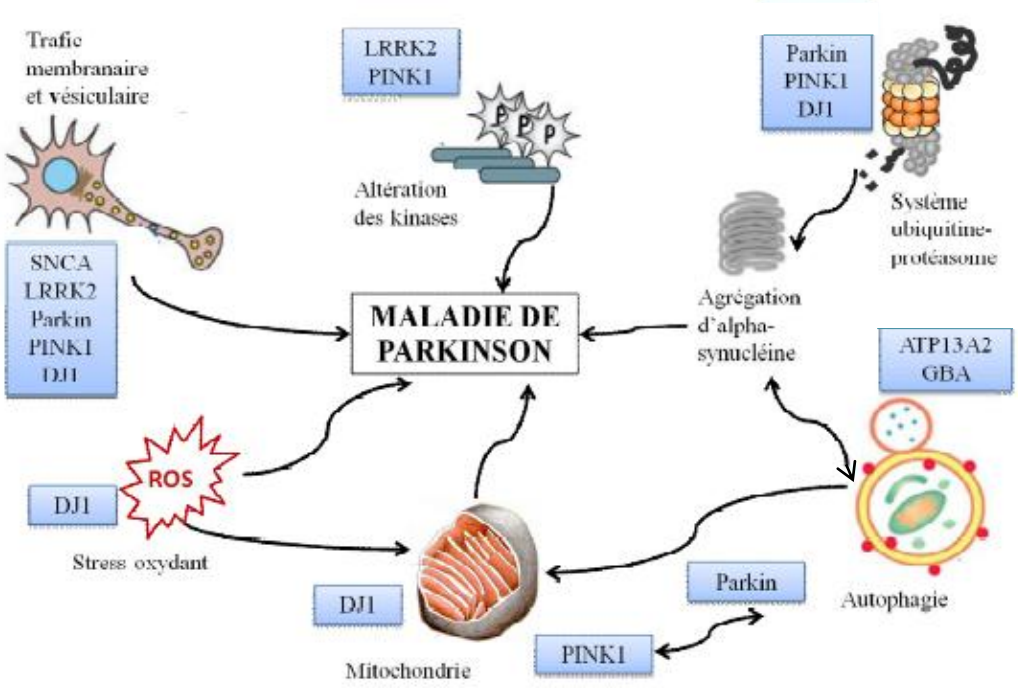



*Figure 2* : Représentation schématique de la pathogénie de la MP avec localisation des gènes dans les différents systèmes impliqués (d'après Hatano *et al*., 2009).

### 3.4. Modèles expérimentaux

Même si ces formes génétiques ne concernent que moins de 10 % des sujets atteints par la MP, elles aident à mieux comprendre et à identifier certains mécanismes pathogéniques de la maladie. Pour cela, les équipes de recherche se basent sur des modèles expérimentaux tels que la culture cellulaire et les modèles animaux toxiques (6-OHdopamine, MPTP ou roténone) ou transgéniques. Cependant, ces modèles ne reflètent pas l'ensemble des mécanismes chez l'homme, chez qui l'étude des dysfonctionnements des neurones dopaminergiques ne peut se faire qu'en anatomopathologie et donc le plus souvent chez des malades décédés à des stades évolués de la maladie. Afin de permettre des recherches du vivant du malade dès les stades

précoces, des études sont actuellement menées sur des tissus non cérébraux tels que les biopsies coliques, les fibroblastes ou les cellules mononucléées sanguines périphériques (peripheral blood mononuclear cells-PBMC). Ces dernières sont en effet d'un accès facile du vivant du patient. Il s'agit de cellules possédant des récepteurs de la dopamine D1 et D2 like qui sont exprimés de façon plus importante chez les parkinsoniens *de novo*, montrant l'atteinte globale du système dopaminergique dans la MP (Barbanti *et al*., 1999). De plus, il existe des dérèglements du système ubiquitine protéasome et du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale dans les PBMC de sujets parkinsoniens (Blandini *et al*., 2006). Enfin des lymphocytes sont également retrouvés au sein de la substance noire des malades, et contribueraient à la physiopathologie de la MP (Brochard *et al*., 2009). Les PBMC sont donc un modèle d'étude qui reflète les dérégulations métaboliques de la MP et sont de plus facilement accessibles chez les patients.

### 3.5. Etudes transcriptomiques

Le transcriptome est l'ensemble des ARN issus de la transcription du génome. Un même gène peut avoir plusieurs transcrits différents en fonction de l'épissage alternatif, et chaque transcrit peut être exprimé en quantité différente selon les conditions cellulaires. L'étude du transcriptome permet donc d'avoir un reflet du fonctionnement cellulaire et donc d'étudier les dérégulations des voies métaboliques chez des malades par rapport à des témoins. Notre laboratoire a ainsi analysé le transcriptome de PBMC de sujets porteurs de la mutation G2019S du gène LRRK2. Cette étude a montré une dérégulation de l'expression de gènes impliqués dans les voies métaboliques pathogéniques de la MP (système ubiquitine-protéasome, stress oxydant mitochondrial, inflammation, apoptose..) (Mutez *et al*., 2011). Ces résultats montrent que les dérégulations de l'expression génique dans les PBMC de sujets parkinsoniens sont le reflet des études transcriptomiques menées à partir des neurones

dopaminergiques de la SN de malades (Greene *et al.*, 2012) avec une dérégulation des voies du stress oxydant et de la chaîne respiratoire mitochondriale, de la dégradation protéique, de la transmission synaptique, du trafic vésiculaire, de l'apoptose, des facteurs neurotrophiques, de la signalisation cellulaire et dopaminergique. Par ailleurs une liste de 35 gènes dérégulés communs à deux études du transcriptome menées à partir de PBMC de sujets parkinsoniens a été établie (Tableau 1.) (Shehadeh *et al.*, 2010). Les dérégulations de l'expression de ces gènes pourraient ainsi être utilisées comme potentiels biomarqueurs de la MP.

*Tableau1*. Liste des 35 gènes dérégulés dans les PBMC de sujets parkinsoniens communs aux études de Shehadeh et collaborateurs 2010) et Scherzer et collaborateurs (2007).

| GENE | Nom du gène | GENE | Nom du gène |
|---|---|---|---|
| ADIPOR1 | adiponectin receptor 1 | PEA15 | phosphoprotein enriched in astrocytes 15 |
| ALAS2 | aminolevulinate delta-synthase 2 | PLAC8 | placenta-specific 8 |
| BCL11B | B-cell CLL/lymphoma 11B | PSMF1 | proteasome (prosome, macropain) inhibitor subunit 1 |
| BCL2 | B-cell CLL/lymphoma 2 | RNF24 | ring finger protein 24 |
| BLVRB | billverdin reductase B | RPA1 | replication protein A1 |
| BPGM | 2,3-bisphosphoglycerate mutase | RPS4Y1 | ribosomal protein S4, Y-linked 1 |
| BSG | basigin | SECTM1 | secreted and transmembrane 1 |
| CSF3R | colony stimulating factor 3 receptor | SELENBP1 | selenium binding protein 1 |
| EPB42 | erythrocyte membrane protein band 4,2 | SEP6 | septin 6 |
| ERAF (AHSP) | alpha hemoglobin stabilizing protein | SERPINB9 | serpin peptidase inhibitor, clade B member 9 |
| FECH | ferrochelatase | SIAH2 | siah E3 ubiquitin protein ligase 2 |
| GMPR | guanosine monophosphate reductase | SLC4A1 | solute carrier family 4 |
| IER3 | Immediate early response 3 | SLC6A8 | solute carrier family 6 |
| ITK | IL2 inducible T cell kinase | SRRM2 | serine/arginine repetitive matrix 2 |
| LBH | limb bud and heart development | TKT | transketolase |
| LEF1 | lymphoid enhancer binding factor 1 | UBA2 | ubiquitin-like modifier activating enzyme 2 |
| MACF1 | microtubule-actin crosslink factor 1 | UXS1 | UDP-glucuronate decarboxylase 1 |
| MPP1 | membrane protein palmitoylated 1 | | |

## 4. Influence du sexe dans la MP

L'influence du sexe sur la maladie de Parkinson a été étudiée dès 1977 (Bedard *et al*., 1977) en partant de la constatation que le sexe ratio est d'environ 1,5 à 2 pour 1 en défaveur des hommes (Baldereschi *et al*., 2000, De Lau *et al*., 2004). Les travaux épidémiologiques et scientifiques ont donc cherché à identifier si le phénotype et le cours évolutif de la MP étaient différents selon le sexe.

### 4.1. Phénotype de la MP selon le sexe

Si les hommes ont une probabilité plus élevée de développer une MP par rapport aux femmes, ils semblent avoir un âge de début de la maladie plus précoce d'environ 2 ans (Twelves *et al*., 2003, Haaxma *et al*., 2007, Solla *et al*., 2012) mais cette donnée n'est pas mise en évidence par Baba et collaborateurs (2005).

Les données sont contradictoires concernant le premier signe moteur selon le sexe avec plus de formes trémulantes chez les femmes (Haaxma *et al*., 2007) ce qui n'a pas été retrouvé dans d'autres études (Baba *et al*., 2005, Scott *et al*., 2000). Enfin, il n'y aurait pas de différence du score UPDRS moteur et il y aurait plus de dyskinésies et d'instabilité posturale chez la femme (Baba *et al*., 2005).

### 4.2. Différences d'innervation et du métabolisme dopaminergique selon le sexe

Les examens de radiologie, en particulier de TEP, ont permis de montrer, pour une même durée d'évolution de la MP, une déplétion dopaminergique plus importante dans le noyau caudé chez l'homme mais pas dans le putamen. De plus, les hommes présenteraient une déplétion cholinergique corticale plus sévère (Kotagal *et al*., 2013). En SPECT, les femmes parkinsoniennes auraient une fixation putaminale supérieure de 16% à celle des hommes au

moment du diagnostic, mais l'évolution serait ensuite similaire pour les deux sexes (Haaxma *et al*., 2012).

Au niveau biologique, le métabolisme de la dopamine serait influencé par le sexe avec un polymorphisme Val158Met de la COMT (Catéchol-O-methyltransférase), enzyme de dégradation de la dopamine, différent entre hommes et femmes et qui influencerait l'âge de début de la MP (Klebe *et al*., 2013).

### 4.3. Etudes transcriptomiques selon le sexe

Des études transcriptomiques ont été menées afin d'étudier si l'expression de certains gènes variait selon le sexe et d'autres selon le facteur maladie, et quels seraient leurs rôles respectifs dans la pathogénie de la MP. La méthodologie consiste à considérer que les gènes dérégulés dans les comparaisons hommes-femmes mais non retrouvés dans les comparaisons malades-témoins, sont en lien avec le sexe uniquement. Les gènes dérégulés dans les comparaisons malades-témoins mais non retrouvés dans les comparaisons hommes-femmes sont en revanche en lien avec le facteur maladie uniquement.

Ainsi, des études transcriptomiques menées à partir de neurones dopaminergiques de la SN et des neurones du mésencéphale, ont montré des dérégulations de gènes impliqués dans le métabolisme mitochondrial et calcique (Simunovic *et al*., 2010) ainsi que des gènes connus pour leur implication dans la MP chez les hommes sains (Cantuti-Castelvetri *et al*., 2007, Simunovic *et al*., 2010). Des résultats similaires ont été retrouvés chez l'animal (Tao *et al*., 2012), où des dérégulations de l'expression génique sont retrouvées à la fois dans des conditions physiologiques et des conditions de stress chez les rats mâles. Les neurones mâles seraient également plus vulnérables à la cytotoxicité induite par la roténone que les neurones femelles.

Par ailleurs, chez les malades, les voies métaboliques dérégulées seraient en partie différentes selon le sexe (Cantuti-Castelvetri *et al*., 2007) avec en particulier une sous expression plus importante des gènes des voies de l'apoptose, de la phosphorylation oxydative et de la transmission synaptique chez les hommes parkinsoniens (Simunovic *et al*., 2010).

Enfin, Simunovic et collaborateurs ont établi une liste de gènes « clés » de la MP à partir de données d'études transcriptomiques et de GWAS, gènes dérégulés dans leur étude chez l'ensemble des parkinsoniens et/ou selon le sexe, montrant que l'expression de gènes importants dans la pathogénie de la MP serait sexe dépendante (Annexe 1).

### 4.4. Implication des facteurs hormonaux dans la MP

#### *4.4.1. Etudes épidémiologiques*

Des études épidémiologiques ont donc été menées afin d'évaluer si les caractéristiques hormonales de la femme (règles, ménopause, durée de vie fertile (DVF : nombre d'années entre les premières règles et la ménopause), grossesses, contraception orale, traitement hormonal substitutif-THS) avaient une influence sur l'âge d'apparition de la MP et sur son évolution. Deux questions sont le plus souvent posées dans ces études, à savoir si 1) les facteurs hormonaux peuvent modifier le risque de développer une MP et 2) si les facteurs hormonaux peuvent influencer l'âge de début de la MP chez les femmes parkinsoniennes.

Ainsi l'âge de début de la MP serait corrélé de façon positive avec l'âge de la ménopause et la DVF si les premiers signes cliniques sont apparus après la ménopause (Haaxman *et al*., 2012), et également avec la durée cumulée de grossesse, l'âge de la ménopause et la parité (Yadav *et al*., 2012). Une DVF courte serait associée à un risque plus élevé de développer une MP (Ragonese *et al*., 2006) mais ceci n'a pas été retrouvé par Nicoletti et collaborateurs (2011) dont la cohorte comportait plus de 200 sujets de chaque sexe. En revanche, une DVF

courte serait associée à un âge de début de la MP plus précoce (Haaxma *et al*., 2012, Yadav *et al*., 2012).

Les données sont contradictoires concernant les autres facteurs hormonaux ; le risque de MP serait corrélé à une durée cumulée de grossesse supérieure à 30 mois (OR=2,19), et il existerait également une association négative (OR= 0,30) avec la ménopause chirurgicale (Ragonese *et al*., 2006). En effet, on retrouve plus d'hystérectomie chez les femmes parkinsoniennes (OR= 3,36) (Benedetti *et al*., 2011) mais à l'opposé, Popat et collaborateurs (2005) montrent une diminution du risque en cas d'hystérectomie par rapport à une ménopause naturelle. Concernant la prise d'un traitement hormonal substitutif (THS), les femmes ayant subi une hystérectomie et pris au décours un THS auraient 2,6 fois plus de risque de développer une MP que celles qui n'ont pas pris ce traitement, et le risque augmenterait avec la durée de prise de THS. En revanche, les femmes qui ont une ménopause naturelle et qui ont pris un THS pendant plus de 10 ans auraient un risque de MP diminué de 60 % (Popat *et al*., 2005).

Deux études prospectives ont été menées sur l'étude des facteurs hormonaux et la MP. La première n'a pas retrouvé de lien entre les différents facteurs hormonaux de la femme et le risque de développer une maladie de Parkinson. En revanche, ils retrouvent une interaction avec un facteur environnemental avec une diminution du risque de MP chez les fumeuses qui passe de 28% à 13 % en cas d'association avec une prise de THS (Simon *et al*., 2009). Dans la seconde étude prospective danoise, il a été retrouvé une augmentation du risque de MP si la durée de prise de contraception était inférieure à 6 ans (OR= 2,38), et celle du THS était inférieure à 4 ans (OR= 1,17). Aucun autre facteur hormonal ne modifiait le risque de MP par ailleurs (Rugbjerg *et al*., 2013).

### *4.4.2. Œstrogènes et pathogénie de la MP*

#### 4.4.2.1. Synthèse des hormones sexuelles

L'œstradiol (E2) et la progestérone sont les principales hormones sexuelles de la femme en âge de procréer. L'œstradiol permet la prolifération de l'endomètre lors du cycle menstruel alors que la progestérone aide à l'implantation de l'œuf fécondé et au maintien de la grossesse. Chez les femmes ménopausées, l'œstrone (E1) est la principale hormone sexuelle, avec une synthèse principalement extra-ovarienne dans le tissu adipeux et les os. Les différentes étapes de synthèse des hormones stéroïdes sexuelles à partir du cholestérol sont illustrées en annexe 2.

#### 4.4.2.2. Synthèse cérébrale d'œstrogènes

Les neurones et les astrocytes peuvent synthétiser *in situ* de l'œstradiol à partir du cholestérol et de la testostérone circulants grâce à l'aromatase qui est retrouvée dans de nombreuses régions cérébrales (noyaux gris centraux, hippocampe, système limbique, cortex…). L'œstrogène jouerait un rôle à la fois dans la différentiation sexuelle, le comportement sexuel mais également dans le développement neuronal, la plasticité synaptique et la survie cellulaire (Cuì *et al*., 2012). Le taux d'œstradiol cérébral diminuerait également après la ménopause (Rosario *et al*., 2011).

#### 4.4.2.3. Voies de signalisation des œstrogènes

La signalisation des œstrogènes se fait via les récepteurs ER (estrogen receptor) α et β. ERα est majoritairement exprimé dans les gonades tandis que ERβ est présent principalement dans les autres tissus. Les ER sont exprimés au niveau cérébral, mais avec des localisations différentes, principalement l'amygdale et l'hypothalamus pour ERα alors qu'ERβ est retrouvé surtout dans l'hippocampe, le thalamus, le locus coeruleus et la SN (Osterlund *et al*., 2000, Mitra *et al*., 2003). Il n'y aurait pas de différence dans la répartition des ER dans le striatum

selon le sexe. Un autre récepteur membranaire des œstrogènes a été identifié en 2005 nommé GPR30 ou GPER1. Il est également localisé, entre autres, dans le striatum et la substance noire et agirait en association avec les ER (Bourque *et al*., 2012).

Les ER peuvent être membranaires ou nucléaires et sont activés par l'œstradiol. Les ER nucléaires sont transloqués au niveau du noyau. Ils ont alors une action génomique en modulant l'expression de gènes via les ERE (estrogen response element) ou via des facteurs de transcription. Les ER membranaires (ERα, β et GPR30) ont eux une action non génomique en activant des voies de signalisation rapides via des cascades de kinases, en particulier les voies PI3K/Akt et MAPK/ERK qui sont des voies essentielles de survie cellulaire (Ciù *et al*., 2012) (figure 3).

#### 4.4.2.4. Œstradiol et mécanismes pathogéniques de la MP

- Métabolisme de la dopamine

Chez les rats mâles et femelles, l'œstradiol prévient la perte en neurones dopaminergiques et la diminution des transporteurs DAT (Dopamine Active Transporteur) et VAMT2 (Vesicular Monoamine Transporter 2) induites par le MPTP. Cet effet protecteur est observé uniquement chez les rats sauvages et pas chez les rats invalidés par knock-out pour les gènes ER, confirmant que cette action est médiée par la voie des récepteurs aux œstrogènes (Al Sweidi *et al*., 2011). De plus, l'œstradiol interagit avec le métabolisme de la dopamine en diminuant l'activité de la COMT via l'ERE présent dans sa région promotrice (Tao *et al*., 1999), ce qui expliquerait les taux moins élevés de COMT chez la femme (Jiang *et al*., 2003).

- Stress oxydant et mitochondrie

Les effets antioxydants de l'œstradiol se feraient entre autres par une diminution de la phosphorylation de ERK, réduisant ainsi l'influx calcique qui joue un rôle majeur dans la mort cellulaire (Numakawa *et al*., 2011). L'œstradiol a également une action génomique sur

l'expression des gènes impliqués dans la chaîne respiratoire mitochondriale, avec une augmentation de l'expression des composants du complexe IV dans des cellules neuronales traitées par œstradiol et progestérone (Chen *et al*., 2009).

- Inflammation

L'œstradiol permettrait de limiter les phénomènes inflammatoires en inhibant l'expression de cytokines libérées par la microglie et les astrocytes lors de lésions cérébrales (Arevalo *et al*., 2012).

- Agrégats d'alpha-synucléine

Les œstrogènes ont également une interaction avec l'alpha-synucléine dont l'accumulation serait régulée par Erβ (Marwarha *et al*., 2011). De plus, l'œstriol et à moindre degré l'œstradiol, l'œstrone, l'androstenedione, et la testosterone diminueraient l'agrégation de l'alpha-synucléine (Hirohata *et al*., 2009).

#### 4.4.2.5. Variants des récepteurs aux œstrogènes

Il existe plusieurs polymorphismes des récepteurs des œstrogènes, mais les données sont contradictoires concernant leur association avec le risque de MP. Si le polymorphisme A1730G d'ERβ n'augmente pas le risque de développer la MP (Li *et al*., 2008, Westberg *et al*., 2004), le génotype GG du polymorphisme A1730G est associé à un âge de début de la maladie plus précoce avec un OR de 2,2 par rapport aux autres génotypes (Westberg *et al*., 2004). De plus, les polymorphismes A1730G d'ERβ et C174G d'IL6 seraient ensembles associés au risque de développer une MP (San Luciano *et al*., 2012).

### *4.4.3. Utilisation du THS dans la MP*

Devant cet effet possiblement protecteur de l'œstradiol, des essais thérapeutiques avec des THS ont été menés mais toujours sur des petits échantillons de femmes parkinsoniennes ménopausées et sur des courtes durées. L'étude POETRY (Parkinson's Disease on Estrogen Replacement in the Menopause) n'a pas montré d'amélioration significative du score UPDRS III (Parkinson Study Group POETRY Investigators, 2011), contrairement à Tsang et collaborateurs (2000) qui ont montré une amélioration moyenne du score UPDRS moteur de 3,5 points sous traitement contre 0,4 sous placebo. Un traitement par œstradiol puis progestérone entraînerait une diminution des dyskinésies (Nicoletti *et al*., 2007) ce qui n'a pas été retrouvé dans l'étude POETRY. Enfin, l'utilisation des œstrogènes permettrait aussi de diminuer le traitement dopaminergique (Blanchet *et al*., 1999).

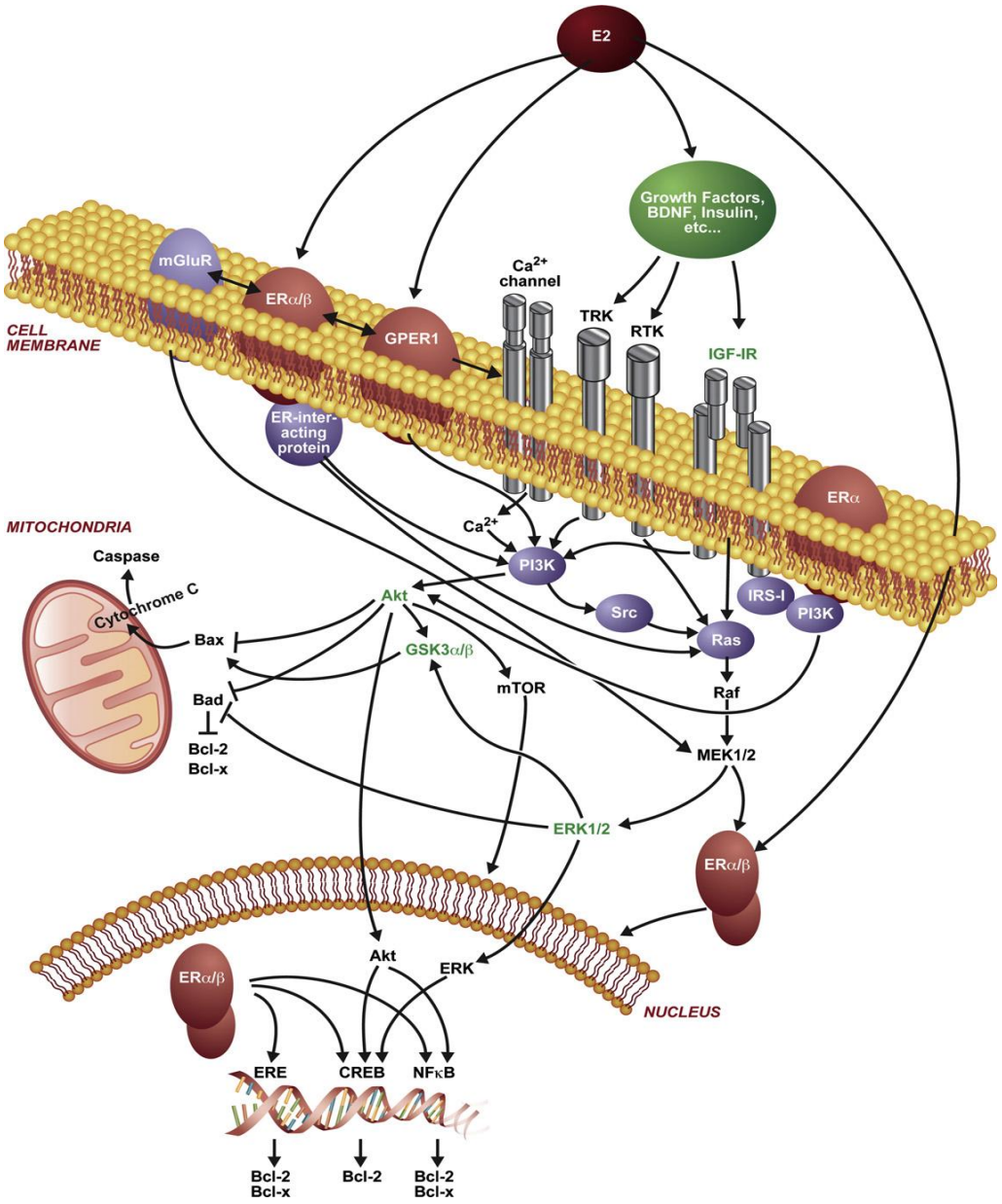



*Figure 3*. Voie de signalisation des récepteurs aux œstrogènes d'après Bourque et collaborateurs (2012).

L'ensemble de ces études a donc évalué l'influence des facteurs hormonaux sur la MP soit dans une optique épidémiologique soit avec une approche biologique fondamentale. Nous avons donc souhaité réalisé la première étude française transversale sur le sujet qui engloberait des aspects épidémiologiques, cliniques et biologiques, auxquels on pourrait corréler des dérégulations d'expression génique.

# Objectifs

L'objectif principal de la thèse est d'étudier les différences cliniques, biologiques et transcriptomiques chez les patients parkinsoniens selon leur sexe.

Nous chercherons pour cela à savoir si :

- Les facteurs environnementaux impliqués dans la MP diffèrent selon le sexe.
- Les hommes et femmes atteints de la MP ont des différences dans leur phénotype clinique et dans leur profil évolutif de la maladie.
- Les facteurs hormonaux ont une influence sur la MP chez les femmes parkinsoniennes.
- Les résultats des dosages biologiques de molécules pouvant avoir un lien avec la pathogénie de la MP diffèrent selon le sexe.
- L'analyse du transcriptome révèle des voies métaboliques dérégulées distinctes selon le sexe et/ou selon la MP.

# Matériel et Méthodes

Notre étude est un travail transversal allant d'une étude épidémiologique et biologique à une étude transcriptomique permettant d'aborder les mécanismes cellulaires.

## 1. Etude épidémiologique

### 1.1. Population étudiée

#### *1.1.1. PARADIGME et CONVERGENCE*

L'étude PARADIGME (PARkinson Alzheimer DIsease Gene Metabolism and Environment, CPP 2002/1918) a débuté en 2003 afin d'identifier des corrélations entre les phénotypes cliniques de pathologies neurodégénératives comme la MP et des facteurs génétiques biologiques et environnementaux. L'ensemble des sujets a été recruté dans le service de Neurologie et Pathologie du Mouvement du Pr Destée du CHRU de Lille. Les critères de sélection correspondent aux critères de diagnostic de MP de l'UKPDSBRC -United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Research Center- (Gibb & Lees, 1989) et aux critères du NINDS –National Institute of Neurological Disorders and Stroke– (Gelb *et al.* 1999). Chaque inclusion comprenait un questionnaire sur les caractéristiques de la maladie et les antécédents familiaux de MP. L'ensemble des antécédents et des traitements tels que l'aspirine et les statines étaient également notés, ainsi que l'exposition à des facteurs environnementaux comme le tabac, les pesticides, la consommation de thé et de café. Pour les femmes étaient recueillies les données hormonales concernant l'âge des premières règles, le nombre de grossesses, d'accouchements prématurés ou de fausses couches, l'allaitement, la prise de contraceptifs, l'âge et la cause de la ménopause ainsi que la prise de THS. Ce questionnaire était complété d'une prise de sang comprenant le dosage entre autres du cholestérol total,

HDL cholestérol, triglycérides, glycémie, œstradiol, vitamine B12, folates et homocystéine. Des échantillons sanguins étaient également recueillis par l'équipe 6 INSERM UMR837 pour l'extraction d'ADN et d'ARN afin de réaliser les études génétiques et transcriptomiques.

L'étude CONVERGENCE (CPP 2008-A00219-42) s'est inscrite dans la suite de PARADIGME à partir de 2008 permettant de poursuivre l'inclusion de malades parkinsoniens mais également des témoins indemnes de tout antécédent personnel et familial de pathologie neurodégénérative. Le bilan biologique est plus complet que pour les sujets PARADIGME, comprenant en plus une NFS et un bilan martial (ferritine, transferrine, capacité totale de fixation et coefficient de saturation).

La cohorte PARADIGME comporte 142 femmes et 218 hommes parkinsoniens, la cohorte CONVERGENCE comprend 25 femmes et 55 hommes parkinsoniens ainsi que 125 femmes et 72 hommes témoins.

#### *1.1.2. Recrutement complémentaire de femmes parkinsoniennes*

L'un de nos objectifs est d'étudier l'influence des facteurs hormonaux au sein d'une population de femmes atteintes de la MP. Nous devions donc avoir un effectif suffisant afin de permettre des études statistiques plus puissantes.

Nous avons donc réalisé un questionnaire issu de celui de PARADIGME et de CONVERGENCE. Des questions supplémentaires ont été ajoutées concernant la durée de l'allaitement, l'âge à la première et dernière grossesse, et enfin nous avons différencié hystérectomie seule ou hystérectomie avec ovariectomie ce qui n'était pas le cas dans PARADIGME et CONVERGENCE.

Toute femme atteinte de MP et vue en consultation de neurologie du CHRU de Lille était informée, qu'avec son accord, elle sera contactée par téléphone pour la réalisation de ce

questionnaire. Une lettre d'information écrite lui était remise. Ce recueil de données a été autorisé après déclaration auprès de la CNIL (n°2012101812H34) et ne nécessitait pas de consentement écrit.

De la même façon, ce questionnaire était également réalisé auprès des femmes hospitalisées dans le service de Neurologie et Pathologies du Mouvement du Pr Destée du CHRU de Lille. Les résultats des prises de sang réalisées à jeun et en dehors de tout contexte infectieux étaient colligés. Nous avons ainsi pu inclure 196 femmes parkinsoniennes supplémentaires entre novembre 2012 et juin 2013.

#### *1.1.3. PARKFANORD*

L'étude PARKFANORD (PARKinson dans les FAmilles du NORD de la France, CPP 2005/1914) permet d'effectuer des prélèvements sanguins pour une analyse génétique et transcriptomique et un recueil de données cliniques chez des sujets présentant une forme familiale de la MP (au moins un apparenté atteint) et/ou porteurs d'une mutation délétère. Cette population nous a apporté des données supplémentaires sur l'âge de début, le premier signe, l'année d'introduction de la dopathérapie, l'année des complications motrices et les évaluations cognitives. Cependant, nous ne disposons pas chez ces sujets de données sur les facteurs environnementaux ou sur les facteurs hormonaux. Cette population, qui comprend 110 hommes et 111 femmes parkinsoniens, n'est donc pas prise en compte lors des régressions statistiques.

**Au total notre cohorte comprend donc 857 parkinsoniens (474 femmes et 383 hommes) et 197 témoins sains (125 femmes et 72 hommes)**

## 1.2. Analyse statistique

### *1.2.1. Description des différentes étapes d'analyse*

Les analyses statistiques ont tout d'abord porté sur les facteurs environnementaux et facteurs de risque ou protecteurs potentiels de la MP (tabac, thé, café, pesticides, diabète, HTA, hypercholestérolémie, prise d'aspirine, d'AINS et d'hypocholestérolémiant) entre les témoins selon le sexe, entre les malades selon le sexe, puis entre les malades et les témoins selon le sexe. Ceci nous a permis d'observer s'il y avait des différences d'exposition aux facteurs environnementaux selon le sexe et/ou selon le fait d'être atteint ou non d'une MP.

Ensuite nous avons étudié les caractéristiques de la maladie selon le sexe en effectuant des régressions avec les facteurs environnementaux dont l'exposition était statistiquement différente lors de l'étape précédente.

Les facteurs hormonaux ont été étudiés entre les femmes parkinsoniennes et les femmes témoins, puis nous avons observé leur influence sur l'âge de début et l'évolution de la MP au sein du groupe des femmes parkinsoniennes. Ceci a également été réalisé sans puis avec régression sur les facteurs environnementaux de confusion éventuels identifiés lors de la première analyse.

Enfin nous avons réalisé des comparaisons statistiques sur les dosages biologiques entre les différents groupes de sujets afin d'identifier des dérégulations qui seraient en lien avec le sexe et/ou avec la maladie. Les différentes étapes d'analyses sont schématisées dans la figure 4.

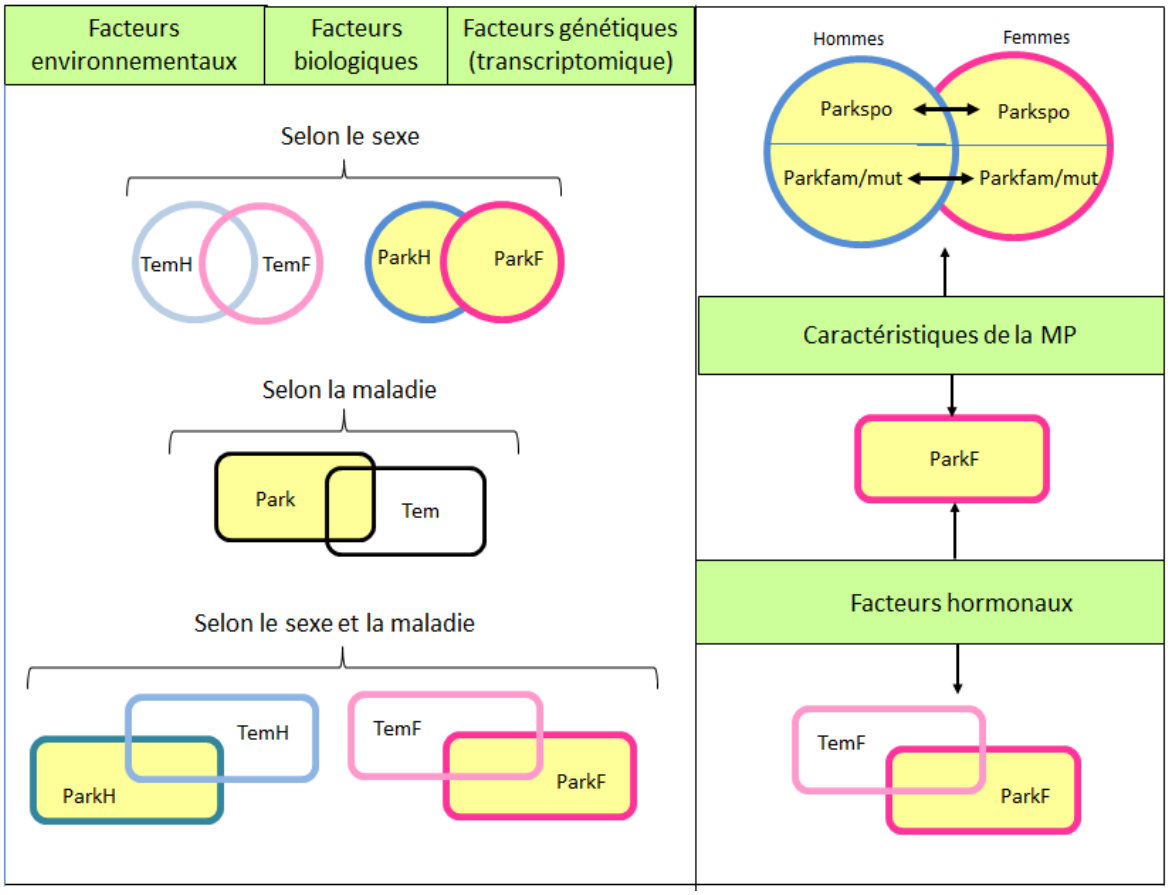



*Figure 4*. Différentes étapes d'analyse de notre étude. TemH : témoins hommes, TemF : témoins femmes, ParkH : hommes parkinsoniens, ParkF : femmes parkinsoniennes, Parkspo : parkinsoniens sporadiques, Parkfam/mut : parkinsoniens avec antécédents familiaux et/ou porteurs d'une mutation délétère.

### *1.2.2. Tests statistiques utilisés*

L'analyse statistique a été réalisée par l'Unité de Biostatistiques de la Plateforme d'Aide Méthodologique du Pôle de Santé Publique du CHRU de Lille. Le logiciel SAS (Statistical Analysis System) version 9.2 a été utilisé pour réaliser ces analyses.

Pour les comparaisons de fréquence entre deux variables qualitatives, nous avons utilisé le test du Khi-2 ou le test de Fisher exact. Dans le cas de comparaisons d'une variable numérique selon une variable qualitative, nous avons appliqué, soit le test du U de Mann-Whitney basé sur une comparaison des distributions (test non paramétrique), soit le test de

Student basé sur les comparaisons de moyennes. Concernant les corrélations entre deux variables numériques entre elles, nous avons analysé le coefficient de corrélation de Spearman. Enfin, pour prendre en compte les facteurs de confusion dans certaines analyses, nous avons réalisé une analyse de la variance avec ajustement sur ces facteurs.

Nous considérons une valeur de $p < 0,05$ comme statistiquement significative.

## 2. Etude transcriptomique

Notre étude transcriptomique a été faite à partir des données des puces Whole Human Genome 44k d'AGILENT®, réalisées par l'équipe 6 de l'unité INSERM UMR837 en collaboration avec la plateforme de génomique fonctionnelle et structurale dirigée par le Dr Figeac (IFR114, IMPRT, IRCL).

### 2.1. Micropuces à ADNc

Les micropuces à ADN complémentaire (ADNc) permettent d'étudier un ensemble de transcrits du génome humain. Les ARN totaux sont extraits des PBMC puis sont réalisés une transcription inverse, un marquage et une amplification des ADNc. Ces derniers sont ensuite déposés sur une lame de verre où se trouvent des sondes avec lesquelles les ADNc vont s'hybrider. Les sondes correspondent à des gènes ou à des portions non codantes. Les lames sont ensuite séchées, lavées puis lues par un scanner dont le laser va permettre d'exciter les molécules de marquage et ainsi mesurer l'intensité de fluorescence qui sera le reflet de l'expression du gène. Chaque micropuce correspond à un sujet, ce qui permet ensuite de comparer l'intensité de fluorescence de chaque sonde (reflet de l'expression du gène) entre les groupes de sujets étudiés.

Les caractéristiques des sujets sélectionnés pour notre étude transcriptomique sont indiquées dans les tableaux 2 et 3.

*Tableaux 2 et 3 :* Caractéristiques des sujets de l'étude transcriptomique avec le sexe (1 : homme, 2 : femme), l'âge en années lors du prélèvement des PBMC, les sujets porteurs d'une mutation (muté) avec le gène concerné (GENE), les sujets avec antécédent familial de MP (fam), les cas sporadiques (spo) et les témoins (tem).

(2)

| NOM | SEXE | AGE | GENE | FORME |
|---|---|---|---|---|
| P208/01 | 1 | 65 | LRRK2 | muté |
| P213/01 | 1 | 78 | LRRK2 | muté |
| P207/01 | 1 | 60 | LRRK2 | muté |
| P220/01 | 1 | 51 | PARKIN | muté |
| P228/01 | 1 | 57 | PARKIN | muté |
| P19/18 | 1 | 76 | SCA2 | muté |
| P20/03 | 1 | 70 | | fam |
| P34/01 | 1 | 63 | | fam |
| P248/01 | 1 | 67 | | fam |
| S018 | 1 | 60 | | spo |
| S007 | 1 | 73 | | spo |
| S012 | 1 | 60 | | spo |
| S008 | 1 | 72 | | spo |
| S016 | 1 | 56 | | spo |
| S001 | 1 | 48 | | spo |
| P244/01 | 1 | 66 | | spo |
| P250/01 | 1 | 55 | | spo |
| S004 | 1 | 64 | | spo |
| BFW44 | 1 | 75 | | Tem |
| BFW19/14 | 1 | 79 | | Tem |
| BFW59/10 | 1 | 48 | | Tem |
| P30/18T | 1 | 42 | | Tem |
| P12/11T2 | 1 | 49 | | Tem |
| BFW30/18 | 1 | 41 | | Tem |
| P30/11T4 | 1 | 60 | | Tem |

(3)

| NOM | SEXE | AGE | GENE | FORME |
|---|---|---|---|---|
| P12/07 | 2 | 72 | LRRK2 | muté |
| P12/06 | 2 | 64 | LRRK2 | muté |
| P212/01 | 2 | 84 | LRRK2 | muté |
| P218/01 | 2 | 65 | LRRK2 | muté |
| P30/05 | 2 | 54 | EIF4G1 | muté |
| P23/02 | 2 | 77 | PARKIN | muté |
| P107/01 | 2 | 73 | SCA2 | muté |
| P59/04 | 2 | 53 | SNCA | muté |
| S020 | 2 | 61 | | spo |
| S005 | 2 | 51 | | spo |
| S010 | 2 | 76 | | spo |
| S011 | 2 | 69 | | spo |
| S017 | 2 | 67 | | spo |
| S019 | 2 | 55 | | spo |
| S006 | 2 | 68 | | spo |
| S013 | 2 | 59 | | spo |
| S015 | 2 | 57 | | spo |
| P20/02T1 | 2 | 72 | | Tem |
| BFW2 | 2 | 80 | | Tem |
| P12/06T | 2 | 65 | | Tem |
| P30/07T | 2 | 55 | | Tem |
| P30/23T | 2 | 50 | | Tem |
| P431/11 | 2 | 49 | | Tem |
| BFWnd139 | 2 | 50 | | Tem |
| P30/13T | 2 | 63 | | Tem |
| P01/03 | 2 | 73 | | Tem |
| BFWsal431/009 | 2 | 54 | | Tem |

2.2. Listes de gènes dérégulés (Genespring GX®)

Le Logiciel Genespring GX® permet l'analyse des données selon le niveau d'expression et les différences d'expression (Fold Change-FC) entre deux groupes de sujets. Nous avons ainsi pu générer les listes de gènes significativement dérégulés (avec un t-test de Welch pour $p<0,05$ et un FC d'au moins 1,2) :

- Afin d'étudier le « facteur maladie » entre :
  - L'ensemble des sujets parkinsoniens (sporadiques, mutés et familiaux - **allPD**) versus (vs) l'ensemble des témoins (**allN**).
  - L'ensemble des sujets parkinsoniens sporadiques **(allSP)** vs l'ensemble des témoins (**allN**).
  - Les hommes parkinsoniens sporadiques (**hSP**) vs les témoins hommes (**hN**).
  - Les femmes parkinsoniennes sporadiques **(fSP)** vs les témoins femmes (**fN**).

- Afin d'étudier le « facteur sexe » entre :
  - Les hommes parkinsoniens sporadiques (**hSP**) vs les femmes parkinsoniennes sporadiques (**fSP**).
  - Les témoins hommes (**hN**) vs les témoins femmes (**fN**).

2.3. Analyse des données par le logiciel Ingenuity® Pathway Analysis (IPA)

La liste des sondes significativement dérégulées et la valeur d'expression correspondante ont été soumises au logiciel Ingenuity® Pathway Analysis (IPA, Ingenuity® Systems, www.ingenuity.com). Les sondes sont reconnues et associées à leur gène correspondant grâce à Ingenuity® Pathways Knowledge Base.

Ensuite, le logiciel identifie les voies canoniques significativement présentes dans la liste des sondes. Ces voies canoniques sont créées par IPA et correspondent à des processus cellulaires et métaboliques. Un test de Fisher exact calcule une valeur de p, s'il est inférieur à 0,05, l'association entre les gènes de la liste et ceux de la voie canonique ne peut pas être expliquée par la chance.

# Résultats

## 1. Sexe ratio

Notre recrutement ayant pour objectif de volontairement inclure un nombre équivalent d'hommes et de femmes parkinsoniens, nous n'avons donc pas de données concernant le sexe ratio sur cette population totale. En revanche, le CHRU de Lille collecte de façon systématique les données cliniques des patients suivis en consultation ou en hospitalisation pour une MP (Screenix®, database G4 groupe parkinson). Cette database comprend actuellement 650 hommes et 485 femmes soit un sexe ratio de 1,34**. De plus, le sexe ratio des cohortes PARADIGME/CONVERGENCE est de 1,6 en défaveur des hommes alors qu'il y a autant d'hommes et des femmes dans la population PARKFANORD**, qui ne comprend que des sujets parkinsoniens avec antécédents familiaux et/ou porteurs d'une mutation délétère.

## 2. Description de la population totale de notre étude

Parmi les 857 parkinsoniens (383 hommes et 474 femmes), on retrouve 493 cas sporadiques (270 femmes et 223 hommes) et 364 cas avec antécédent familial de MP et/ou porteurs d'une mutation pathogène (204 femmes et 160 hommes). L'âge moyen à l'inclusion est de 63,01 ans chez les témoins hommes et de 63,46 ans chez les parkinsoniens hommes (p=0,74). Chez les femmes, les témoins sont plus jeunes à l'inclusion (58,98 ans) que les malades parkinsoniennes (66,05 ans) (p<0,0001).

## 3. Facteurs environnementaux

### 3.1. Etude des facteurs environnementaux selon le sexe

Les données concernant les facteurs environnementaux, les prises de traitements et les facteurs de risque vasculaire dans les deux comparaisons prenant en compte le sexe (témoin hommes vs témoins femmes, hommes vs femmes parkinsoniennes) sont indiquées dans le tableau 4. **Les hommes sont plus exposés que les femmes au tabagisme, et aux pesticides aussi bien dans les groupes témoins et parkinsoniens**. Les femmes consomment quant à elles plus de thé que les hommes chez les malades et non malades. En revanche, **il y a plus de consommateurs de café et de diabétiques chez les hommes parkinsoniens par rapport aux femmes ce qui n'est pas retrouvé dans la comparaison entre témoins.** A l'inverse, les hommes témoins ont plus d'hypercholestérolémie que les femmes mais cette différence n'est pas retrouvée chez les parkinsoniens. Enfin, les hommes, malades ou non, ont un IMC plus élevé que les femmes.

*Tableau 4*. Résultats des comparaisons statistiques concernant les facteurs environnementaux et les facteurs de risque potentiels de la MP entre les témoins hommes (TemH) et femmes (TemF), et entre les parkinsoniens hommes (ParkH) et femmes (ParkF). Pourcentage de fumeurs (Tabac), de consommateurs de thé (Thé), de café (Café), de sujets exposés aux pesticides (Pesticides), de diabétiques (Diabète), d'hypertendus (HTA) et d'hypercholestérolémie (Hyperchol). PA : consommation moyenne de tabac en paquets années. Prise d'un traitement hypocholestérolémiant (hypochol) et d'aspirine (Aspirine). IMC : moyenne de l'indice de masse corporelle. En gras et souligné, les différences statistiquement significatives ($p<0,05$). Entre parenthèses sont indiqués les effectifs.

| | **TemH** | **TemF** | **Valeur de p** | **ParkH** | **ParkF** | **Valeur de p** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tabac** | **58,33** (42/72) | **18,40** (23/125) | **<0,0001** | **63** (172/273) | **7,71** (28/363) | **<0,0001** |
| **PA** | **12,58** | **3,64** | **<0,0001** | **6,72** | **2** | **<0,0001** |
| **Thé** | **29,17** (21/72) | **54,40** (68/125) | **0,0006** | **20,22** (55/272) | **45,18** (164/363) | **<0,001** |
| **Café** | 88,89 (64/72) | 89,60 (112/125) | 0,88 | **84,93** (231/272) | **76,31** (277/363) | **0,0072** |
| **Pesticides** | **36,11** (26/72) | **16** (20/125) | **0,0013** | **45,59** (124/272) | **25,14** (91/361) | **<0,0001** |
| **Diabète** | 9,72 (7/72) | 4 (5/125) | 0,11 | **11,24** (30/267) | **6,09** (22/361) | **0,021** |
| **HTA** | 33,33 (24/72) | 23,20 (29/125) | 0,12 | 27,51 (74/260) | 32,41 (117/361) | 0,19 |
| **Hyperchol** | 36,11 (26/72) | 29,60 (37/125) | 0,35 | 28,52 (77/270) | 26,97 (96/356) | 0,27 |
| **Hypochol** | **27,78** (20/72) | **15,20** (19/125) | **0,033** | 21,56 (58/269) | 21,17 (76/359) | 0,91 |
| **Aspirine** | **23,61** (17/72) | **9,60** (12/125) | **0,0075** | 19,78 (54/273) | 14,60 (53/363) | 0,084 |
| **IMC** | **26,23** (71) | **24,05** (124) | **<0,0001** | **26,16** (255) | **25,78** (342) | **0,046** |

### 3.2. Etude des facteurs environnementaux selon la maladie

Les données concernant les facteurs environnementaux, les prises de traitements et les facteurs de risque potentiels de la MP dans les trois comparaisons prenant en compte le facteur maladie (ensemble des parkinsoniens vs ensemble des témoins, hommes parkinsoniens vs hommes témoins, femmes parkinsoniennes vs femmes témoins) sont montrées dans le tableau 5.

On retrouve des facteurs d'expositions délétères (pesticides) et protecteurs (tabac, café) pour la MP dans la comparaison entre l'ensemble des malades par rapport à l'ensemble des témoins. Si l'on regarde ces même facteurs d'exposition dans les comparaisons malades-témoins selon le sexe, on constate que **l'effet délétère des pesticides ou le potentiel rôle protecteur de la consommation de café sont uniquement retrouvés chez les femmes parkinsoniennes**. Concernant le tabac, les « ever smockers » sont plus fréquentes que les « never smockers » chez les témoins femmes par rapport aux malades, ce qui n'est pas retrouvé chez les hommes. En revanche la **consommation de tabac en paquets années est plus importante chez les témoins par rapport aux parkinsoniens quel que soit le sexe**.

Par ailleurs, il n'y a pas de différence significative concernant les facteurs de risque vasculaire (HTA, diabète, hypercholestérolémie) entre les malades et les témoins hormis l'IMC qui est plus élevé chez les femmes parkinsoniennes.

Enfin, le pourcentage de sujets ayant pris un traitement hypocholestérolémiant ou de l'Aspirine est similaire dans les groupes parkinsoniens et témoins, à la fois chez les hommes et les femmes.

*Tableau 5*. Résultats des comparaisons statistiques concernant les facteurs environnementaux et les facteurs de risque potentiels de la MP entre l'ensemble des témoins (Tem) et l'ensemble des parkinsoniens (Park), les témoins hommes (TemH) et les parkinsoniens hommes (ParkH), les témoins femmes (TemF) et les femmes parkinsoniennes (ParkF). Pourcentage de fumeurs (Tabac), de consommateurs de thé (Thé), de café (Café), de sujets exposés aux pesticides (Pesticides), de diabétiques (Diabète), d'hypertendus (HTA) et d'hypercholestérolémie (Hyperchol). PA : consommation moyenne de tabac en paquets années. Prise d'un traitement hypocholestérolémiant (hypochol) et d'aspirine (Aspirine). IMC : moyenne de l'indice de masse corporelle. En gras et souligné, les différences statistiquement significatives ($p<0,05$). Entre parenthèses sont indiqués les effectifs.

| | **Park** | **Tem** | **Valeur de p** | **ParkH** | **TemH** | **Valeur de p** | **ParkF** | **TemF** | **Valeur de p** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tabac (%)** | 31,45 (200/636) | 32,99 (65/197) | 0,68 | 63 (172/273) | 58,33 (42/72) | 0,47 | **7,71** (28/363) | **18,40** (23/125) | **0,0008** |
| **PA** | **4,11** | **6,91** | **0,002** | **6,72** | **12,58** | **<0,0001** | **2** | **3,64** | **0,02** |
| **Thé (%)** | 34,49 (219/635) | 45,18 (89/197) | 0,066 | 20,22 (55/272) | 29,17 (21/72) | 0,1 | 45,18 (164/363) | 54,40 (68/125) | 0,075 |
| **Café (%)** | **80** (508/635) | **89,34** (176/197) | **0,0027** | 84,93 (231/272) | 89,89 (64/72) | 0,39 | **76,31** (277/363) | **89,60** (112)125) | **0,0014** |
| **Pesticides (%)** | **33,91** (215/634) | **23,35** (46/197) | **0,0053** | 45,59 (124/272) | 36,11 (26/72) | 0,15 | **25,14** (91/362) | **16** (20/125) | **0,036** |
| **Diabète (%)** | 8,28 (52/628) | 6,09 (12/197) | 0,32 | 11,24 (30/267) | 9,72 (7/72) | 0,71 | 6,09 (22/361) | 4 (5/125) | 0,38 |
| **HTA (%)** | 30,32 (191/630) | 26,90 (53/197) | 0,36 | 27,51 (74/260) | 33,33 (24/72) | 0,33 | 32,41 (117/361) | 23,20 (29/125) | 0,053 |
| **Hyperchol (%)** | 27,64 (173/626) | 31,98 (63/197) | 0,24 | 28,52 (77/270) | 36,11 (26/72) | 0,21 | 26,97 (96/356) | 29,60 (37/125) | 0,57 |
| **Hypochol (%)** | 21,34 (134/628) | 19,8 (39/197) | 0,64 | 21,56 (58/269) | 27,78 (20/72) | 0,26 | 21,17 (76/359) | 15,20 (19/125) | 0,15 |
| **Aspirine (%)** | 16,82 (107/636) | 14,72 (29/197) | 0,24 | 19,78 (54/273) | 23,61 (17/72) | 0,47 | 14,6 (53/363) | 9,6 (12/125) | 0,16 |
| **IMC** | **25,94** (597) | **24,85** (195) | **0,024** | 26,16 (255) | 26,23 (71) | 0,7 | **25,78** (342) | **24,05** (124) | **0,015** |

## 4. Caractéristiques de la maladie entre hommes et femmes parkinsoniens

Les caractéristiques de la MP étudiées comprennent l'âge de début, l'âge au diagnostic, le délai diagnostique, le premier signe moteur de la maladie, les complications motrices (fluctuations et dyskinésies), la stimulation des noyaux subthalamiques et l'équivalence en L-Dopa du traitement antiparkinsonien. Ces critères ont été étudiés en prenant en compte l'ensemble des sujets parkinsoniens (hommes versus femmes) puis uniquement les cas sporadiques et enfin uniquement les cas familiaux et/ou mutés. Pour certains critères de jugement, ces analyses ont été réalisées sans puis avec ajustement sur les facteurs environnementaux significatifs étudiés ci-dessus.

### 4.1. Age de début, âge au diagnostic et délai diagnostique

L'âge de début de la maladie, qui correspond à l'âge d'apparition des premiers symptômes moteurs, est chez l'ensemble des femmes de 55,56 ± 11,40 ans et chez les hommes de 54,47 ± 11,97 ans. Cette différence d'environ 1 an n'est pas statistiquement significative (p=0,15). Un écart de quelques mois non significatif est également retrouvé dans la population des cas familiaux ou porteurs de mutations (55,69 ± 12,8 ans chez les femmes, 56,21 ±13,03 ans chez les hommes, p=0,83). **En revanche, l'âge de début est significativement plus tardif chez les femmes parkinsoniennes sporadiques par rapport aux hommes avec un écart de plus de 2 ans (55,47 ± 10,24 ans contre 53,23 ± 11,02 ans, p=0,022) (figure 5). Cette différence est également retrouvée concernant l'âge au diagnostic dans la population sporadique qui est de 56,53 ± 10,02 ans chez les femmes et de 54,36 ± 10,73 ans chez les hommes (p=0,022).** Avec ajustement sur les facteurs environnementaux cette différence est à la limite de la significativité pour l'âge de début (p=0,056) et l'âge du diagnostic (p=0,058).

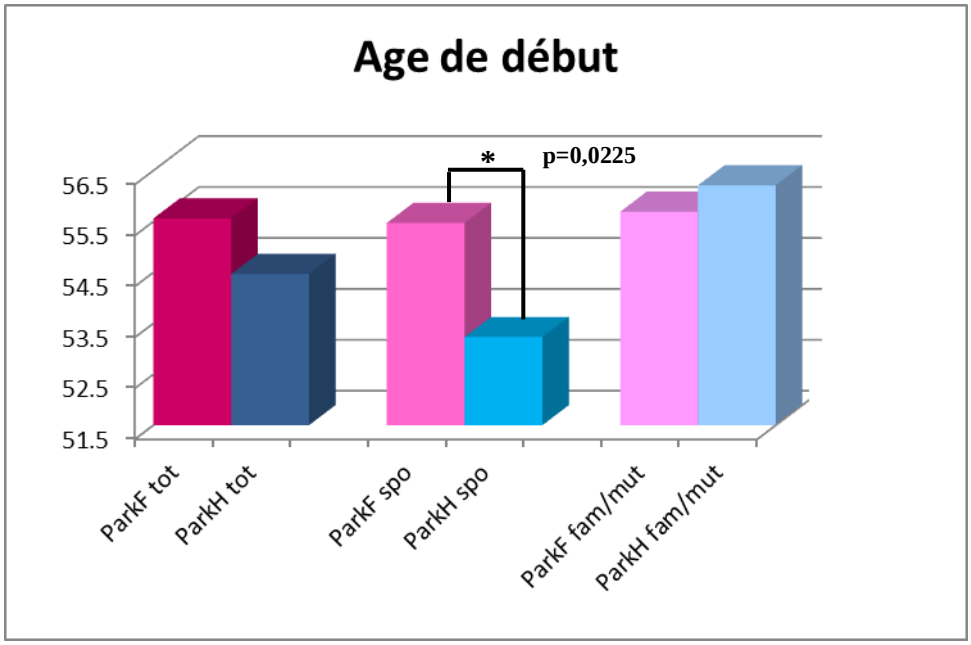



*Figure 5* . Age de début de la MP selon le sexe (ParkF : femmes parkinsoniennes, ParkH : hommes parkinsoniens) dans la population totale (tot), la population des cas sporadiques (spo) et la population des cas familiaux et/ou porteurs de mutation délétère (fam/mut).

**Le délai diagnostique est plus court chez les femmes dans le groupe comprenant l'ensemble des parkinsoniens (1,04 ± 1,87 ans vs 1,13 ± 1,58 ans, p=0,029) et dans le groupe sporadique (0,91 ± 1,80 ans vs 1,08 ± 1,64 ans, p=0,036)** mais pas dans la population des cas familiaux et/ou mutés (1,23 ± 1,95 ans vs 1,21 ± 1,49 ans, p=0,32).

### 4.2. Premier signe moteur

La proportion de tremblement comme premier signe moteur de la maladie est strictement équivalente entre les hommes et les femmes dans la population totale des parkinsoniens (57,91% dans les deux groupes). Les maladies à début tremblant sont plus fréquentes chez les femmes (60,38%) par rapport aux hommes (52,8%) dans le groupe sporadique et ce rapport s'inverse dans la population des cas familiaux/mutés (54,68% chez les femmes, 64,78% chez les hommes) mais ces différences sont à la limite de la significativité (p respectivement à 0,096 et 0,053).

4.3. Evolution et complications de la MP

Il n'y a pas de différence significative entre femmes et hommes atteints de la MP concernant le délai d'introduction de la L-DOPA et le délai d'apparition des fluctuations motrices, et ce quelle que soit la population étudiée sans ou avec ajustement sur les facteurs de confusion. Le délai d'apparition des dyskinésies a tendance à être plus long dans le groupe sporadique chez les femmes (4,81 ± 3,59 ans) par rapport aux hommes (3 ± 2,09 ans) (p=0,059). **Avec ajustement sur les facteurs de confusion, ce délai d'apparition des dyskinésies est significativement plus long chez les femmes sporadiques par rapport aux hommes (p=0,044).**

4.4. Stimulation cérébrale profonde des noyaux sub-thalamiques

**Le recours à la stimulation cérébrale profonde est plus fréquent chez les hommes parkinsoniens sporadiques par rapport aux femmes (20,63% vs 13,7 %, p= 0,041).** Cette différence n'est pas retrouvée dans la population totale des parkinsoniens (15,40 % chez les hommes, 12,45% chez les femmes, p=0,21) et dans la population des cas familiaux/mutés (8,13% chez les hommes, 10,78 % chez les femmes, p=0,39). Le nombre d'années entre le début de la maladie et la neurostimulation n'est pas statistiquement différent entre les hommes et femmes parkinsoniens (12,35 ± 3,97 ans vs 13,74 ± 4,44 ans, p=0,76).

4.5. Equivalence L-Dopa du traitement anti-parkinsonien

L'équivalence posologique en L- Dopa du traitement des patients au moment de leur inclusion dans l'étude a été ajustée avec le nombre d'années d'évolution et sur la présence d'une stimulation cérébrale profonde (qui permet une décroissance de la posologie du traitement dopaminergique). Il n'y a pas de différence significative selon le sexe quelle que soit la population étudiée.

## 5. Caractéristiques hormonales de la femme

### 5.1. Comparaison entre les femmes parkinsoniennes et les femmes témoins

**Les femmes atteintes de MP ont en moyenne eu leurs premières règles plus tard que les témoins femmes (13,24 ± 1,46 ans vs 12,87 ± 1,59 ans) (p=0,0312).**

70,49% des témoins femmes ont pris une contraception orale contre seulement 42,38% des femmes parkinsoniennes (42,38%) (p<0,0001). Ces dernières ont débuté leur contraception plus tard que les témoins (25,77 ± 7,34 ans vs 23,49 ± 6,07 ans, p=0,013). Il n'y a en revanche pas de différence significative concernant la durée de prise de la contraception et l'âge de l'arrêt.

Les femmes atteintes de la MP ont eu en moyenne 3,11 ± 1,96 grossesses contre 2,7 ±1,84 chez les témoins (p=0,019). La durée cumulée de grossesses est de 24,66 ± 15,12 mois chez les malades contre 20,54 ± 13,32 mois chez les témoins (p=0,01). Les femmes parkinsoniennes ont eu leur première grossesse à en moyenne 23,75 ± 4,65 ans contre 25,78 ± 5,07 ans chez les non malades (p<0,0001), et leur dernière grossesse à 30,14 ± 5,54 ans contre 31,46 ± 4,86 ans (p=0,027). **Ces résultats sont à pondérer du fait de la différence d'âge à l'inclusion entre les deux groupes. En effet les femmes plus jeunes ont eu plus d'accès à la contraception et donc ont eu de ce fait vraisemblablement moins de grossesses.**

Les témoins femmes ont allaité plus fréquemment que les femmes parkinsoniennes (61,61% vs 52,17) mais cette différence n'est pas significative (p=0,082). La durée de vie fertile est également similaire entre les deux groupes (37,01 ± 4,14 ans chez les témoins vs 35,95 ± 5,45 ans chez les parkinsoniennes, p=0,253).

Il n'y a pas plus d'hystérectomie chez les malades par rapport aux témoins (22,13% vs 23,14%) et les âges d'hystérectomie sont similaires (48,85 ± 7,43 ans contre 47,12 ± 8,35

ans). On retrouve plus de femmes ménopausées dans le groupe MP ce qui est attendu car les malades sont plus âgées que les témoins. Il n'y a pas de différence significative concernant l'âge de ménopause qui est de 49,95 ± 3,85 ans chez les témoins et de 49,21 ± 5,17 ans chez les malades (p=0,45). En revanche, **on retrouve 85,06% de ménopauses naturelles chez les témoins contre 77,16% chez les femmes parkinsoniennes (p=0,032). Chez les femmes ménopausées, 60,67% des témoins ont pris un THS contre 32% chez les parkinsoniennes (p<0,0001).**

### 5.2. Influence du statut hormonal sur les caractéristiques de la MP chez les femmes

Nous avons étudié si les facteurs hormonaux cités ci dessus ont une influence sur l'âge de début et les caractéristiques cliniques de la MP au sein de la population des femmes parkinsoniennes.

#### *5.2.1. Age de début de la MP et facteurs hormonaux*

L'âge des premières règles n'est pas corrélé à l'âge des premiers symptômes de la MP (p=0,83).

**Il existe une corrélation positive faible entre le nombre de grossesse (r= 0,15, p=0,0047, n=363), la durée cumulée de grossesse (r=0,15, p=0,0038, n=363) et l'âge de début de la maladie**. Ceci n'est pas retrouvé avec l'âge de la première et de la dernière grossesse.

Les femmes parkinsoniennes qui ont allaité leurs enfants ont un âge de début plus tardif que celles qui n'ont pas allaité (55,57 ± 10,74 ans vs 53,95 ± 11,17 ans) mais cette différence n'est pas significative (p=0,16). La durée de l'allaitement (p=0,66) et la DVF (p=0,43) n'influencent pas non plus l'âge de début de la MP.

Chez les femmes ayant subi une hystérectomie avant la MP, l'âge de cette hystérectomie n'est pas corrélé avec l'âge de début de la maladie (r=0,21, p=0,082, n=68).

**Si la ménopause survient avant le début des symptômes, il existe une corrélation positive entre l'âge de la ménopause et l'âge de début de la MP (r=0,25, p=0,0001, n=227) (figure 6).**

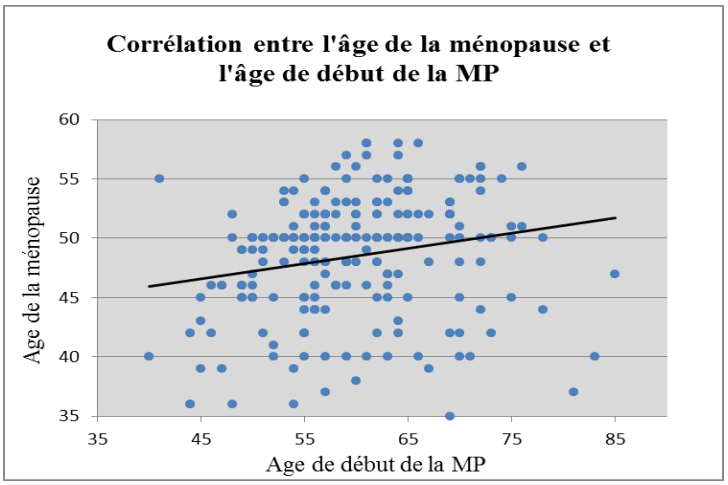



*Figure 6* . Graphique de corrélation entre l'âge de la ménopause et l'âge de début de la MP chez les femmes ménopausées avant le début des symptômes avec courbe de corrélation (r=0,15).

Nous avons étudié l'influence des traitements hormonaux (contraception orale et traitement hormonal substitutif) sur l'âge de début de la MP. Dans ce but, nous avons étudié une sous population de patientes ayant pris ces traitements dans les cinq ans maximum avant le début de la maladie**.** Ces 5 ans sont considérés comme les années où le processus de neurodégénérescence a déjà débuté avant l'apparition des premiers symptômes moteurs. **Ainsi, il existe une corrélation positive entre l'âge de début de la MP et l'âge de début de prise de la contraception (r=0,64, p=0,0005, n=25) et l'âge d'arrêt de la contraception (r=0,75, p<0,0001, n=24) (figure 7)** mais pas avec la durée de prise (r=0,11, p=0,58, n=25). De même, il n'y a pas de corrélation entre la prise de THS et l'âge de début de la MP (r=0,24, p=0,097, n=48).

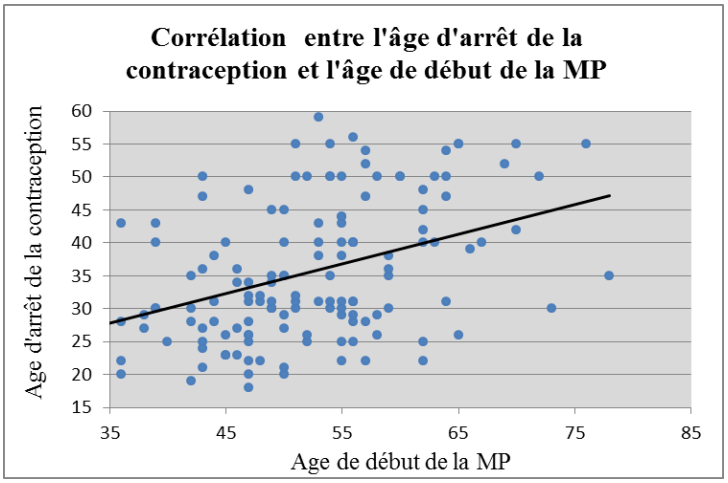



*Figure 7*. Graphique de corrélation entre l'âge d'arrêt de la contraception et l'âge de début de la MP avec courbe de corrélation (r=0,75).

### *5.2.2. Evolution et complications de la MP*

Nous avons étudié si les facteurs hormonaux pouvaient modifier le délai d'introduction de la L-Dopa, le délai d'apparition des complications motrices et l'équivalence posologique en L-Dopa du traitement anti-parkinsonien.

**De façon intéressante, l'âge de début de la contraception est corrélé de façon négative avec le délai d'introduction de la L-Dopa (r= - 0,2, p=0,03, n=121), et de façon positive avec le délai d'apparition des fluctuations motrices (r=0,34, p=0,0038, n=69), des dyskinésies (r=0,33, p=0,015, n=52) et de façon globale avec le délai des complications motrices (r=0,38, p=0,0001, n=100).**

**Le délai d'introduction de la L-Dopa est plus court si la patiente a eu sa ménopause avant le début de la MP (2,68 ± 2,8 ans, n=204) que si elle a été ménopausée après le début de la MP (3,67 ± 3,49 ans, n=76). La même relation est retrouvée si la femme a eu une hystérectomie avant ou après le début de la MP avec un délai d'introduction de la L-Dopa respectivement de 2,72 ± 2,9 ans (n=54) contre 6,46 ± 5,3 ans (n=13) (p=0,019).**

**Cet écart est plus important si on ne prend en compte que l'hystérectomie avec ovariectomie (3,05 ±3,43 ans vs 7,8 ± 5,31 ans, p=0,01). Par ailleurs on retrouve une corrélation négative entre l'âge de l'hystérectomie (avant ou sans ovariectomie) et le délai d'apparition des dyskinésies (r=-0,46, p=0,018, n=26).**

En revanche, l'allaitement, la prise de THS, le nombre et la durée cumulée de grossesses n'influencent pas le délai d'introduction de la L-Dopa ou le délai d'apparition des complications motrices.

## 6. Données biologiques

Certaines analyses des données biologiques ont nécessité un ajustement avec des facteurs qui pouvaient modifier le dosage. Ainsi, les taux de cholestérol total, HDL cholestérol et triglycérides ont été ajustés selon la prise d'hypocholestérolémiant au moment de l'inclusion. La glycémie et l'hémoglobine glyquée ont été ajustées avec la présence ou non d'un diabète. Les valeurs avec ajustement sont indiquées par une étoile.

### 6.1. Etude des données biologiques selon le sexe

Les comparaisons des dosages biologiques entre les témoins hommes et femmes et entre les parkinsoniens hommes et femmes sont indiqués dans le tableau 6. Chez la femme, qu'elle soit témoin ou parkinsonienne, le HDL cholestérol est plus élevé et l'hémoglobine ainsi que la ferritine sont plus basses que chez l'homme. En revanche, **les femmes parkinsoniennes ont un cholestérol total et une CTF plus élevés que les hommes ce qui n'est pas retrouvé chez les témoins. A l'inverse, les femmes témoins ont un dosage des folates sériques plus élevé et un dosage de l'homocystéine et des triglycérides plus bas que les hommes témoins, alors qu'il n'y a pas de différence entre les malades hommes et femmes.**

*Tableau 6*. Résultats des comparaisons des données biologiques entre les témoins femmes et hommes, et entre les parkinsoniens femmes et hommes. Moyenne (Moy), écart type (ET), nombre de sujets (N). Cholestérol total (Chol tot), HDL cholestérol (HDL), triglycérides (TG), Glycémie (gly), hémoglobine glyquée (HbA1c), ferritine, Coefficient de saturation de la sidérophiline (CSS), transferrine (transf), capacité totale de fixation (CTF), folates sériques (folates), vitamine B12 (vitB12), fer sérique (fer), Hémoglobine (Hg), volume globulaire moyen (VGM), homocystéine (homocys). En gras et souligné, les différences statistiquement significatives (p<0,05).

| | **TemH** | | **TemF** | | | **ParkH** | | **ParkF** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | Moy ± ET | N | Moy ± ET | Valeur de p | N | Moy ± ET | N | Moy ± ET | Valeur de p |
| **Chol tot (g/l)** | 70 | 2,07 ± 0,37 | 120 | 2,14 ± 0,39 | 0,19* | **257** | **1,98 ± 0,36** | **181** | **2,19 ± 0,4** | **<0,0001*** |
| **HDL (g/l)** | **70** | **0,57 ± 0,16** | **120** | **0,73 ± 0,22** | **<0,0001*** | **257** | **0,58 ± 0,16** | **180** | **0,68 ± 0,2** | **<0,0001*** |
| **TG (g/l)** | **70** | **1,22 ± 1,13** | **120** | **0,84 ± 0,46** | **0,0013*** | 257 | 0,93 ± 0,47 | 181 | 0,98 ± 0,53 | 0,25* |
| **Gly (g/l)** | 72 | 0,97 ± 0,18 | 121 | 0,91 ± 0,14 | 0,06* | 260 | 0,99 ± 0,26 | 188 | 0,96 ± 0,17 | 0,1* |
| **HBA1c (%)** | 69 | 5,82 ± 0,57 | 117 | 5,79 ± 0,64 | 0,92* | 49 | 5,64 ± 0,5 | 40 | 5,59 ± 0,63 | 0,6* |
| **ferritine** | **71** | **125,2 ± 134** | **121** | **74,62 ± 65,91** | **0,0009** | **51** | **149,5 ± 110,7** | **38** | **59,63 ± 46,37** | **<0,0001** |
| **CSS** | 70 | 27,53 ± 9,75 | 119 | 26,55 ± 9,47 | 0,29 | 50 | 27,82 ± 8,92 | 39 | 24,44 ± 10,54 | 0,16 |
| **Transf (mg/ml)** | 71 | 3,61 ± 4,84 | 119 | 3,17 ± 2,48 | 0,3 | 51 | 3,27 ± 2,84 | 39 | 3,15 ± 1,88 | 0,07 |
| **CTF** | 70 | 392,4 ± 60,2 | 119 | 382,7 ± 56,62 | 0,27 | **51** | **356,1 ± 63,2** | **39** | **403,7 ± 74,23** | **0,0087** |
| **Folates (ng/ml)** | **71** | **6,63 ± 3** | **119** | **7,38 ± 3,23** | **0,034** | 256 | 5,65 ± 2,74 | 178 | 6,15 ± 3,48 | 0,5 |
| **vitB12** | 71 | 0,33 ± 0,15 | 119 | 0,37 ± 0,19 | 0,053 | 254 | 0,32 ± 0,2 | 175 | 0,34 ± 0,23 | 0,74 |
| **Fer** | 70 | 106 ± 36,3 | 119 | 98,69 ± 33,6 | 0,11 | 51 | 96,75 ± 29,75 | 39 | 95,97 ± 36,27 | 0,8 |
| **Hg (g/dl)** | **69** | **15,3 ± 1,08** | **121** | **13,79 ± 0,96** | **<0,0001** | **51** | **14,69 ±1,43** | **52** | **13,21 ± 1,13** | **<0,0001** |
| **VGM** | 69 | 89,26 ± 3,75 | 121 | 88,87 ± 4,77 | 0,89 | 51 | 88,69 ± 3,75 | 52 | 87,84 ± 9,56 | 0,63 |
| **Homocys (µmol/l)** | **68** | **13,7 ± 3,66** | **112** | **11,62 ± 6,85** | **<0,0001** | 252 | 14,75 ± 5,87 | 174 | 15,11 ± 11,98 | 0,19 |

6.2. Etude des données biologiques selon la maladie

L'ensemble des dosages sont indiqués dans le tableau précédent. Nous avons réalisé une nouvelle analyse en comparant cette fois-ci les femmes parkinsoniennes vs les femmes témoins, et les hommes parkinsoniens vs les hommes témoins.

Il n'existe pas de différence significative du dosage du cholestérol total et du HDL cholestérol entre les femmes malades et les témoins (p=0,32*, p=0,96*) ou entre les hommes malades et les témoins (p=0,054*, p=0,9*). **En revanche, les hommes témoins ont un dosage des triglycérides plus élevé que les parkinsoniens (p=0,0011*) contrairement aux femmes où les malades ont un taux plus élevé (p=0,0019*).**

**On retrouve une différence significative concernant la glycémie qui est plus élevé chez les femmes parkinsoniennes (p=0,0017*).** Cette différence n'est pas retrouvée chez les hommes (p=0,5*). Le dosage de l'HbA1c est similaire entre malades et témoins que ce soit chez les hommes (p=0,057*) ou chez les femmes (p=0,07*).

**Les femmes atteintes d'une MP ont des dosages en vitamine B12 (p=0,0071) et en folates sériques (p=<0,0001) et érythrocytaires (p=0,0234) plus bas que les témoins. De façon similaire aux femmes, les hommes parkinsoniens ont également une carence en folates sériques (p=0,0028) et érythrocytaires (p=0,0114)** mais pas en vitamine B12. On retrouve **une hypermocystéinémie franche chez les femmes parkinsoniennes à 15,11 ± 11,78 vs 11,62 ± 6,85 (p<0,0001) chez les témoins**, qui n'est pas retrouvée chez les hommes.

**Les hommes et les femmes parkinsoniens ont un taux d'hémoglobine plus basse que leurs témoins respectifs (p= 0,0089, p=0,0021).**

On ne retrouve pas de différence significative chez les femmes concernant la ferritine, le fer sérique, la transferrine, la capacité totale de fixation, et le VGM. En revanche, **la transferrine**

**(p=0,0407) et la capacité totale de fixation (p=0,0041) sont toutes les deux diminuées chez les hommes parkinsoniens. A noter que les effectifs sont faibles pour l'ensemble de ces analyses.**

La durée de vie fertile est la période pendant laquelle la femme a ses cycles menstruels avec donc une perte sanguine régulière. Nous avons donc voulu savoir si la DVF modifiait les dosages de l'hémoglobine, du VGM, de la ferritine, de la transferrine, du coefficient de saturation de la sidérophiline et de la capacité totale de fixation de la transferrine et du fer sérique.

**De façon intéressante, chez les femmes ménopausées, la DVF n'est corrélé à aucun de ces facteurs chez les femmes témoins alors qu'il existe une corrélation positive de la DVF avec le VGM (r=0,3, p=0,0045, n=43), la transferrine (r=0,37, p=0,036, n=33) (figure 8) et la CTF (r=0,36, p=0,0037, n=33) chez les femmes parkinsoniennes.**

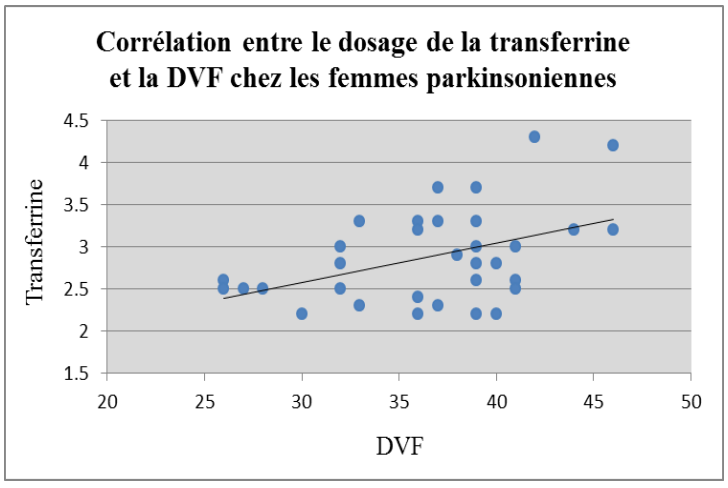



*Figure 8.* Graphique de corrélation entre le dosage de la transferrine (mg/ml) et la durée de vie fertile (en années) chez les femmes parkinsoniennes avec courbe de corrélation (r=0,37).

## 7. Etude transcriptomique

Devant les différences phénotypiques et biologiques entre les malades selon leur sexe, on peut penser que ces différences sont le reflet de dérèglements cellulaires dont certains pourraient être sexe dépendant. On peut alors se demander si les hommes sains ont déjà des dérégulations de certaines voies métaboliques par rapport aux femmes, ce qui les rendrait d'autant plus vulnérables en cas de MP. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons donc étudié les dérégulations de l'expression génique dans les PBMC, à la fois chez les malades par rapport aux témoins et également entre hommes et femmes parkinsoniens ou témoins. Nous avons considéré comme dérégulés les gènes dont le FC est inférieur à -1,2 (sous-expression) ou supérieur à 1,2 (sur-expression) et une valeur de $p < 0,05$ (test de Welch). Nous avons tout d'abord soumis ces listes au logiciel IPA® afin d'analyser les voies métaboliques (ou voies canoniques) dans lesquelles sont impliqués ces gènes. Cependant, une même voie canonique dérégulée peut être retrouvée dans deux analyses différentes, mais les gènes inclus peuvent être différents. Afin de rechercher des anomalies liées à la maladie ou au sexe, nous avons donc aussi déterminé les gènes communs ou au contraire spécifiques aux différentes analyses.

### 7.1. Dérégulations communes ou sexe spécifiques de l'expression génique et des voies canoniques dans la MP.

#### *7.1.1. Voies canoniques dérégulées chez les parkinsoniens sans distinction de sexe*

La première étape de notre étude a été d'analyser les voies canoniques dérégulées dans la MP sans distinction de sexe, afin de s'assurer que l'on retrouve bien chez nos sujets parkinsoniens, une implication de voies connues pour leur pathogénie dans la MP.

Pour cette analyse nous avons tout d'abord inclus l'ensemble des sujets atteints de MP avec à la fois les cas sporadiques, les cas avec antécédents familiaux et les sujets porteurs de mutations (allPDvsallN). Cette comparaison inclut donc 35 malades (18 hommes et 17 femmes) versus 17 témoins (7 hommes et 10 femmes) avec des moyennes d'âge respectivement de 65 ± 9,5 et 61,1 ± 11,1 ans (p=0,11).

Parmi les 2653 sondes dérégulées, 1930 gènes ont été reconnus par la base bibliographique d'IPA® (72,7%). L'analyse des voies canoniques a identifié 35 voies dérégulées (annexe 3) parmi lesquelles **des voies impliquées dans le cycle cellulaire, la survie cellulaire, l'inflammation, le stress oxydant et le cytosquelette, mécanismes connus pour être des éléments clés de la pathogénie de la MP**.

Devant la différence d'âge de début de la maladie entre les femmes et les hommes parkinsoniens uniquement retrouvée dans les groupes sporadiques lors de notre étude épidémiologique, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la population des parkinsoniens sporadiques (et ceci pour l'ensemble des analyses ultérieures). Leur étude permet de s'intéresser à des dérégulations communes non influencées par des mutations génétiques délétères ou par des « terrains » génétiques familiaux plus importants.

Cette analyse inclut 9 hommes et 9 femmes parkinsoniens sporadiques (âge moyen 62,55 ± 7,97 ans) et 7 hommes et 10 femmes témoins (âge moyen 61,1 ± 11,1 ans) (p=0,34) (allSPvsallN).

Sur les 3320 sondes dérégulées, 2301 gènes ont été reconnus par la base bibliographique d'IPA® (69,3 %). 51 % des gènes sont sous-exprimés et 49 % sont sur-exprimés. L'ensemble des voies canoniques dérégulées après analyse de ces gènes par IPA® sont indiqués tableau 7.

*Tableau 7*. Voies canoniques dérégulées identifiées par le logiciel IPA® chez les sujets parkinsoniens sporadiques (allSPvsallN). p : valeur de p (test de Fisher exact).

| Voies canoniques | p |
|---|---|
| Cycle cellulaire: G2/M point de contrôle des lésions de l'ADN | 0,0012 |
| Signalisation du diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of Young) | 0,0012 |
| Signalisation de l'endocytose médiée par les cavéoles | 0,0037 |
| Signalisation du PEDF | 0,05 |
| Pathologie respiratoire de type broncho-pneumopathie obstructive chronique | 0,0055 |
| Signalisation de l'hypoxie dans le système cardiovasculaire | 0,0063 |
| Signalisation des récepteurs aux glucocorticoïdes | 0,0065 |
| Assemblage du complexe de l'ARN polymerase I | 0,0091 |
| Biosynthèse de la spermine | 0,011 |
| Signalisation du cancer pulmonaire à petites cellules | 0,012 |
| Signalisation de la méthylation de l'ADN et l'inhibition de la transcription | 0,013 |
| Signalisation d'EIF2 | 0,013 |
| Phagocytose dans les macrophages et les monocytes médiée par le recepteur Fcγ | 0,013 |
| Signalisation de l'adhérence et de la jonction épithéliale | 0,014 |
| Régulation de la Dopamine-DARPP32 dans la signalisation de l'AMPc | 0,015 |
| Signalisation de RhoA | 0,015 |
| Signalisation du récepteur de l'Aryl Hydrocarbone | 0,016 |
| Signalisation de Rac | 0,017 |
| Signalisation de la guidance axonale | 0,018 |
| Rôle neuroprotecteur de THOP1 dans la maladie d'alzheimer | 0,018 |
| Entrée des virus via la voie de l'endocytose | 0,018 |
| Signalisation des récepteurs des lymphocytes T | 0,019 |
| Remodelage de l'adhérence et de la junction épithéliale | 0,019 |
| Signalisation de PI3K dans les lymphocytes B | 0,02 |
| Signalisation des récepteurs de l'ephrine | 0,02 |
| Signalisation de TGF- β | 0,021 |
| Signalisation de la phospholipase C | 0,024 |
| Signalisation de PI3K/AKT | 0,026 |
| Signalisation de ERK/MAPK | 0,028 |
| Biosynthèse de la spermidine | 0,029 |
| Biosynthèse V du 1D-myo-inositol Hexakisphosphate (à partir du Ins(1,3,4)P3) | 0,029 |
| Signalisation de l'apoptose médiée par Myc | 0,032 |
| Signalisation de la neureguline | 0,034 |
| Signalisation de TREM1 | 0,036 |
| Induction de l'apoptose par VIH1 | 0,036 |
| Signalisation médiée par April | 0,036 |
| Régulation du cancer du sein par Stathmin1 | 0,038 |
| Signalisation de la voie BMP | 0,041 |
| Signalisation Wnt/β-caténine | 0,045 |
| Signalisation des récepteurs de la Dopamine | 0,045 |
| Signalisation du facteur d'activation des lymphocytes B | 0,048 |
| Signalisation de la Tec kinase | 0,048 |
| Signalisation de la leucémie aigue myéloïde | 0,049 |

**De façon intéressante, l'analyse montre les mêmes voies dérégulées que dans l'analyse précédente mais on retrouve d'autres voies supplémentaires connues également pour leur rôle dans la maladie de Parkinson avec en particulier les voies de l'endocytose, qui joue un rôle dans le trafic vésiculaire et possiblement dans la propagation de l'alpha-synucléine, et le métabolisme de la dopamine.**

Par ailleurs, le seul gène commun entre la liste des gènes « clés » de la MP (Simunovic *et al*. 2010) et les gènes dérégulés de l'analyse allSPvsall N est **PARK7 (DJ-1) qui est sous-exprimé avec un FC à -1,232 chez les parkinsoniens sporadiques par rapport aux témoins**. Enfin, parmi les 35 gènes dérégulés communs aux études transcriptomiques à partir de PBMC de sujets parkinsoniens (Scherzer *et al*., 2007, Shehadeh *et al*., 2010), 13 sont également retrouvés dérégulés dans notre étude (tableau 8.)

*Tableau 8*. Gènes dérégulés dans notre étude chez les parkinsoniens sporadiques communs avec la liste des 35 gènes suggérés comme potentiels biomarqueurs de la MP lors des études transcriptomiques à partir de PBMC de sujets parkinsoniens (Scherzer *et al*., 2007, Shehadeh *et al*., 2010). FC représente le ratio d'expression entre malades et témoins.

| GENE | FC |
|---|---|
| ALAS2 | -12,95 |
| BCL2 | 1,95 |
| BPGM | -1,61 |
| BSG | 1,24 |
| EPB42 | -9,259 |
| FECH | -1,40 |
| IER3 | 2,09 |
| LBH | 1,31 |
| SELENBP1 | -5,88 |
| SERPINB9 | 1,48 |
| SLC4A1 | -5,29 |
| SLC6A8 | -2,42 |
| SRRM2 | 1,42 |

### *7.1.2. Voies canoniques et gènes dérégulés chez les malades sporadiques par rapport aux témoins en fonction du sexe*

Nous avons ensuite voulu savoir si les voies métaboliques dérégulées chez les parkinsoniens sporadiques différaient selon le sexe. Dans cet objectif, nous avons donc soumis à IPA® les listes de gènes dérégulés entre les malades sporadiques hommes et les témoins hommes (âge moyen 61,55 ± 8,12 ans vs 56,3 ± 15,5 ans, p=0,43) (hSPvshN) et entre les malades sporadiques femmes et les témoins femmes (âge moyen 62,55 ± 7,97 ans vs 61,1 ± 11,14 ans, p=0,57) (fSPvsfN). Dans l'analyse fSPvsfN, 1871 sondes dérégulées ont été reconnues par la base bibliographiques d'IPA® ; 42,9 % des gènes dérégulés sont sous-exprimés et 57,1% sont sur-exprimés. Ce rapport s'inverse dans l'analyse chez les hommes (hSPvshN), où parmi les 1000 sondes dérégulées reconnues par IPA®, 59,3% des gènes sont sous-exprimés et 40,7% sont sur-exprimés (figure 9).

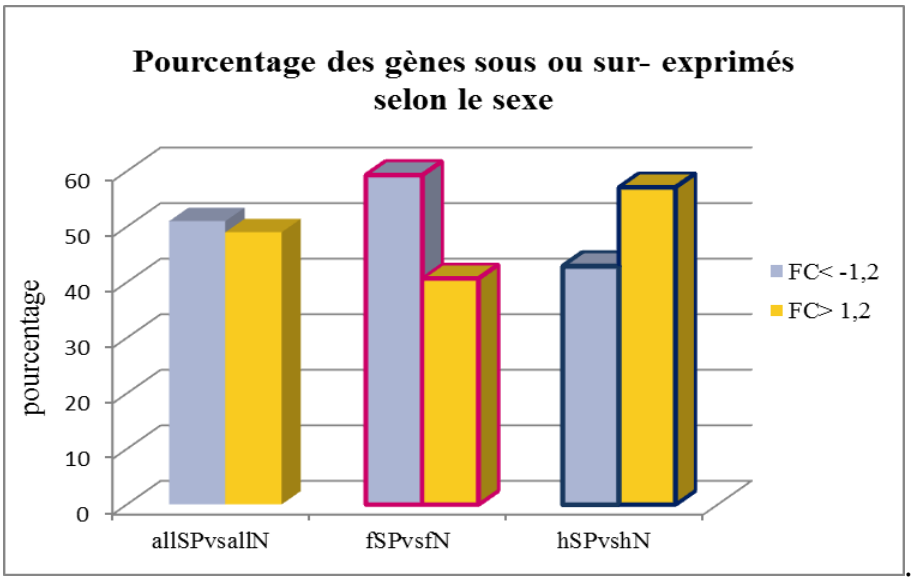



*Figure 9*. Pourcentage des gènes sous exprimés (en gris) et sur exprimés (en orange) dans les analyses allSPvsallN, fSPvsfN, hSPvshN.

L'analyse par IPA® retrouve 76 voies dérégulées chez les femmes parkinsoniennes sporadiques contre seulement 50 chez les hommes ce qui est attendu du fait d'un nombre

moins important de sondes dérégulées. Sur les 43 voies dérégulées dans l'analyse allSPvsallN, 27 sont retrouvées également dérégulées chez les femmes (fSPvsfN) (62,79%) contre 11 seulement chez les hommes (hSPvshN) (22%), et 6 sont à la fois dérégulées dans les 3 analyses (allSPvsallN, hSPvshN et fSPvsfN) (tableau 9). Ces 6 voies auraient donc un rôle central dans la pathogénie de la MP quel que soit le sexe.

*Tableau 9*. Voies canoniques dérégulées chez les parkinsoniens sporadiques à la fois chez les hommes, les femmes et dans l'ensemble de la population des parkinsoniens sporadiques.

| **Voies canoniques** |
|---|
| Signalisation du PEDF |
| Signalisation du récepteur de l'Ephrine |
| Signalisation de la phospholipase C |
| Signalisation de ERK/MAPK |
| Signalisation de la Neureguline |
| Régulation du cancer du sein par la Stathmine 1 |

Parmi les voies métaboliques dérégulées communes entre l'analyse chez les femmes et l'analyse chez l'ensemble des parkinsoniens sporadiques, on retrouve des voies impliquées dans des processus cellulaires associés à la pathogénie de la MP (stress oxydant, apoptose, cancer, cytosquelette, inflammation, dégradation protéique, EIF2, guidance axonale, cycle cellulaire et endocytose). Chez les hommes, en dehors des 6 voies citées ci-dessus, sont également dérégulées des voies impliquées dans l'apoptose et la survie cellulaire (PI3K), la phagocytose, l'endocytose et la voie de signalisation de BMP (Bone morphogenetic protein). L'ensemble des voies canoniques dérégulées des analyses fSPvsfN et hSPvshN sont indiquées en annexes 4 et 5.

Nous avons ensuite analysé les FC entre malades et témoins des gènes inclus par IPA® dans certaines de ces voies dérégulées. Nous avons considéré que la voie canonique était dérégulée

si façon positive ou négative si plus de 2/3 des gènes sont sous ou sur-exprimés. Dans le cas contraire, nous ne pouvons définir un sens de dérégulation de la voie (tableau 10).

*Tableau 10* . Principales voies canoniques d'intérêt dérégulées dans les analyses allSPvsallN, hSPvshN et fSPvsfN. Flèche bleue : plus de 2/3 des gènes de la voie sont sous-exprimés, flèche rouge : plus de 2/3 des gènes de la voie sont sur-exprimés, signe = : proportion équivalente de gènes sous et sur-exprimés. Case vide : voie non dérégulée dans l'analyse.

| Voies canoniques | allSPvsallN | hSPvshN | fSPvsfN |
|---|---|---|---|
| Signalisation de l'Ephrine | ▼ | ▼ | = |
| Signalisation de ERK/MAPK | ▼ | ▼ | = |
| Régulation du cancer du sein par Stathmine I | ▼ | ▼ | ▼ |
| Signalisation de la Neureguline | ▼ | ▼ | ▼ |
| Signalisation du PEDF | ▲ | ▼ | = |
| Phospholipase C | ▼ | ▼ | = |
| Voie de l'entrée des virus par endocytose | ▼ | ▼ | |
| Signalisation de l'endocytose médiée par les cavéoles | | | ▲ |
| Signalisation de PI3K dans les lymphocytes B | = | ▼ | |
| Signalisation de PI3K/Akt | ▼ | | = |
| Méthylation de l'ADN et inhibition de la transcription | ▲ | | ▲ |
| Guidance axonale | = | | = |
| Régulation de la dopamine DARPP32 dans la signalisation de l'AMPc | = | | = |
| Signalisation des récepteurs de la dopamine | = | | |
| Signalisation d'EIF2 | ▲ | | ▲ |
| Signalisation de glucocorticoïdes | = | | = |
| Hypoxie du système cardiovasculaire | ▼ | | ▼ |
| Signalisation du cytosquelette d'actine | | ▼ | |
| Signalisation Cytokine | | ▼ | |
| Signalisation IL3 | | ▼ | |
| Production de l'oxyde nitrique et de ROS dans les Macrophages | | | ▼ |
| Signalisation du calcium | | ▼ | ▲ |
| Stress du réticulum endoplasmique | | | ▲ |
| Signalisation du diabète de type I | | | ▲ |

On peut ainsi voir **qu'il existe une majorité de voies régulées de façon positive chez la femme ce qui n'est pas le cas chez les hommes parkinsoniens sporadiques où les voies sont majoritairement sous régulées**. Ceci reflète la constatation qu'il existe une proportion plus importante de gènes sous exprimés chez les hommes parkinsoniens et de gènes surexprimés chez les femmes parkinsoniennes.

Même s'il existe des voies canoniques dérégulées communes entre les deux comparaisons hSPvshN et fSPvsfN, et d'autres retrouvées uniquement chez les hommes ou les femmes parkinsoniens, on ne peut pas affirmer qu'elles sont spécifiques de la maladie selon le sexe. En effet, les gènes inclus par IPA® dans ces voies peuvent être différent et le caractère alors spécifique est relatif. Nous avons donc croisé non pas les listes des voies canoniques, mais les listes de gènes dérégulés afin de rechercher des gènes dont l'expression serait différente selon la MP et/ou le sexe avec la stratégie de Simunovic et collaborateurs (2010).

Les gènes sont considérés comme spécifiques de la MP en dehors du sexe, s'ils sont retrouvés dans les deux comparaisons malades/ témoins (hSPvshN, fSPvsfN) mais pas dans les comparaisons hommes/femmes (hSPvsfSP, hNvsfN).

Les gènes sont considérés comme spécifiques du sexe uniquement s'ils sont retrouvés dans les deux comparaisons hommes/femmes (hSPvsfSP, hNvsfN) mais pas dans les comparaisons malades/témoins (hSPvshN, fSPvsfN) (figure 10).

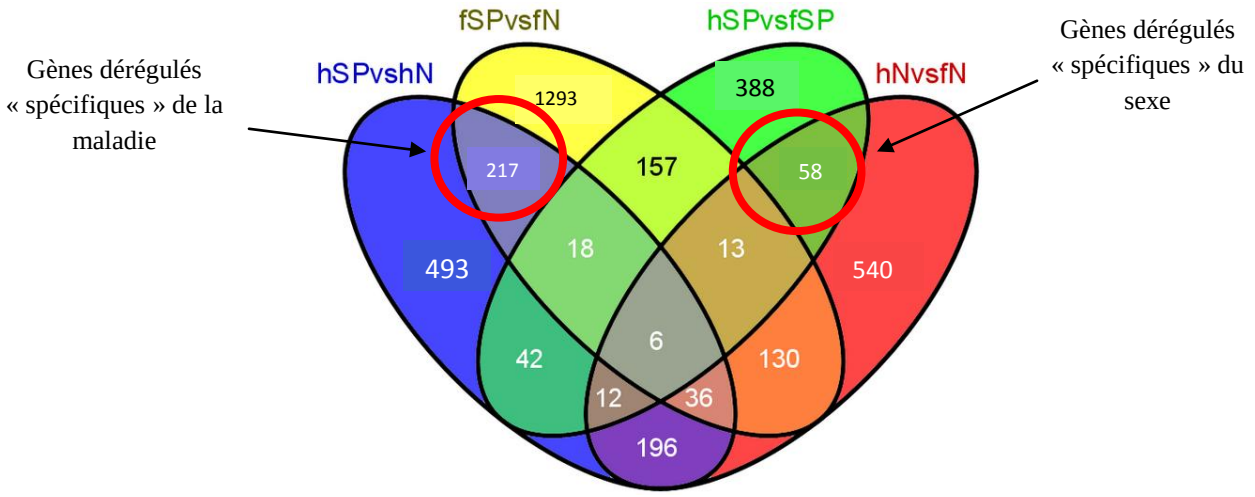



*Figure 10*. Diagramme de Venn des comparaisons des gènes dérégulés des analyses hSPvshN, fSPvsfN, hSPvsfSP et hNvsfN. Entourés en rouge, les gènes maladie et sexe « spécifiques ».

### *7.1.3. Gènes dérégulés « spécifiques » de la MP*

Les 217 gènes dits « spécifiques » de la MP, c'est-à-dire qu'ils sont dérégulés dans les deux analyses hSPvshN et fSPvsfN et pas dans les analyses hSPvsfSP et hNvsfN, sont indiqués en annexe 6. 92% de ces gènes ont une dérégulation dans le même sens chez les hommes et les femmes, dont 55% sont sous-exprimés et 45 % sur-exprimés.

Nous avons soumis la liste des 217 gènes à l'analyse d'IPA® afin de connaître leurs rôles respectifs. Il existe 46 voies canoniques significativement dérégulées dont celles que nous avons déjà retrouvées dans les analyses des listes des gènes dérégulés entre malades et témoins comme l'apoptose (PI3K/Akt, apoptose induite par le calcium), le stress oxydant (Hypoxie), l'inflammation (signalisation des interleukines et des cytokines, activation NF-κB) et la dégradation protéique (ubiquitination des protéines). L'ensemble de ces voies sont indiquées en annexe 7. De façon intéressante, plusieurs de ces gènes dérégulés dans la MP quel que soit le sexe, sont impliqués dans la **voie des récepteurs aux œstrogènes et de la signalisation des androgènes.** Les gènes dérégulés inclus par IPA® dans ces voies sont indiqués tableau 11. NRAS, NCOA2, MED30 et TAF2 sont des facteurs ou des cofacteurs de

transcription jouant un rôle important dans l'action génomique de la voie des ER. HSP90AA1 est un marqueur de cancer du sein ER+ de mauvais pronostic, tandis que PRKCB est impliqué dans le métabolisme de la testostérone. L'ensemble de ces gènes sont sous exprimés dans les PBMC à la fois chez les hommes et femmes parkinsoniens. A noter que nous n'avons retrouvé aucune dérégulation des récepteurs aux œstrogènes (ERα, ERβ, GPER1) dans nos différentes comparaisons entre malades et témoins ou entre hommes et femmes.

*Tableau 11*. Gènes dérégulés inclus par IPA® dans les voies de signalisation des œstrogènes et des androgènes.

| Voie canonique | Valeur de p | Gene ID | Nom du gène | FC hSPvshN | FC fSPvsfN |
|---|---|---|---|---|---|
| Signalisation des récepteurs aux œstrogènes | 0,038 | NRAS | neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog | -1,445 | -1 ,272 |
| | | NCOA2 | Nuclear receptor coactivator 2 | -1,225 | -2 ,066 |
| | | MED30 | Mediator complex subunit 30 | -1,368 | -1,258 |
| | | TAF2 | TAF2 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor | -1,220 | -1,214 |
| Signalisation des androgènes | 0,023 | NCOA2 | Nuclear receptor coactivator 2 | -1,225 | -2,066 |
| | | HSP90AA1 | HSP90AA1 heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1 | -1,458 | -1,437 |
| | | TAF2 | TAF2 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor | -1,220 | -1,214 |
| | | PRKCB | Protein kinase c beta | -1,212 | -1,285 |

### *7.1.4. Gènes dérégulés « spécifiques » du sexe et de la maladie*

Nous avons ensuite étudié les gènes dérégulés chez les sujets parkinsoniens selon le sexe donc non retrouvés à la fois dans les deux comparaisons hSPvshN et fSPvsfN. Nous voulions également écarter les gènes uniquement en lien avec le sexe et nous avons donc exclu les gènes dérégulés dans les analyses hSPvsfSP et hNvsfN (figure 11).

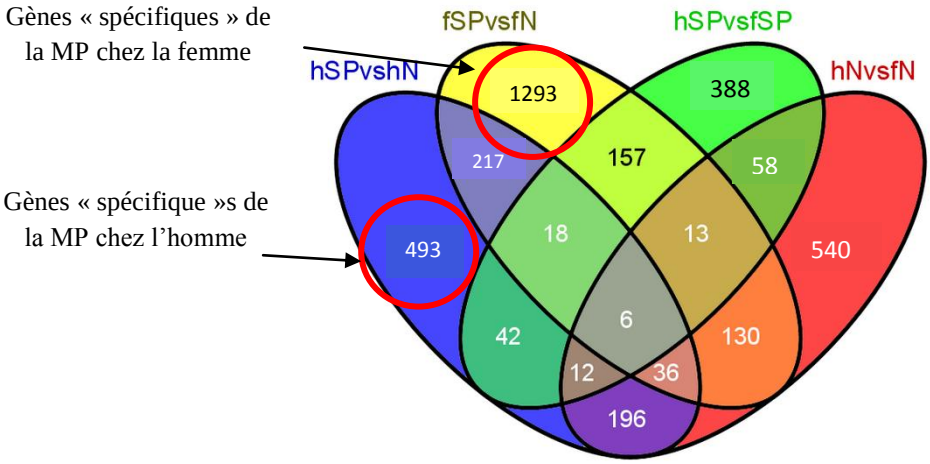



*Figure 11*. Diagramme de Venn des comparaisons des listes de gènes dérégulés des analyses hSPvshN, fSPvsfN, hSPvsfSP et hNvsfN. Entourés en rouge, les gènes « spécifiques » de la MP chez l'homme et les gènes « spécifiques » de la MP chez la femme.

Gènes « spécifiques » des femmes parkinsoniennes sporadiques :

1293 gènes sont dérégulés uniquement chez les femmes parkinsoniennes par rapport aux femmes témoins. Ces gènes sont impliqués dans les voies canoniques pathogéniques de la MP déjà citées auparavant. Cependant, si l'on compare ces gènes à la liste des gènes « clés » de Simunovic, **on retrouve tout d'abord le gène de l'alpha synucléine (SNCA) avec un FC de -2,06 chez les femmes malades**. Il existe également une dérégulation des gènes CHRNA4 (cholinergic receptor nicotinic alpha) (FC=1,45), GABARAPL2 (GABA(A) receptor-associated protein-like 2) (FC=-1,23) et FTL (Ferritine Light Polypeptide) (FC=1,58). Ensuite, parmi les 1293 gènes dérégulés uniquement chez les femmes parkinsoniennes, **on retrouve 9 des 35 gènes suggérés comme de potentiels biomarqueurs de la MP dans les études du transcriptome à partir des PBMC de sujets parkinsoniens (Shehadeh *et al.*, 2010) (tableau 12).**

*Tableau 12*. Gènes dérégulés dans notre étude chez les femmes parkinsoniennes communs avec la liste des 35 gènes suggérés comme potentiels biomarqueurs de la MP lors des études transcriptomiques à partir de PBMC de sujets parkinsoniens (Scherzer *et al*., 2007, Shehadeh *et al*., 2010). FC représente le ratio d'expression entre malades et témoins.

| GENE | FC |
|---|---|
| ALAS2 | -36,23 |
| BCL2 | 2,20 |
| BSG | 1,26 |
| EPB42 | -20,22 |
| FECH | -1,39 |
| LBH | 1,66 |
| SELENBP1 | -3,41 |
| SLC4A1 | -10,14 |
| SRRM2 | 1,55 |

Gènes « spécifiques » des hommes parkinsoniens sporadiques :

Contrairement aux résultats chez les femmes, on ne retrouve qu'un seul gène en commun avec la liste de Simunovic (NDUF46, FC=-1,34) chez les hommes. De même, sur la liste de 35 gènes dérégulés communs aux études transcriptomiques de PBMC, seul BPGM est sous-exprimé (FC= -2,11).

### 7.2. Dérégulations de l'expression génique et des voies canoniques « spécifiques » du sexe.

Nous avons donc constaté qu'il existe des dérégulations d'expression de gènes dans la MP qui sont en partie différentes chez les hommes et chez les femmes parkinsoniens. Ces résultats sont retrouvés lors de la comparaison entre des malades et les témoins du même sexe donc les dérégulations sont en lien avec le facteur maladie. La deuxième partie de notre analyse cherche à savoir s'il existe des dérégulations de l'expression de gènes entre les hommes et les femmes donc liées au sexe uniquement.

Ainsi, entre les hommes et femmes parkinsoniens sporadiques, on observe des **dérégulations de voies canoniques du cancer, de la réparation de l'ADN** mais également de voies que nous avons retrouvé dans la comparaison entre malades et témoins comme **le cytosquelette et l'apoptose** (annexe 8). **Ces dérégulations de voies métaboliques selon le sexe sont confirmées par la comparaison entre les témoins hommes et femmes où une fois encore on retrouve les voies de l'apoptose et du cancer**. Le nombre de voies canoniques est toutefois nettement moins important (33 dans les deux comparaisons) que lors de l'analyse des gènes dérégulés entre les malades et témoins.

Selon notre stratégie initiale (Simunovic *et al*., 2010), les 58 gènes communs entre hSPvsfSP et hNvsfN et non retrouvés dans les comparaisons malades/témoins seraient spécifiques du sexe (annexe 9) (figure 12.). Même si ces gènes sont peu nombreux, l'analyse par IPA identifie tout de même 14 voies canoniques dérégulées parmi lesquelles on retrouve des voies impliquées dans la traduction et la réparation de l'ADN, le cytosquelette, l'inflammation, ou le cancer (tableau 13). Cependant seuls 15 gènes ont été inclus par IPA dans ces différentes voies, dont 6 sont localisés sur les chromosomes X et Y.

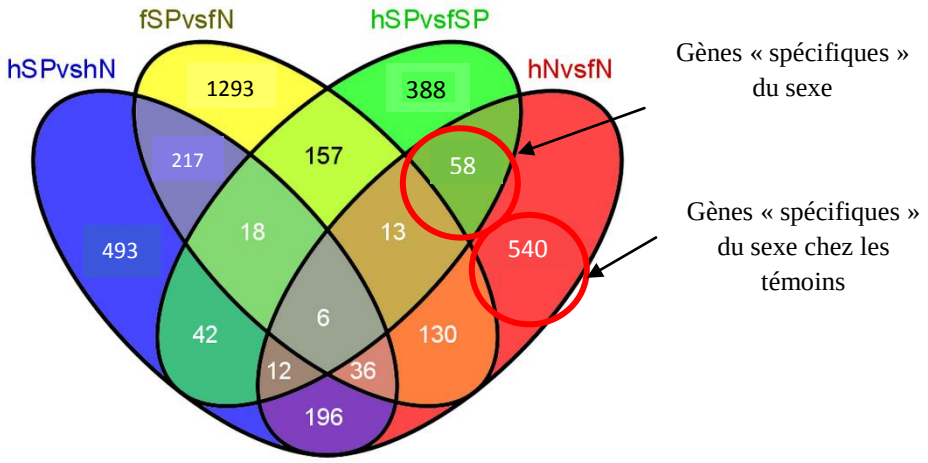



*Figure 12*. Diagramme de Venn des comparaisons des listes de gènes dérégulés des analyses hSPvshN, fSPvsfN, hSPvshN et hNvsfN. Entourés en rouge, les gènes » spécifiques » du sexe et « spécifiques » du sexe chez les témoins.

Nous venons toutefois de voir qu'il existe des différences d'expression génique chez les parkinsoniens selon le sexe, donc si on regarde l'analyse hSPvsfSP, il est probable que les dérégulations des gènes soient en lien à la fois avec le sexe et la maladie. Cette hypothèse est d'ailleurs appuyée par le fait que plusieurs gènes importants dans la pathogénie de la MP (Simunovic et al., 2010) sont sous-exprimés (HSPA8 FC=-1,98, DRD2 FC=-1,44) ou sur-exprimés (TGFB2 FC=3,94, SLC24A3 FC=3,55) chez les hommes parkinsoniens sporadiques par rapport aux femmes.

Nous nous sommes donc intéressés aux **gènes dérégulés uniquement chez les hommes par rapport aux femmes témoins. On retrouve ainsi des gènes impliqués dans l'autophagie, dans la mobilité du cytosquelette, dans la voie des protéines kinases A ou des sphingosines**.

Au total, notre étude transcriptomique a mis en évidence des gènes dérégulés communs chez les malades parkinsoniens quel que soit le sexe avec une implication dans les principales voies pathogéniques de la MP, et dans les voies de signalisation des œstrogènes et androgènes. Cependant, à côté de ces gènes communs, il existe aussi des dérégulations sexe spécifique, avec tout d'abord des différences d'expression de gènes « clés » de la MP uniquement chez la femme, en particulier le gène SNCA. De plus, des gènes dérégulés sans distinction de sexe dans d'autres études transcriptomiques à partir de PBMC sont de nouveau presque uniquement retrouvés chez les femmes parkinsoniennes dans notre étude. De plus, les hommes parkinsoniens ont moins de gènes dérégulés par rapport aux témoins, et les témoins hommes ont une différence d'expression génique par rapport aux femmes témoins pour des gènes impliqués dans l'autophagie et le cytosquelette.

# Discussion

Les différences cliniques de la MP selon le sexe, et l'implication possible des facteurs hormonaux ont déjà été étudiées, mais les cohortes sont souvent de petite taille. Nous avons donc voulu réaliser la première cohorte française sur ce sujet afin d'étudier les caractéristiques cliniques de la MP mais également l'influence des facteurs hormonaux sur le profil évolutif de la maladie. L'objectif était également de réaliser une étude transversale, pour faire le lien entre les données épidémiologiques, biologiques et les données d'expression génique, qui pourraient nous apporter des éléments de compréhension sur les différences de la MP selon le sexe.

## 1. Une différence d'âge de début et d'évolution de la MP chez les parkinsoniens sporadiques selon le sexe.

Il est tout d'abord intéressant de voir que chez l'ensemble des sujets suivis dans le service et référencés dans la database Screenix®, le sexe ratio de 1,34 en défaveur des hommes. Ce sexe ratio est légèrement inférieur à celui des études épidémiologiques mais cette population comprend un certain nombre de patients porteurs d'une mutation délétère ou avec antécédents familiaux. De plus, le sexe ratio est nettement en défaveur des hommes dans les cohortes PARADIGME/CONVERGENCE alors qu'il est de 1 dans la population PARKFANORD qui ne comprend que les cas avec antécédents familiaux et/ou porteurs d'une mutation. Il n'y a en effet pas de prépondérance du sexe masculin chez les porteurs de la mutation G2019S du gène LRRK2 (Orr-Urtreger *et al.*, 2007), montrant que le sexe ratio serait plus proche de 1 chez les sujets porteurs d'une mutation délétère. L'hypothèse d'une influence du sexe plus importante chez les cas sporadiques est appuyée par un des résultats de notre étude, montrant qu'il existe une différence significative de l'âge de début qui serait plus tardif uniquement chez les

femmes les parkinsoniennes sporadiques. En revanche on ne retrouve pas cette différence chez les patients porteurs de mutation et/ou avec antécédents familiaux de MP. On peut donc suggérer que le sexe aurait une influence délétère ou protectrice au même niveau qu'un facteur environnemental, avec un « poids » plus important chez les cas sporadiques que chez les cas familiaux où le facteur génétique indépendant serait prépondérant (figure 13).

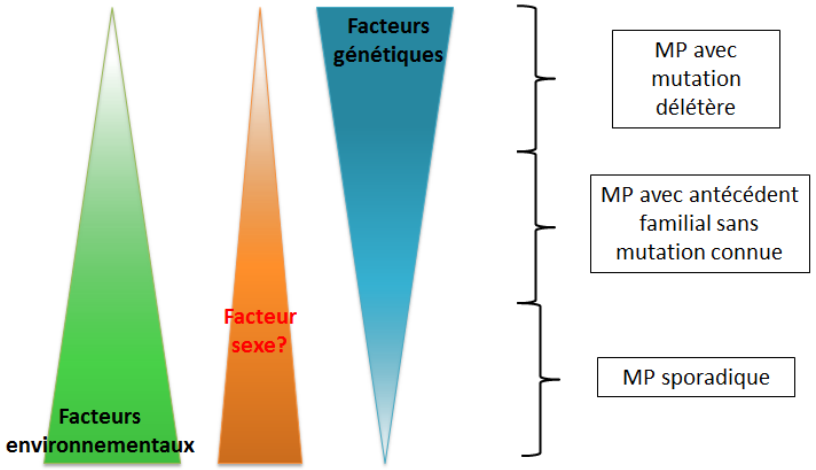



*Figure 13*. Hypothèse des interactions entre les facteurs environnementaux, le sexe et les facteurs génétiques dans les formes sporadiques, familiales ou avec mutation délétère de la MP.

Afin de conforter cette hypothèse il nous faudra étudier l'influence des facteurs environnementaux et hormonaux entre les deux populations des parkinsoniens sporadiques et des parkinsoniens familiaux/mutés. Nous pourrions ainsi savoir si les facteurs environnementaux délétères sont plus importants chez les cas sporadiques que chez les cas familiaux.

Concernant les caractéristiques de la MP, nous n'avons pas retrouvé de différence significative concernant le signe inaugural de la maladie, ce qui est cohérent avec la littérature

(Scott *et al*., 2000, Baba *et al*., 2005). L'évolution de la MP se caractérise le plus souvent par des complications motrices (dyskinésies et fluctuations motrices) et la fréquence de ces complications est similaire selon le sexe. En revanche, le délai d'apparition des dyskinésies après l'introduction de la L-Dopa est plus long chez la femme. Cette donnée est peu étudiée dans les autres études épidémiologiques qui se sont plutôt intéressées à la prévalence des dyskinésies qui serait plus importante chez les femmes parkinsoniennes (Lyons *et al*., 1998, Baba *et al*., 2000). Par ailleurs, étant donné que notre recueil de données s'est fait majoritairement par téléphone, nous n'avons pas pu évaluer le score UPDRS mais rappelons que certains auteurs ont montré qu'il n'y avait pas de différence si l'on prenait le score global, mais selon l'étude des sous-scores, il y aurait plus d'instabilité posturale chez les femmes et de rigidité chez les hommes (Baba *et al*.. 2005). Enfin, le recours à la stimulation cérébrale profonde est plus fréquent chez les hommes, avec un pourcentage qui est élevé (20,13%) mais qui est du au biais d'une population suivie en milieu hospitalier universitaire spécialisé. A notre connaissance, aucune étude dans la littérature n'a étudié spécifiquement la stimulation cérébrale profonde chez les patients parkinsoniens selon le sexe.

## 2. Des facteurs environnementaux délétères ou protecteurs différents selon le sexe.

La raison de l'incidence plus élevée de la MP chez les hommes pourrait être attribuée à une exposition plus importante à des facteurs environnementaux délétères. Cependant, nos données semblent aller à l'encontre de cette hypothèse ; dans notre population globale nous retrouvons les facteurs environnementaux le plus souvent décrits dans la littérature, avec une exposition plus forte aux pesticides chez les malades et plus de consommation de tabac et de café chez les témoins. En revanche, si on regarde l'exposition aux facteurs environnementaux selon le sexe, on ne retrouve que le tabagisme chez l'homme, contre le tabagisme, le café et

les pesticides chez la femme. Cette constatation pourrait donc faire penser que la part environnementale et toxique aurait moins d'importance dans la pathogénie de la MP chez les hommes. Cependant, il faut noter que dans notre étude, les hommes parkinsoniens ont une exposition aux pesticides plus fréquente (45,59%) que les témoins (36,11%) mais cette différence n'est pas significative, possiblement en lien avec un effectif de témoins hommes faible (n=72). De nombreuses études ont été menées sur l'influence des facteurs environnementaux mais une seule à notre connaissance s'est intéressée à une possible différence selon le sexe. Savica et collaborateurs (2013) ont ainsi rassemblé les données de 10 études et ont effectué une nouvelle analyse selon le sexe. Contrairement à nos résultats, ils retrouvent une augmentation du risque de MP en cas d'exposition aux pesticides, de faible consommation de café ou d'antécédent de traumatisme crânien chez les hommes mais il n'est pas retrouvé d'influence de facteurs environnementaux chez la femme. Les effectifs de cette étude étaient de 121 paires cas-témoins femmes et de 75 paires cas témoins hommes, or dans notre travail, nous avons un nombre beaucoup plus important de malades mais un nombre moindre de témoins, surtout chez les hommes (n=72). Nous devrons inclure des sujets supplémentaires et réaliser une étude cas-témoin pour confirmer ou non ces premiers résultats. Concernant le tabac, plus que le fait d'être fumeur (différence de pourcentage uniquement significative chez les femmes parkinsoniennes par rapport aux témoins), c'est la quantité de tabac consommé qui aurait une association inverse avec le risque de développer une MP. En effet, le nombre de paquets années est significativement plus élevé chez les témoins quel que soit le sexe. En dehors de l'effet délétère des pesticides dont le mécanisme physiopathologique toxique sur le système nigro-strié est bien connu, il faut être prudent concernant le lien entre le tabac ou le café et le risque de MP. En effet, la relation inverse entre consommation de tabac et risque de MP est retrouvée dans de nombreuse études (Ritz *et al.*, 2007) mais le lien de causalité direct reste débattu. Toutefois, les résultats d'études de

recherche fondamentale semblent appuyer l'hypothèse d'un effet protecteur de la nicotine, qui protègerait les cellules dopaminergiques de la toxicité de la 6-OHDA (Riveles *et al*., 2008), limiterait l'agrégation de l'alpha-synucléine (Hong *et al*., 2009) et modulerait la transmission dopaminergique, raison pour laquelle des essais thérapeutiques avec de la nicotine sont en cours chez l'homme (Thiriez *et al*., 2011).

Nous avons également étudié l'exposition à ces mêmes facteurs environnementaux entre les hommes et les femmes afin d'observer si les différences d'exposition selon le sexe variaient si les sujets étaient sains ou au contraire malades. Ainsi, les hommes malades ou non ont une exposition aux pesticides plus fréquente et une consommation tabagique plus importante que les femmes ce qui est cohérent avec le mode de vie (profession d'agriculteur et tabagisme plus fréquent chez les hommes (Giovino *et al*., 2012)). De même, les femmes consomment plus de thé. En revanche, la consommation de café est plus importante uniquement chez les hommes parkinsoniens par rapport aux femmes.

Concernant la prise de traitements par Aspirine et hypocholestérolémiants, elle est plus fréquente chez les témoins hommes par rapport aux témoins femmes, mais aucune différence significative n'est retrouvée dans les autres comparaisons en particulier entre les malades et les témoins. Ceci va donc à l'encontre des données montrant un possible effet protecteur des statines (Undela *et al*., 2013), cependant les effectifs de sujets prenant ces traitements sont faibles dans notre étude.

Enfin, il n'y a aucune autre différence significative concernant les facteurs de risque vasculaire entre les malades et les témoins rejoignant les données de la littérature (Simon *et al*., 2007). Tout comme montré dans l'étude de Driver et collaborateurs (2008), le diabète ne semble donc pas être un facteur de risque de la MP . Cependant il y a plus de cas de diabète chez les hommes parkinsoniens que chez les femmes ce qui est tout de même une donnée

intéressante car ces deux pathologies partagent des voies métaboliques dérégulées communes (Santiago & Potashkin, 2013) dont certaines pourraient donc être différemment dérégulées selon le sexe, approche que nous avons abordé avec notre étude biologique et transcriptomique.

## 3. Influence des facteurs hormonaux sur la MP chez la femme

Devant un sexe ratio en défaveur des hommes et un âge de début plus tardif chez les femmes, l'hypothèse d'un rôle protecteur des hormones sexuelles féminines est logiquement évoquée. A partir de la puberté, la femme a une imprégnation hormonale à la fois d'œstrogènes (principalement l'œstradiol) pendant les cycles menstruels, et de progestérone lors des grossesses. Nous avons donc recueilli les facteurs hormonaux de la femme et étudié leur potentielle influence sur l'âge de début et les complications de la MP. De plus, l'étude de ces données hormonales entre les femmes parkinsoniennes et les témoins nous a permis d'évaluer si ces facteurs hormonaux avaient une relation inverse avec le risque de développer la MP. Les résultats sont à pondérer car les témoins ont un âge moyen à l'inclusion dans notre étude plus jeune que les malades, ce qui implique qu'il y a moins de femmes ménopausées et qu'il existe également des différences concernant le nombre d'enfants, l'allaitement, la prise de THS. Rappelons en effet que les conseils donnés aux femmes concernant ces deux derniers points et l'accès à la contraception ont évolué sur les 30 dernières années. Ceci expliquerait que les femmes parkinsoniennes ont eu plus d'enfants que les témoins. En revanche il est surprenant de voir que la prise de THS est presque deux fois plus importante chez les témoins, sachant que les recommandations actuelles appellent plutôt à la prudence du fait du risque de cancer du sein (Hilakivi *et al*., 2013). Cette proportion plus importante chez les témoins pourrait faire penser que le THS aurait un rôle protecteur contre le risque de MP. Seul Popat et collaborateurs (2005) ont montré un potentiel effet protecteur du THS en cas de prise

prolongée ce qui n'a pas été confirmé par d'autres études (Nicoletti *et al.*, 2011, Haaxma *et al*., 2007). Les données concernant le THS sont toutefois le plus souvent limitées par le petit nombre de sujets prenant ce type de traitement.

Par ailleurs, même si les femmes parkinsoniennes ont leurs premières règles plus tard que les témoins, nous n'avons pas retrouvé de différence concernant la durée de vie fertile contrairement à plusieurs études (Haaxma *et al*., 2012, Yadav *et al*., 2012). Nous poursuivrons notre travail par une étude cas témoins avec le même âge à l'inclusion afin de confirmer ces données préliminaires. Nous devrons également évaluer s'il existe une interaction entre facteurs environnementaux, facteurs hormonaux et risque de MP comme l'avaient montré Simon et collaborateurs (2009) avec un effet protecteur du tabac qui serait moindre chez les femmes parkinsoniennes qui prennent un traitement hormonal substitutif.

Les résultats les plus intéressants concernent l'influence du statut hormonal sur les caractéristiques de la MP au sein du groupe des femmes parkinsoniennes. L'âge de début de la MP est corrélé de façon positive avec le nombre de grossesses (r=0,15, p=0,0038). Or la grossesse est la période pendant laquelle la progestérone est fortement sécrétée pour aider au maintien de l'embryon. Les données de la littérature concernant un rôle protecteur de la progestérone sont bien moins nombreuses que pour l'œstradiol. La progestérone augmenterait la différentiation des cellules souches de souris en neurones dopaminergiques (Dìaz *et al*., 2009) et aurait un effet neuroprotecteur sur les modèles animaux intoxiqués au MPTP, mais une autre étude a montré une aggravation des symptômes moteurs des rats 6-OHDA avec la progestérone (Chao *et al*., 2011). Tout comme les œstrogènes, la progestérone aurait une action génomique qui régulerait la transcription de gènes cibles (Casas *et al*., 2013).

Chez les femmes ménopausées avant le début des symptômes de la MP, l'âge de la ménopause est corrélé avec l'âge de début de la MP (r=0,15, p=0,0001). Ainsi, plus la

ménopause est tardive plus les premiers symptômes apparaissent tard. Ce résultat conforterait l'hypothèse du potentiel effet neuroprotecteur de l'œstradiol dont la sécrétion s'effondre au moment de la ménopause. Cependant, le lien avec la contraception est plus contradictoire avec une corrélation positive entre l'âge des premiers symptômes et l'âge de début et d'arrêt de la prise d'une contraception. On peut émettre l'hypothèse que débuter et arrêter une contraception tard permettrait une imprégnation œstrogénique ou œstro-progestative dans les années où le phénomène neurodégénératif serait débutant. De plus, les œstrogènes agiraient sur le métabolisme de la L-Dopa avec une corrélation négative entre l'âge de début de la contraception et le délai d'introduction de la L-Dopa. Les autres corrélations entre le délai d'introduction de la L-Dopa et les autres facteurs hormonaux (ménopause, hystérectomie) sont à pondérer car plus la patiente est jeune 1) plus il est probable qu'elle ait sa ménopause après le début des symptômes 2) plus le neurologue souhaitera attendre avant d'introduire le traitement par L-Dopa du fait du risque de développer des complications motrices. Enfin, contrairement à plusieurs études, aucune différence n'est retrouvée concernant la DVF, qui est similaire entre témoins et malades et qui n'influence pas l'âge de début de la MP dans notre étude.

Si les différences sexuelles entre les hommes et les femmes sont en lien avec les hormones œstro-progestatives prédominantes chez les femmes, il ne faut pas méconnaitre le rôle de la testostérone qui est essentielle dans le développement cérébral et la masculinisation. Un lien direct existerait entre la dopamine et la testostérone qui ont un rôle important dans le comportement sexuel chez l'homme. Ainsi, le récepteur aux androgènes régulerait l'expression de la tyrosine hydroxylase, enzyme essentielle à la biosynthèse de la dopamine (Jeong *et al*., 2005). Par ailleurs, un traitement par testostérone induirait un dysfonctionnement mitochondrial, une dérégulation des protéines kinases, augmenterait l'apoptose (Cunningham *et al*., 2009) et limiterait la survie des neurones dopaminergiques

(Johnson *et al*., 2010). Enfin, les études cliniques ne montrent pas d'effet bénéfique sur les signes moteurs ou non moteurs (Okun *et al*., 2002, Okun *et al*., 2006). L'ensemble de ces données ne sont donc pas en faveur d'un effet neuroprotecteur de la testostérone mais plutôt d'une potentielle action délétère.

Nos résultats semblent donc appuyer le fait que les différences phénotypiques de la MP entre hommes et femmes pourraient être en lien avec les œstrogènes. Les études sur les modèles animaux ou cellulaires toxiques ont montré des résultats parfois contradictoires ; si certains ont montré qu'un traitement par œstradiol chez des rates ovariectomisées limitait la perte des neurones dopaminergiques dans les modèles animaux 6-OHDA et MPTP (Bourque *et al*., 2009), cette hormone ne protègerait cependant pas les neurones dopaminergiques de la toxicité du MPTP chez les mâles (Gao & Dluzen, 2001). Cette différence de réponse selon le sexe pourrait s'expliquer par une différence sexuelle de l'atteinte du système nigro- strié dans la MP. En effet, il existe une déplétion dopaminergique plus importante chez les rats 6-OHDA mâles par rapport aux femelles (Murray *et al*., 2003), on retrouve des données similaires chez l'homme en SPECT (Haaxma *et al*., 2007). Cependant cette différence d'innervation dopaminergique n'est plus présente quand la neurodégénérescence dépasse 60% (Gillies & Mc Arthur., 2010). Ceci laisse penser que les œstrogènes auraient une action bénéfique en début de maladie d'où un âge de début de la MP plus tardif chez les femmes, mais une fois que la mort neuronale est avancée, l'évolution et les complications de la maladie seraient les mêmes quel que soit le sexe.

Ensuite McArthur et collaborateurs (2007) n'ont pas montré d'effet de l'œstradiol sur la survie des neurones mais plutôt sur le métabolisme et le transport de la Dopamine. Le raisonnement actuel consiste donc à considérer qu'il existe deux effets distincts de l'œstradiol sur 1) la mort des neurones de la SN par une action génomique qui régule la transcription de gènes en particulier mitochondriaux, et par interaction avec la voie PI3K/Akt (Morissette *et*

*al*., 2008) et sur 2) le métabolisme de la dopamine des neurones survivants en régulant les transporteurs et les enzymes de dégradation de la dopamine (Gillies & Mc Arthur, 2010).

Par ailleurs une distinction est également faite entre les stéroïdes sexuels périphériques et centraux. En effet, des œstrogènes périphériques (circulants) ont une action sur le métabolisme de la dopamine chez la femelle alors que chez le mâle, l'œstradiol et la testostérone (transformée en œstradiol par l'aromatase) agissent peu sur les neurones dopaminergiques. En revanche, l'injection locale et donc ciblée d'œstradiol induirait des effets neuroprotecteurs quel que soit le sexe (Mac Arthur & Gillies, 2011). Si le traitement par THS en phase pré-symptomatique de la MP parait séduisant chez les femmes, il n'aurait donc que peu d'intérêt chez les hommes. Cependant, les œstrogènes n'agiraient pas uniquement sur les neurones dopaminergiques mais également sur les neurones GABAergiques (Schultz *et al*., 2009) et sérotoninergiques (Klink *et al*., 2002) avec des effets possibles sur les signes non moteurs de la MP qui diffèrent également selon le sexe (Solla *et al*., 2012).

## 4. Dosages biologiques selon le sexe : un reflet de l'implication du fer et de l'homocystéine dans la MP ?

Indiquons tout d'abord que, même si un de nos objectifs était d'étudier l'influence des facteurs hormonaux dans la MP, le dosage de l'œstradiol n'apporte pas d'information étant donné que le taux de cette hormone est effondré à la ménopause. Nous nous sommes intéressés aux dosages du cholestérol qui est un des précurseurs pour la synthèse des hormones stéroïdes sexuelles (annexe 1). Il n'y a pas de différence significative entre les malades et les témoins quel que soit le sexe, ce qui est assez cohérent avec les données de la littérature même si les études sont peu nombreuses (Hu *et al.,* 2010). En revanche, les femmes

parkinsoniennes ont un dosage du cholestérol total plus élevé que les hommes, cette différence n'est pas retrouvée chez les témoins.

Il est très intéressant de constater qu'à la fois les femmes et les hommes parkinsoniens ont un dosage de l'hémoglobine significativement plus bas que leurs témoins respectifs. Un antécédent d'anémie augmenterait d'ailleurs le risque de MP (Savica *et al*., 2009) et l'érythropoïétine pourrait avoir un effet thérapeutique bénéfique chez les patients (Liu *et al*., 2008). Cette diminution du taux d'hémoglobine pourrait être en lien avec une carence en fer en particulier chez la femme du fait des cycles menstruels répétés. On retrouve en effet, uniquement chez les malades, une corrélation positive entre la DVF et le dosage de la transferrine et la CTF, qui sont élevés en cas de carence martiale. Cependant, on ne retrouve pas de différence significative concernant le dosage du fer sérique ou la ferritine entre les malades et les témoins, mais la transferrine et la CTF sont plus bas chez les hommes parkinsoniens par rapport aux témoins hommes ce qui pourrait être le reflet d'une charge en fer plus importante. Si la présence d'une surcharge cérébrale en fer dans les maladies neurodégénératives est maintenant admise (Hagemeier *et al*., 2012), les données sur les dosages sanguins périphériques du fer et des molécules de stockage (ferritine) ou de transport (transferrine) sont beaucoup moins nombreuses. Certains évoquent une mauvaise adaptation du taux de ferritine et donc de la capacité de stockage en fer, entraînant une accumulation ferrique au niveau cérébral en particulier de la SN (Hirsch *et al*., 2006).

La diminution du dosage de l'hémoglobine chez les malades pourrait également s'expliquer pas des taux bas de folates et de vitamine B12 que nous avons mis en évidence dans notre étude. Cette donnée n'avait pas été retrouvée par Madenci et collaborateurs (2012) qui montraient en revanche une corrélation négative du dosage des folates et de la vitamine B12 avec la gravité de la MP et avec l'altération cognitive (Triantafyllou *et al*., 2008).

La vitamine B12 permet de convertir l'homocystéine en cystéine, ce qui explique donc l'hyperhomocystéinémie retrouvée chez les femmes parkinsoniennes par rapport aux témoins. En revanche les témoins hommes ont un dosage de l'homocystéine plus élevé que les témoins femmes sans toutefois de diminution de la vitamine B12. L'implication de l'hyperhomocystéinémie dans la MP est débattue, tout d'abord du fait d'une augmentation en cas de carence en vitamine B12, et ensuite parce que le dosage de l'homocystéine augmenterait avec le traitement par L-Dopa (Zoccolella *et al*., 2010). Cependant, une hyperhomocystéinémie est également retrouvée chez des patients naïfs de tout traitement dopaminergique (Hu *et al*., 2013). L'homocystéine aurait une toxicité neuronale par augmentation du calcium cellulaire, des ROS et l'activation de la MAPK (Boldyrev *et al*., 2013). Il est donc possible que l'hyperhomocystéinémie retrouvée chez nos femmes parkinsoniennes soit en lien avec à la fois la diminution de la vitamine B12 mais également avec la MP.

Au total, la plupart des différences de dosage biologique entre malades et témoins sont retrouvés chez les hommes et femmes parkinsoniens, en particulier le taux bas en folates et de l'hémoglobine. Nous n'avons pas retrouvé d'argument franc pour une carence en fer mais plutôt pour une surcharge du stockage chez l'homme (transferrine et CTF bas). Enfin, l'augmentation du taux d'homocystéine chez les femmes parkinsoniennes pourrait être impliquée dans la pathogénie de la MP.

## 5. Des dérégulations de l'expression des gènes impliqués dans la pathogénie de la MP différentes selon le sexe.

Le transcriptome est l'objet de nombreuses études dans la MP car cette approche permet d'aborder la variabilité de l'expression des gènes chez les malades par rapport aux témoins grâce aux micropuces à ADNc. La régulation de la transcription des gènes permet l'adaptation des différents mécanismes cellulaires par exemple aux conditions de stress et aux besoins énergétiques de la cellule. La sur ou sous-expression pathologique de gènes entraîne un dysfonctionnement des voies métaboliques dans lesquels ces gènes, et les protéines obtenues après traduction, sont impliqués. Les premières études transcriptomiques dans la MP ont été réalisées à partir de cellules de la SN et ont ainsi montré des dérégulations de gènes impliqués dans la mitochondrie, la dégradation protéique, la guidance axonale, le trafic vésiculaire, la transduction du signal, la signalisation dopaminergique, l'apoptose et les facteurs neurotrophiques (Greene *et al.,* 2012). Cependant, les études à partir de la SN ont l'inconvénient d'être réalisées chez des malades décédés rendant parfois prudente l'interprétation des résultats, et il s'agit le plus souvent de sujets à des stades tardifs de la MP. Or l'objectif des études transcriptomiques n'est pas seulement de mieux comprendre la pathogénie de la MP, mais également d'identifier de potentiel biomarqueurs de la MP. Plusieurs équipes se sont donc intéressées aux dérégulations des voies métaboliques dans les PBMC de sujets parkinsoniens qui sont d'un abord facile chez les patients. De façon intéressante, les voies métaboliques dérégulées dans les PBMC sont similaires à celles retrouvées dans les études transcriptomiques de la SN (Scherzer *et al*., 2007, Soreq *et al*., 2008, Mutez *et al*., 2011, Shehadeh *et al*., 2010). Nos résultats de l'analyse de l'expression génique chez les parkinsoniens sporadiques montre également une implication des voies de l'apoptose, de la survie cellulaire (PI3K/Akt, ERK/MAPK), de la signalisation des récepteurs de la dopamine et de facteurs neurotrophiques (PEDF, Neureguline). Parmi l'ensemble des

gènes dérégulés, on retrouve PARK7 (DJ-1) qui est sous exprimé (FC= -1,23) chez les parkinsoniens sporadiques. Rappelons que DJ-1 permet de lutter contre le stress oxydant (Mullett *et al*., 2013), et les mutations de ce gène dans la MP entraînent une perte de fonction de la protéine. DJ-1 est différemment exprimée selon les régions cérébrales chez les parkinsoniens sporadiques, avec en particulier une sous-expression dans le putamen (Kumaran *et al*., 2009). Les données concernant le dosage de DJ-1 dans le sérum de sujets parkinsoniens sont débattues (Waragai *et al.*, 2007, Maita *et al*., 2008) mais il pourrait s'agir d'un potentiel biomarqueur de la MP (Lin *et al*., 2012).

Afin de s'intéresser aux différences d'expression génique selon le sexe chez les parkinsoniens, nous avons tout d'abord analysé les gènes dérégulés entre les femmes parkinsoniennes et leurs témoins d'une part, et les hommes parkinsoniens et leurs témoins d'autre part. Il existe un nombre plus important de gènes surexprimés chez les femmes que chez les hommes or cette différence avait déjà été montrée par Cantuti-Castelvetri et collaborateurs (2007).

Dans le but de définir des gènes dérégulés spécifiques de la maladie ou du sexe, nous avons utilisé la méthodologie employée par les 2 seules études transcriptomiques qui ont abordé la problématique de l'influence du sexe sur l'expression génique et la pathogénie de la MP (Cantuti-Castelvetri *et al*., 2007, Simunovic *et al*., 2010) . Nous avons donc tout d'abord sélectionné les gènes dérégulés communs aux analyses hSPvshN et fSPvsfN mais non retrouvés dans les analyses entre hommes et femmes. Ces 217 gènes dérégulés auraient donc un rôle central dans la MP sans influence du sexe. Ils sont plus nombreux que dans ceux retrouvés par Cantuti-Castelvetri, cependant, cette étude, tout comme celle de Simunovic et collaborateurs, a été réalisée à partir de la SN de sujets parkinsoniens ou témoins avec un FC supérieur ou inférieur à 2. Ce FC plus élevé explique donc qu'il existe un nombre moins important de gènes dérégulés. Dans notre étude, nous avons choisi un FC faible (1,2) pour ne

pas éliminer par excès les gènes, dont la variation d'expression était peu importante, comme c'est le cas pour les facteurs de transcription ou les autres gènes vitaux au fonctionnement cellulaire, dont on peut supposer qu'une forte dérégulation serait létale pour la cellule. Il est intéressant de noter que l'analyse par IPA® des 217 gènes dérégulés chez les femmes et hommes parkinsoniens sporadiques, montre une implication des voies canoniques déjà connues pour leur rôle dans la MP (apoptose, survie cellulaire, dégradation protéique, inflammation) mais on retrouve surtout les voies des récepteurs aux œstrogènes et de la signalisation des androgènes. Ces voies ne sont retrouvées dans aucune autre de nos analyses, en particulier elles ne sont pas dérégulées dans les analyses hSPvshN et fSPvsfN. Les 6 gènes dérégulés dans ces voies (NRAS, NCOA2, MED30, TAF2, HSP90AA1, PRKCB) sont tous sous-exprimés à la fois chez les hommes et femmes parkinsoniens par rapport aux témoins. Hormis HSP90AA1, qui est également sous-exprimé chez les hommes parkinsoniens dans l'étude de Simunovic et collaborateurs (2010), aucun autre de ces gènes n'est retrouvé dans les 2 études transcriptomiques avec étude du sexe à partir de la SN. Il n'y a pas de travaux de recherche montrant un lien direct entre ces gènes et la pathogénie de la MP, mais la liaison d'Erβ avec NCOA2 entraînerait un arrêt du cycle cellulaire (Paruthiyil *et al.*, 2011) et TAF2 aurait un rôle essentiel dans la transcription médiée par les ER (McDonnell *et al*., 1995). On peut émettre l'hypothèse que la sous- expression de ces gènes induirait donc une dérégulation de la voie des œstrogènes chez l'ensemble des malades parkinsoniens, ce qui limiterait l'effet protecteur de cette voie mais cela d'autant plus chez les hommes qui ont moins de stimulation œstrogénique que les femmes. Rappelons toutefois que nos résultats sont issus de l'analyse du transcriptome de PBMC et que ces gènes impliqués dans les voies des œstrogènes et des androgènes ne sont pas dérégulés dans les autres études transcriptomiques de PBMC de sujets parkinsoniens (Scherzer *et al.*, 2007, Shehadeh *et al.*, 2010).

Si l'on s'intéresse aux gènes spécifiquement dérégulés chez les femmes parkinsoniennes sporadiques, on retrouve le gène de l'alpha-synucléine qui est sous-exprimé avec un FC de -2,06. Il existe également une sous expression de SNCA dans la SN mais avec des données contradictoires. Simunovic retrouve cette dérégulation à la fois chez les hommes et femmes parkinsoniens, alors que Cantuti-Castelverti met en évidence une sous-expression de SNCA chez les femmes par rapport aux hommes qu'ils soient malades et témoins. Les résultats de Cantuti-Castelvetri confirmeraient donc que la dérégulation de l'expression de l'alpha-synucléine serait sexe spécifique. Le dosage périphérique sanguin de l'alpha-synucléine serait diminué chez les parkinsoniens sporadiques (Gorostidi *et al*., 2012) mais il n'y a jamais eu d'analyse selon le sexe. De plus ces résultats sont discutés car la majorité de l'alpha-synucléine est retrouvée dans les globules rouges rendant le dosage sensible à l'hémolyse (Shi *et al*., 2010).

Parmi la liste des gènes « clés » dans la MP définie par Simunovic, les femmes parkinsoniennes sporadiques présentent une sur-expression de CHRNA4 (cholinergic receptor nicotinic alpha) qui interagit avec le récepteur de la dopamine D2 (Markett *et al.*, 2013) et joue un rôle dans la transduction du signal synaptique (Steinlein *et al*., 2002). On retrouve également une sur-expression de FTL (Ferritine Light Polypeptide), dont des mutations sont impliquées dans les pathologies neurodégénératives avec accumulation cérébrale de fer, et une sous expression de GABARAPL2 qui participe au processus d'autophagie. Ces mêmes dérégulations sont retrouvées dans la SN (Simunovic *et al*., 2010) mais à la fois chez les hommes et les femmes. Il nous faudra confirmer par RT-PCR quantitative s'il existe une différence d'expression de SNCA, CHRNA4, FLT et GABARAPL2 dans les PBMC selon le sexe.

Si ces premiers résultats sont intéressants car ils montrent que la pathogénie de la MP serait en partie différente selon le sexe, nous avons également retrouvé de nombreux gènes

dérégulés chez les parkinsoniens sporadiques faisant partie de la liste des gènes dérégulés communs entre les études de Scherzer et collaborateurs (2007) et Shehadeh et collaborateurs (2010). Des gènes dont l'expression génique est différente chez les malades dans plusieurs études ont une dérégulation fortement en lien avec la MP et indépendamment des techniques de prélèvements, des plateformes de puces, des méthodes d'analyse statistique et des variabilités d'expression génique interindividuelles. Or, si l'on regarde l'expression de ces gènes selon le sexe, on constate que la plupart sont dérégulés uniquement chez les femmes parkinsoniennes contre un seul chez les hommes. Si la pathogénie de la MP sporadique n'est pas due à la dérégulation d'un seul gène, établir un profil d'expression de plusieurs gènes pourrait servir de biomarqueurs de la maladie. Il est donc très intéressant de voir que plusieurs de ces gènes sont dérégulés dans notre étude mais cela quasi-exclusivement chez les femmes. Les biomarqueurs de la MP pourraient donc être sexe-spécifiques, et cette donnée est essentielle pour les futurs travaux de recherche sur le sujet.

Quand on compare les analyses fSPvsfN et hSPvshN, on constate alors qu'il existe un nombre plus important de sondes dérégulées chez les femmes. Cette donnée est intéressante car cela veut dire qu'il y a moins de différence d'expression génique entre les hommes parkinsoniens et les témoins, laissant penser que ces derniers pourraient eux-mêmes déjà avoir des dérégulations de gènes potentiellement impliqués dans la pathogénie de la MP. Nous avons donc recherché les gènes dérégulés chez les hommes par rapport aux femmes à la fois chez les malades et les témoins. De façon intéressante, certains de ces gènes sont impliqués dans l'autophagie et la dynamique du cytosquelette. Il existe toutefois peu de gènes communs aux deux comparaisons hSPvsfSP et hNvsfN, ceci peut s'expliquer par le fait qu'il existe des différences d'expression génique entre hommes et femmes malades. L'analyse hSPvsfSP met donc en évidence des dérégulations à la fois en lien avec la maladie et le sexe. En revanche, les gènes uniquement dérégulés entre hommes et femmes témoins sont impliqués dans

l'autophagie, la mobilité du cytosquelette, la voie des protéines kinases A ou des sphingosines. Ces voies importantes sont également dérégulées lors de l'analyse des gènes sexe « spécifiques » dans la substance noire avec une majorité de gènes sous exprimés chez les hommes (Cantuti-Castelvetri *et al*., 2007) (figure 14).

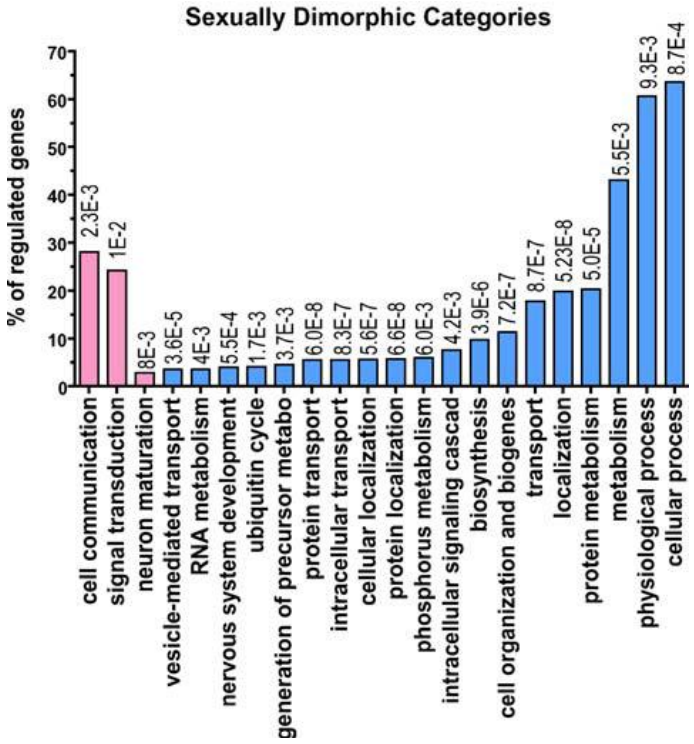



*Figure 14.* Voies métaboliques dans lesquelles sont impliquées les gènes dérégulés dits « sexe » spécifiques de la substance noire (communs entre hSPvsfSP et hNvsfN). En rose les gènes surexprimés chez la femme, en bleu les gènes sous exprimés chez les hommes (Cantuti-Castelvetri *et al*., 2007).

Ces données de transcriptomique sont confortées par les résultats d'analyse d'imagerie qui montrent que chez des témoins sains, il existe une meilleure fixation putaminale en scintigraphie cérébrale au DATScan® chez les femmes par rapport aux hommes pour les sujets de moins de 60 ans (Wong *et al*., 2012). De même, les études chez l'animal retrouvent une organisation topographique des neurones dopaminergiques différente entre rats mâles et femelles contrôles (Mc Arthur *et al*., 2007).

## 6. Influence du sexe dans d'autres pathologies neurologiques : exemple de la maladie d'Alzheimer et de la sclérose en plaques.

Contrairement à la MP, le sexe ratio dans la maladie d'Alzheimer (MA) est en défaveur des femmes. Cependant, l'âge de début de la MA est plus tardif que dans la MP, même si le processus neurodégénératif a déjà débuté plusieurs années avant le diagnostic. Ainsi, les femmes qui développent une MA présentent leurs premiers symptômes le plus souvent après la ménopause et la chute des œstrogènes périphériques et surtout centraux pourrait avoir un rôle dans la pathogénie de la MA (Yue *et al*., 2005). Des essais thérapeutiques avec des THS ont montré un effet bénéfique uniquement en cas de prise prolongée et précoce mais un effet délétère si le traitement est pris plus de 15 ans après la ménopause (Cui *et al*., 2013). Par ailleurs il existe une décroissance du nombre d'ERβ dans le cortex avec l'âge, et ceci est corrélé à l'altération cognitive (Frick *et al.*, 2009).

L'APP (amyloid precursor protein) peut être dégradée par la voie amyloïdogénique par les β et γ secrétase (production des peptides Aβ40/Aβ42) et par la voie non- amyloïdogénique (production de l'α-APP et de peptides non amyloïdes). Les œstrogènes diminueraient la production d'Aβ en stimulant la voie non-amyloïdogénique via ERK/MAPK, la phagocytose et les enzymes responsables de la dégradation de l'Aβ (Cui *et al*., 2013). Enfin, tout comme dans notre étude, l'étude du transcriptome dans la MA montre qu'une dérégulation des voies des récepteurs aux œstrogènes et aux androgènes tient une place centrale dans la pathogénie de la MA (Winkler *et al*., 2013).

Si les œstrogènes ont un effet protecteur dans les pathologies neurodégénératives, la sclérose en plaques (SEP) touche en majorité des jeunes femmes en âge de procréer avec un sexe ratio d'environ 3 pour 1 en défaveur des femmes (Bove *et al*., 2013). A des niveaux bas, les hormones sexuelles féminines favoriseraient les phénomènes inflammatoires, alors qu'à des

taux élevés comme lors des grossesses, ces hormones auraient au contraire un effet protecteur par diminution de la production de cytokines (Bove *et al.,* 2013). Ceci expliquerait la nette diminution des poussées de SEP lors des grossesses avec une aggravation parfois brutale après l'accouchement. Le risque de SEP augmenterait également en cas de premières règles précoces (Ramagopolan *et al*., 2009) et de première grossesse tardive (Holmqvist *et al*., 2010).

Les œstrogènes auraient donc de multiples actions à la fois sur le système nigro-strié mais également dans d'autres processus neurodégénératifs ou neuro-inflammatoires.

## 7. Un ensemble de facteurs hormonaux et génétiques faisant du sexe masculin un facteur de risque de la MP.

L'ensemble de nos résultats rejoignent donc l'hypothèse actuelle indiquant que les hommes auraient une susceptibilité plus importante à développer la MP du fait même de leur sexe avec une organisation structurelle cérébrale et une dérégulation de voies métaboliques différentes par rapport aux femmes. Ceci entraînerait une vulnérabilité plus importante aux processus pathogéniques de la MP (Gilles & McArthu*r*, 2010). Les différences d'expression génique selon le sexe de gènes autres que ceux en lien avec les chromosomes Y ou X pourraient donc expliquer pour une petite part le sexe ratio en défaveur des hommes dans la MP. Cependant, d'autres facteurs joueraient un rôle important comme les facteurs environnementaux même si nous avons trouvé que ces derniers étaient plus nombreux chez les femmes parkinsoniennes. Ce résultat est à pondérer du fait du faible effectif de témoins hommes, cependant on peut suggérer que l'homme ayant déjà un « terrain génétique » favorable à la MP, les facteurs environnementaux auraient moins d'influence que chez la femme. Enfin, les facteurs hormonaux, en particulier les œstrogènes permettraient de lutter contre la mort neuronale et

d’améliorer la transmission dopaminergique. Cet effet ne serait toutefois que modéré, et agirait lors du début du processus neurodégénératif donc probablement avant que le diagnostic de MP ne puisse être posé. Ceci expliquerait donc en partie un âge d’apparition plus tardif des premiers signes moteurs chez les femmes parkinsoniennes sporadiques. Il est très intéressant de noter que cette différence d’âge de début de la MP n’est retrouvée que chez les malades sporadiques, et pas chez les malades avec antécédents familiaux de MP ou porteurs d’une mutation délétère. Ceci n’avait pas été montré jusqu’alors, mais suggère que les facteurs environnementaux, hormonaux, et le poids du sexe seraient moindres par rapport au poids pathogénique du terrain génétique familial ou des mutations délétères.

# Conclusion

La MP est donc une pathologie avec non seulement un sexe ratio en défaveur des hommes, mais également un âge de début plus tardif de la maladie chez les femmes. Cette différence selon le sexe serait le fruit d'une interaction entre des facteurs environnementaux, des facteurs hormonaux mais également des facteurs génétiques avec plus précisément des différences d'expression génique selon le sexe. Les hommes auraient ainsi une plus grande vulnérabilité aux dérèglements cellulaires induits par la MP. Ces différences étiopathogéniques selon le sexe ne sont pas seulement retrouvées dans la MP, elles concerneraient également d'autres pathologies neurologiques comme la maladie d'Alzheimer ou la sclérose en plaques. Il parait essentiel de poursuivre ces recherches sur l'implication du sexe dans le processus pathologique de ces maladies, car elles pourraient nous permettre d'avoir une approche différente de la prise en charge des malades, qui ne serait non plus seulement pathologie spécifique mais également sexe spécifique.

# Références


- Al Sweidi S, Morissette M, Rouillard C, Di Paolo T. Estrogen receptors and lesion-induced response of striatal dopamine receptors. *Neuroscience*. 2013;236:99–109.

- Angot E, Steiner JA, Hansen C, Li J-Y, Brundin P. Are synucleinopathies prion-like disorders? *Lancet Neurol*. 2010;9(11):1128–1138.

- Arevalo MA, Diz-Chaves Y, Santos-Galindo M, Bellini MJ, Garcia-Segura LM. Selective oestrogen receptor modulators decrease the inflammatory response of glial cells. *J Neuroendocrinol*. 2012;24(1):183–190.

- Baba Y, Putzke JD, Whaley NR, Wszolek ZK, Uitti RJ. Gender and the Parkinson's disease phenotype. *J Neurol*. 2005;252(10):1201–1205.

- Baldereschi M, Di Carlo A, Rocca WA, Vanni P, Maggi S, Perissinotto E, et al. Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: two-fold higher incidence in men. ILSA Working Group. Italian Longitudinal Study on Aging. *Neurology*. 2000;55(9):1358–1363.

- Batelli S, Albani D, Rametta R, Polito L, Prato F, Pesaresi M, et al. DJ-1 modulates alpha-synuclein aggregation state in a cellular model of oxidative stress: relevance for Parkinson's disease and involvement of HSP70. *PLoS ONE*. 2008;3(4):e1884.

- Barbanti P, Fabbrini G, Ricci A, Cerbo R, Bronzetti E, Caronti B, et al. Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 1999;14(5):764–771.

- Bedard P, Langelier P, Villeneuve A. Oestrogens and extrapyramidal system. *Lancet*. 1977;2(8052-8053):1367–1368.

- Bellucci A, Navarria L, Zaltieri M, Falarti E, Bodei S, Sigala S, et al. Induction of the unfolded protein response by α-synuclein in experimental models of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2011;116(4):588–605.

- Benedetti MD, Maraganore DM, Bower JH, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, et al. Hysterectomy, menopause, and estrogen use preceding Parkinson's disease: an exploratory case-control study. *Mov Disord.* 2001;16(5):830–837.

- Blanchet PJ, Fang J, Hyland K, Arnold LA, Mouradian MM, Chase TN. Short-term effects of high-dose 17beta-estradiol in postmenopausal PD patients: a crossover study. *Neurology*. 1999;53(1):91–95.

- Blandini F, Sinforiani E, Pacchetti C, et al. Peripheral proteasome and caspase activity in Parkinson disease and Alzheimer disease. *Neurology*. 2006;66(4):529-534.

- Boldyrev A, Bryushkova E, Mashkina A, Vladychenskaya E. Why is homocysteine toxic for the nervous and immune systems? *Curr Aging Sci*. 2013;6(1):29–36.

- Bourque M, Dluzen DE, Di Paolo T. Neuroprotective actions of sex steroids in Parkinson's disease. *Front Neuroendocrinol*. 2009;30(2):142–157.

- Bourque M, Dluzen DE, Di Paolo T. Male/Female differences in neuroprotection and neuromodulation of brain dopamine. *Front Endocrinol* (Lausanne). 2011;2:35.

- Bove R, Chitnis T. Sexual disparities in the incidence and course of MS. *Clin Immunol*. 2013; doi: 10.1016.

- Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197–211.

- Brochard V, Combadière B, Prigent A, et al. Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J. Clin. Invest*.2009;119(1):182-192.

- Burbulla LF, Krüger R. Converging environmental and genetic pathways in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2011;306(1-2):1–8.

- Calì T, Ottolini D, Brini M. Calcium and endoplasmic reticulum-mitochondria tethering in neurodegeneration. *DNA Cell Biol*. 2013;32(4):140–146.

- Cantuti-Castelvetri I, Keller-McGandy C, Bouzou B, Asteris G, Clark TW, Frosch MP, et al. Effects of gender on nigral gene expression and parkinson disease. *Neurobiol Dis*. 2007;26(3):606–614.

- Caranci G, Piscopo P, Rivabene R, Traficante A, Riozzi B, Castellano AE, et al. Gender differences in Parkinson's disease: focus on plasma alpha-synuclein. *J Neural Transm*. 2013; 20(8):1209-1215.

- Casas S, Giuliani F, Cremaschi F, Yunes R, Cabrera R. Neuromodulatory effect of progesterone on the dopaminergic, glutamatergic, and GABAergic activities in a male rat model of Parkinson?s disease. *Neurol Res*. 2013;doi 10.1179/1743132812Y.0000000142.

- Cereda E, Barichella M, Pedrolli C, Klersy C, Cassani E, Caccialanza R, et al. Diabetes and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2013;28(2):257.

- Chao OY, Huston JP, von Bothmer A, Pum ME. Chronic progesterone treatment of male rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesion of the dorsal striatum exacerbates [corrected] parkinsonian symptoms. *Neuroscience*. 2011;196:228–236.

- Chartier-Harlin M-C, Dachsel JC, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Leprêtre F, Hulihan MM, et al. Translation initiator EIF4G1 mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 2011;89(3):398–406.

- Chen J-Q, Cammarata PR, Baines CP, Yager JD. Regulation of mitochondrial respiratory chain biogenesis by estrogens/estrogen receptors and physiological, pathological and pharmacological implications. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793(10):1540–1570.

- Cheng H-C, Ulane CM, Burke RE. Clinical progression in Parkinson disease and the neurobiology of axons. *Ann Neurol*. 2010;67(6):715–725.

- Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med*. 2013;19(3):197–209.

- Cunningham RL, Giuffrida A, Roberts JL. Androgens induce dopaminergic neurotoxicity via caspase-3-dependent activation of protein kinase Cdelta. *Endocrinology*. 2009;150(12):5539–5548.

- Cunningham RL, Macheda T, Watts LT, Poteet E, Singh M, Roberts JL, et al. Androgens exacerbate motor asymmetry in male rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesion. *Horm Behav*. 2011;60(5):617–624.

- De Lau LML, Giesbergen PCLM, de Rijk MC, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB. Incidence of parkinsonism and Parkinson disease in a general population: the Rotterdam Study. *Neurology*. 2004;63(7):1240–1244.

- De Rijk MC, Launer LJ, Berger K, Breteler MM, Dartigues JF, Baldereschi M, et al. Prevalence of Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based

cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*. 2000;54(11 Suppl 5):S21–23.

- Del Tredici K, Hawkes CH, Ghebremedhin E, Braak H. Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2010;119(6):703–713.

- Deleidi M, Gasser T. The role of inflammation in sporadic and familial Parkinson's disease. *Cell Mol Life Sci*. 2013;doi 10.1007/s00018-013-1352-y.

- Díaz NF, Díaz-Martínez NE, Velasco I, Camacho-Arroyo I. Progesterone increases dopamine neurone number in differentiating mouse embryonic stem cells. *J Neuroendocrinol*. 2009;21(8):730–736.

- Dluzen DE, McDermott JL, Anderson LI. Tamoxifen eliminates estrogen's neuroprotective effect upon MPTP-induced neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system. *Neurotox Res*. 2001;3(3):291–300.

- Driver JA, Smith A, Buring JE, Gaziano JM, Kurth T, Logroscino G. Prospective cohort study of type 2 diabetes and the risk of Parkinson's disease. *Diabetes Care*. 2008;31(10):2003–2005.

- Duke DC, Moran LB, Kalaitzakis ME, Deprez M, Dexter DT, Pearce RKB, et al. Transcriptome analysis reveals link between proteasomal and mitochondrial pathways in Parkinson's disease. *Neurogenetics*. 2006;7(3):139–148.

- Frick KM. Estrogens and age-related memory decline in rodents: what have we learned and where do we go from here? *Horm Behav*. 2009;55(1):2–23.

- Furtado S, Payami H, Lockhart PJ, Hanson M, Nutt JG, Singleton AA, et al. Profile of families with parkinsonism-predominant spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2). *Mov Disord*. 2004;19(6):622–629.

- Gao X, Dluzen DE. The effect of testosterone upon methamphetamine neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system. *Brain Res.* 2001;892(1):63–69.

- Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch. Neurol*. 1999;56(1):33-39.

- Gibb WR, Lees AJ. The significance of the Lewy body in the diagnosis of idiopathic Parkinson's disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol*. 1989;15(1):27-44.

- Gillies GE, McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacol Rev*. 2010;62(2):155–198.

- Giovino GA, Mirza SA, Samet JM, Gupta PC, Jarvis MJ, Bhala N, et al. Tobacco use in 3 billion individuals from 16 countries: an analysis of nationally representative cross-sectional household surveys. *Lancet*. 2012;380(9842):668–679.

- Gorostidi A, Bergareche A, Ruiz-Martínez J, Martí-Massó JF, Cruz M, Varghese S, et al. Alpha-synuclein levels in blood plasma from LRRK2 mutation carriers. *PLoS ONE*. 2012;7(12):e52312.

- Greene JG. Current status and future directions of gene expression profiling in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2012;45(1):76–82.

- Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, Oyen WJG, Leenders KL, Eshuis S, et al. Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2007;78(8):819–824.

- Hagemeier J, Geurts JJG, Zivadinov R. Brain iron accumulation in aging and neurodegenerative disorders. *Expert Rev Neurother*. 2012;12(12):1467–1480.

- Hatano T, Kubo S-ichiro, Sato S, Hattori N. Pathogenesis of familial Parkinson's disease: new insights based on monogenic forms of Parkinson's disease. *J. Neurochem*. 2009;111(5):1075-1093.

- Hauser DN, Hastings TG. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease and monogenic parkinsonism. *Neurobiol Dis*. 2013;51:35–42.

- Healy DG, Falchi M, O'Sullivan SS, et al. Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol*. 2008;7(7):583-590.

- Hernán MA, Takkouche B, Caamaño-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2002;52(3):276–284.

- Hilakivi-Clarke L, de Assis S, Warri A. Exposures to synthetic estrogens at different times during the life, and their effect on breast cancer risk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2013;18(1):25–42.

- Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M. Anti-aggregation and fibril-destabilizing effects of sex hormones on alpha-synuclein fibrils in vitro. *Exp Neurol*. 2009;217(2):434–439.

- Hirsch EC. Altered regulation of iron transport and storage in Parkinson's disease. *J Neural Transm* Suppl. 2006;(71):201–204.

- Holmqvist P, Hammar M, Landtblom A-M, Brynhildsen J. Age at onset of multiple sclerosis is correlated to use of combined oral contraceptives and childbirth before diagnosis. *Fertil Steril*. 2010;94(7):2835–2837.

- Hong D-P, Fink AL, Uversky VN. Smoking and Parkinson's disease: does nicotine affect alpha-synuclein fibrillation? *Biochim Biophys Acta*. 2009;1794(2):282–290.

- Hoozemans JJM, van Haastert ES, Eikelenboom P, de Vos RAI, Rozemuller JM, Scheper W. Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;354(3):707–711.

- Hu G, Antikainen R, Jousilahti P, Kivipelto M, Tuomilehto J. Total cholesterol and the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2008;70(21):1972–1979.

- Hu X-W, Qin S-M, Li D, Hu L-F, Liu C-F. Elevated homocysteine levels in levodopa-treated idiopathic Parkinson's disease: a meta-analysis. *Acta Neurol Scand*. 2013;128(2):73–82.

- Huang X, Auinger P, Eberly S, Oakes D, Schwarzschild M, Ascherio A, et al. Serum cholesterol and the progression of Parkinson's disease: results from DATATOP. *PLoS ONE*. 2011;6(8):e22854.

- Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, et al. Lewy body pathology involves cutaneous nerves. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2008;67(10):945–953.

- Jellinger KA. Synuclein deposition and non-motor symptoms in Parkinson disease. *J Neurol Sci*. 2011;310(1-2):107–111.

- Jeong H, Kim M-S, Kwon J, Kim K-S, Seol W. Regulation of the transcriptional activity of the tyrosine hydroxylase gene by androgen receptor. *Neurosci Lett.* 2006;396(1):57–61.

- Jiang H, Xie T, Ramsden DB, Ho SL. Human catechol-O-methyltransferase down-regulation by estradiol. *Neuropharmacology*. 2003;45(7):1011–1018.

- Johnson ML, Day AE, Ho CC, Walker QD, Francis R, Kuhn CM. Androgen decreases dopamine neurone survival in rat midbrain. J Neuroendocrinol. 2010;22(4):238–47.

- Karbowski M, Youle RJ. Regulating mitochondrial outer membrane proteins by ubiquitination and proteasomal degradation. *Curr Opin Cell Biol*. 2011;23(4):476–482.

- Klebe S, Golmard J-L, Nalls MA, Saad M, Singleton AB, Bras JM, et al. The Val158Met COMT polymorphism is a modifier of the age at onset in Parkinson's disease with a sexual dimorphism. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2013;84(6):666–673.

- Klink R, Robichaud M, Debonnel G. Gender and gonadal status modulation of dorsal raphe nucleus serotonergic neurons. Part II. Regulatory mechanisms. *Neuropharmacology*. 2002;43(7):1129–1138.

- Kotagal V, Albin RL, Müller MLTM, Koeppe RA, Frey KA, Bohnen NI. Gender differences in cholinergic and dopaminergic deficits in Parkinson disease. *J Neural Transm*. 2013;doi 10.1007/s00702-013-1013-1.

- Kumaran R, Vandrovcova J, Luk C, Sharma S, Renton A, Wood NW, et al. Differential DJ-1 gene expression in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2009;36(2):393–400.

- Lebouvier T, Chaumette T, Damier P, Coron E, Touchefeu Y, Vrignaud S, et al. Pathological lesions in colonic biopsies during Parkinson's disease. *Gut*. 2008;57(12):1741–1743.

- Lesage S, Condroyer C, Klebe S, Honoré A, Tison F, Brefel-Courbon C, et al. Identification of VPS35 mutations replicated in French families with Parkinson disease. *Neurology*. 2012;78(18):1449–1450.

- Li X-L, Cheng W-D, Li J, Zheng Y-F, Guo C-J, Sun S-G, et al. Does estrogen receptor gene polymorphism play a role in Parkinson's disease? *Biomed Pharmacother*. 2009;63(8):599–602.

- Lin X, Cook TJ, Zabetian CP, Leverenz JB, Peskind ER, Hu S-C, et al. DJ-1 isoforms in whole blood as potential biomarkers of Parkinson disease. *Sci Rep*. 2012;2:954.

- Liu X-B, Wang J-A, Yu SP, Keogh CL, Wei L. Therapeutic strategy of erythropoietin in neurological disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2008;7(3):227–234.

- Lyons KE, Hubble JP, Tröster AI, Pahwa R, Koller WC. Gender differences in Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol*. 1998;21(2):118–121.

- Madenci G, Bilen S, Arli B, Saka M, Ak F. Serum iron, vitamin B12 and folic acid levels in Parkinson's disease. *Neurochem Res*. 2012;37(7):1436–1441.

- Maharaj H, Maharaj DS, Daya S. Acetylsalicylic acid and acetaminophen protect against MPP+-induced mitochondrial damage and superoxide anion generation. *Life Sci*. 2006;78(21):2438–2443.

- Maita C, Tsuji S, Yabe I, Hamada S, Ogata A, Maita H, et al. Secretion of DJ-1 into the serum of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2008;431(1):86–89.

- Markett S, Reuter M, Montag C, Weber B. The dopamine D2 receptor gene DRD2 and the nicotinic acetylcholine receptor gene CHRNA4 interact on striatal gray matter volume: evidence from a genetic imaging study. *Neuroimage*. 2013;64:167–172.

- Marwarha G, Rhen T, Schommer T, Ghribi O. The oxysterol 27-hydroxycholesterol regulates α-synuclein and tyrosine hydroxylase expression levels in human neuroblastoma cells through modulation of liver X receptors and estrogen receptors--relevance to Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2011;119(5):1119–1136.

- McArthur S, Murray HE, Dhankot A, Dexter DT, Gillies GE. Striatal susceptibility to a dopaminergic neurotoxin is independent of sex hormone effects on cell survival and DAT expression but is exacerbated by central aromatase inhibition. *J Neurochem*. 2007;100(3):678–692.

- McArthur S, Gillies GE. Peripheral vs. Central Sex Steroid Hormones in Experimental Parkinson's Disease. *Front Endocrinol* (Lausanne). 2011;2:82.

- McDonnell DP, Dana SL, Hoener PA, Lieberman BA, Imhof MO, Stein RB. Cellular mechanisms which distinguish between hormone- and antihormone-activated estrogen receptor. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;761:121–137.

- Mitra SW, Hoskin E, Yudkovitz J, Pear L, Wilkinson HA, Hayashi S, et al. Immunolocalization of estrogen receptor beta in the mouse brain: comparison with estrogen receptor alpha. *Endocrinology*. 2003;144(5):2055-2067.

- Miyake Y, Tanaka K, Fukushima W, Sasaki S, Kiyohara C, Tsuboi Y, et al. Case-control study of risk of Parkinson's disease in relation to hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes in Japan. *J Neurol Sci*. 2010;293(1-2):82–86.

- Mullett SJ, Di Maio R, Greenamyre JT, Hinkle DA. DJ-1 expression modulates astrocyte-mediated protection against neuronal oxidative stress. *J Mol Neurosci*. 2013;49(3):507–511.

- Murray HE, Pillai AV, McArthur SR, Razvi N, Datla KP, Dexter DT, et al. Dose- and sex-dependent effects of the neurotoxin 6-hydroxydopamine on the nigrostriatal dopaminergic pathway of adult rats: differential actions of estrogen in males and females. *Neuroscience*. 2003;116(1):213–222.

- Mutez E, Larvor L, Leprêtre F, et al. Transcriptional profile of Parkinson blood mononuclear cells with LRRK2 mutation. *Neurobiol. Aging*. 2011;32(10):1839-1848.

- Nicoletti A, Arabia G, Pugliese P, Nicoletti G, Torchia G, Condino F, et al. Hormonal replacement therapy in women with Parkinson disease and levodopa-induced dyskinesia: a crossover trial. *Clin Neuropharmacol*. 2007;30(5):276–280.

- Nicoletti A, Nicoletti G, Arabia G, Annesi G, De Mari M, Lamberti P, et al. Reproductive factors and Parkinson's disease: a multicenter case-control study. *Mov Disord*. 2011;26(14):2563–2566.

- Numakawa T, Matsumoto T, Numakawa Y, Richards M, Yamawaki S, Kunugi H. Protective Action of Neurotrophic Factors and Estrogen against Oxidative Stress-Mediated Neurodegeneration. *J Toxicol*. 2011;doi 405194.

- Okun MS, Fernandez HH, Rodriguez RL, Romrell J, Suelter M, Munson S, et al. Testosterone therapy in men with Parkinson disease: results of the TEST-PD Study. *Arch Neurol*. 2006;63(5):729–735.

- Okun MS, Walter BL, McDonald WM, Tenover JL, Green J, Juncos JL, et al. Beneficial effects of testosterone replacement for the nonmotor symptoms of Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2002;59(11):1750–1753.

- Orr-Urtreger A, Shifrin C, Rozovski U, Rosner S, Bercovich D, Gurevich T, et al. The LRRK2 G2019S mutation in Ashkenazi Jews with Parkinson disease: is there a gender effect? *Neurology*. 2007;69(16):1595–1602.

- Osterlund MK, Gustafsson JA, Keller E, Hurd YL. Estrogen receptor beta (ERbeta) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression within the human forebrain: distinct distribution pattern to ERalpha mRNA. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(10):3840–3846.

- Ozelius LJ, Senthil G, Saunders-Pullman R, et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N. Engl. J. Med*. 2006;354(4):424-425.

- Parkinson Study Group POETRY Investigators. A randomized pilot trial of estrogen replacement therapy in post-menopausal women with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2011;17(10):757–760.

- Paruthiyil S, Cvoro A, Tagliaferri M, Cohen I, Shtivelman E, Leitman DC. Estrogen receptor β causes a G2 cell cycle arrest by inhibiting CDK1 activity through the regulation of cyclin B1, GADD45A, and BTG2. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;129(3):777–784.

- Popat RA, Van Den Eeden SK, Tanner CM, McGuire V, Bernstein AL, Bloch DA, et al. Effect of reproductive factors and postmenopausal hormone use on the risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2005;65(3):383–390.

- Ragonese P, D'Amelio M, Salemi G, Aridon P, Gammino M, Epifanio A, et al. Risk of Parkinson disease in women: effect of reproductive characteristics. *Neurology*. 2004;62(11):2010–2014.

- Ragonese P, Salemi G, Morgante L, Aridon P, Epifanio A, Buffa D, et al. A case-control study on cigarette, alcohol, and coffee consumption preceding Parkinson's disease. *Neuroepidemiology*. 2003;22(5):297–304.

- Ragonese P, D'Amelio M, Savettieri G. Implications for estrogens in Parkinson's disease: an epidemiological approach. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1089:373–382.

- Ramagopalan SV, Valdar W, Criscuoli M, DeLuca GC, Dyment DA, Orton S-M, et al. Age of puberty and the risk of multiple sclerosis: a population based study. *Eur J Neurol*. 2009;16(3):342–347.

- Rideout HJ, Dietrich P, Wang Q, Dauer WT, Stefanis L. alpha-synuclein is required for the fibrillar nature of ubiquitinated inclusions induced by proteasomal inhibition in primary neurons. *J Biol Chem*. 2004;279(45):46915–46920.

- Rideout HJ, Stefanis L. The Neurobiology of LRRK2 and its Role in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Neurochem Res*. 2013;doi 10.1007/s11064-013-1073-5.

- Ritz B, Ascherio A, Checkoway H, Marder KS, Nelson LM, Rocca WA, et al. Pooled analysis of tobacco use and risk of Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2007;64(7):990–997.

- Riveles K, Huang LZ, Quik M. Cigarette smoke, nicotine and cotinine protect against 6-hydroxydopamine-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *Neurotoxicology*. 2008;29(3):421–427.

- Rosario ER, Chang L, Head EH, Stanczyk FZ, Pike CJ. Brain levels of sex steroid hormones in men and women during normal aging and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2011;32(4):604–613.

- Rugbjerg K, Christensen J, Tjønneland A, Olsen JH. Exposure to estrogen and women's risk for Parkinson's disease: a prospective cohort study in Denmark. *Parkinsonism Relat Disord*. 2013;19(4):457–460.

- San Luciano M, Ozelius L, Lipton RB, Raymond D, Bressman SB, Saunders-Pullman R. Gender differences in the IL6 -174G>C and ESR2 1730G>A polymorphisms and the risk of Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2012;506(2):312–316.

- Santiago JA, Potashkin JA. Shared dysregulated pathways lead to Parkinson's disease and diabetes. *Trends Mol Med*. 2013;19(3):176–186.

- Savica R, Grossardt BR, Carlin JM, Icen M, Bower JH, Ahlskog JE, et al. Anemia or low hemoglobin levels preceding Parkinson disease: a case-control study. *Neurology*. 2009;73(17):1381–1387.

- Savica R, Grossardt BR, Bower JH, Ahlskog JE, Rocca WA. Risk factors for Parkinson's disease may differ in men and women: an exploratory study. *Horm Behav*. 2013;63(2):308–314.

- Schapira AH, Jenner P. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2011;26(6):1049–1055.

- Scherzer CR, Eklund AC, Morse LJ, Liao Z, Locascio JJ, Fefer D, et al. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(3):955–1960.

- Schultz KN, von Esenwein SA, Hu M, Bennett AL, Kennedy RT, Musatov S, et al. Viral vector-mediated overexpression of estrogen receptor-alpha in striatum enhances the estradiol-induced motor activity in female rats and estradiol-modulated GABA release. *J Neurosci*. 2009;29(6):1897–1903.

- Scott B, Borgman A, Engler H, Johnels B, Aquilonius SM. Gender differences in Parkinson's disease symptom profile. *Acta Neurol Scand*. 2000;102(1):37–43.

- Shehadeh LA, Yu K, Wang L, Guevara A, Singer C, Vance J, et al. SRRM2, a potential blood biomarker revealing high alternative splicing in Parkinson's disease. *PLoS ONE*. 2010;5(2):e9104.

- Shi M, Zabetian CP, Hancock AM, Ginghina C, Hong Z, Yearout D, et al. Significance and confounders of peripheral DJ-1 and alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2010;480(1):78–82.

- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2009;361(17):1651–1661.

- Simon KC, Chen H, Gao X, Schwarzschild MA, Ascherio A. Reproductive factors, exogenous estrogen use, and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2009;24(9):1359–1365.

- Simon KC, Chen H, Schwarzschild M, Ascherio A. Hypertension, hypercholesterolemia, diabetes, and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2007;69(17):1688–1695.

- Simunovic F, Yi M, Wang Y, Stephens R, Sonntag KC. Evidence for gender-specific transcriptional profiles of nigral dopamine neurons in Parkinson disease. *PLoS ONE*. 2010;5(1):e8856.

- Solla P, Cannas A, Ibba FC, Loi F, Corona M, Orofino G, et al. Gender differences in motor and non-motor symptoms among Sardinian patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2012;323(1-2):33–39.

- Soreq L, Israel Z, Bergman H, Soreq H. Advanced microarray analysis highlights modified neuro-immune signaling in nucleated blood cells from Parkinson's disease patients. *J. Neuroimmunol.* 2008;201-202:227-236.

- Stefanis L, Larsen KE, Rideout HJ, Sulzer D, Greene LA. Expression of A53T mutant but not wild-type alpha-synuclein in PC12 cells induces alterations of the ubiquitin-dependent degradation system, loss of dopamine release, and autophagic cell death. *J Neurosci*. 2001;21(24):9549–9560.

- Steinlein OK. Nicotinic acetylcholine receptors and epilepsy. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2002;1(4):443–448.

- Tan E-K, Tan LCS. Holding on to statins in Parkinson disease. *Neurology*. 2013;81(5):406–407.

- Tao Q, Fan X, Li T, Tang Y, Yang D, Le W. Gender segregation in gene expression and vulnerability to oxidative stress induced injury in ventral mesencephalic cultures of dopamine neurons. *J Neurosci Res*. 2012;90(1):167–178.

- Thiriez C, Villafane G, Grapin F, Fenelon G, Remy P, Cesaro P. Can nicotine be used medicinally in Parkinson's disease? *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2011;4(4):429–436.

- Triantafyllou NI, Nikolaou C, Boufidou F, Angelopoulos E, Rentzos M, Kararizou E, et al. Folate and vitamin B12 levels in levodopa-treated Parkinson's disease patients: their relationship to clinical manifestations, mood and cognition. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14(4):321–325.

- Tsang KL, Ho SL, Lo SK. Estrogen improves motor disability in parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations. Neurology. 2000 Jun 27;54(12):2292–8.

- Twelves D, Perkins KSM, Counsell C. Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2003;18(1):19–31.

- Undela K, Gudala K, Malla S, Bansal D. Statin use and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis of observational studies. *J Neurol*. 2013;260(1):158–165.

- Vosler PS, Brennan CS, Chen J. Calpain-mediated signaling mechanisms in neuronal injury and neurodegeneration. *Mol Neurobiol.* 2008;38(1):78–100.

- Waragai M, Nakai M, Wei J, Fujita M, Mizuno H, Ho G, et al. Plasma levels of DJ-1 as a possible marker for progression of sporadic Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2007;425(1):18–22.

- Westberg L, Håkansson A, Melke J, Shahabi HN, Nilsson S, Buervenich S, et al. Association between the estrogen receptor beta gene and age of onset of Parkinson's disease. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(8):993–998.

- Winkler JM, Fox HS. Transcriptome meta-analysis reveals a central role for sex steroids in the degeneration of hippocampal neurons in Alzheimer's disease. *BMC Syst Biol*. 2013;7:51.

- Wirdefeldt K, Adami H-O, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol*. 2011;26 Suppl 1:S1–58.

- Wong KK, Müller MLTM, Kuwabara H, Studenski SA, Bohnen NI. Gender differences in nigrostriatal dopaminergic innervation are present at young-to-middle but not at older age in normal adults. *J Clin Neurosci*. 2012;19(1):183–184.

- Yadav R, Shukla G, Goyal V, Singh S, Behari M. A case control study of women with Parkinson's disease and their fertility characteristics. *J Neurol Sci*. 2012;319(1-2):135–138.

- Yue X, Lu M, Lancaster T, Cao P, Honda S-I, Staufenbiel M, et al. Brain estrogen deficiency accelerates Abeta plaque formation in an Alzheimer's disease animal model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(52):19198–19203.

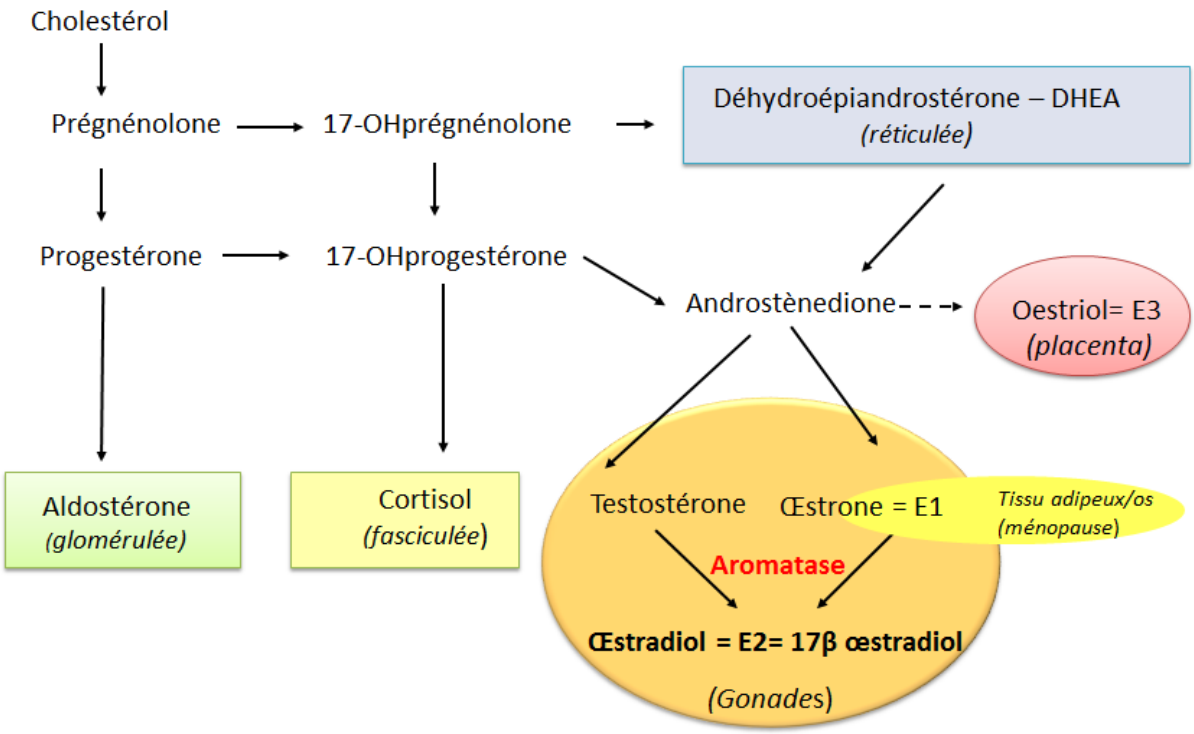
- Zoccolella S, dell' Aquila C, Specchio LM, Logroscino G, Lamberti P. Elevated homocysteine levels in Parkinson's Disease: is there anything besides L-dopa treatment? *Curr Med Chem*. 2010;17(3):213–221.

# Annexes

*Annexe 1*. Liste des gènes « clés » de la MP (Simunovic *et al*. , 2010)

| **Key genes associated with PD.** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Gene Symbol | Description | All[1] p<0.01 | Males p<0.01 | Males p<0.05 | Fem p<0.01 | Fem p<0.05 |
| ***Genes associated with PCD and mitochondrial function*** | | | | | | |
| TNFRSF1 | tumor necrosis factor receptor 1A | 0 | 0 | 0 | 1.25 | 1.26 |
| PINK1 | PTEN induced putative kinase 1 | −2.08 | −1.85 | −1.82 | 0 | −2.55 |
| SOD1 | superoxide dismutase 1, soluble | −3.44 | −3.44 | −3.44 | 0 | 0 |
| PARK7 | Parkinson disease 7 | −7.14 | −9.09 | −8.37 | 0 | 0 |
| NDUFA6 | NADH dehydrogenase 6, 14 kDa | −1.80 | 0 | −2.19 | −1.56 | −2.07 |
| NDUFB8 | NADH dehydrogenase 8, 19 kDa | −7.14 | −5.55 | −3.00 | 0 | −10.96 |
| CYP1A1 | cytochrome P450, family 1, subfamily A | 1.2 | 0 | 0 | 1.36 | 1.36 |
| CYP2C9 | cytochrome P450 family 2 subfamily C | 0 | 1.23 | 1.23 | 0 | 0 |
| APAF1 | apoptotic peptidase activating 1 | 1.35 | 1.41 | 1.4 | 0 | 0 |
| GSTA4 | glutathione S-transferase A4 | −1.38 | −1.38 | −1.38 | 0 | 0 |
| ***Genes associated with protein degradation*** | | | | | | |
| SNCA | synuclein, alpha | −1.88 | −2.12 | −1.12 | 0 | −1.84 |
| PSMA7 | proteasome alpha, 7 | −1.72 | 0 | 0 | −1.78 | −1.77 |
| HSP90AA | heat shock protein 90 kDa alpha | −2.70 | −3.33 | −3.46 | 0 | 0 |
| HSPA8 | heat shock 70 kDa protein 8 | −2.77 | −3.70 | −1.35 | 0 | 0 |
| LAMP1 | lysosomal-associated membrane protein 1 | 0 | 0 | 0 | −12.50 | −11.50 |
| PPARD | peroxisome proliferator-activated receptor δ | 0 | 1.2 | 1.2 | 0 | 0 |
| ***Growth factors, receptors and ion channels*** | | | | | | |
| DRD1 | dopamine receptor D1 | 0 | 0 | 0 | 1.37 | 1.37 |
| DRD2 | dopamine receptor D2 | 1.26 | 1.32 | 1.32 | 1.32 | 1.32 |
| CHRNA4 | cholinergic receptor, nicotinic,alpha 4 | 1.25 | 1.22 | 1.22 | 1.4 | 1.4 |
| GABARAPL2 | GABA(A) receptor-associated protein-like 2 | −1.53 | −1.51 | −1.50 | 0 | −1.54 |
| GRIN2B | glutamate receptor, NMDA 2B | 1.27 | 1.27 | 1.27 | 0 | 1.25 |
| TGFB2 | transforming growth factor, beta 2 | 1.24 | 0 | 1.24 | 1.33 | 1.33 |
| KCNN3 | potassium intermediate/small conductance Ca-activating channel, subfamily N, member 3 | 0 | 0 | 0 | −1.92 | −1.91 |
| SLC24A3 | solute carrier family 24 (Na/K/Ca exchanger) | 0 | −1.56 | −1.55 | 0 | 0 |
| SLC6A4 | solute carrier family 6 (serotonin) | 0 | 0 | 0 | 1.33 | 1.33 |
| CCK | cholecystokinin | −1.23 | −1.31 | −1.30 | 0 | 0 |
| CCKAR | cholecystokinin A receptor | 1.31 | 1.31 | 1.31 | 0 | 0 |
| VDR | vitamin D receptor | 1.39 | 1.39 | 1.39 | 0 | 1.31 |
| FYN | FYN oncogene related to SRC, FGR, YES | −1.19 | −1.19 | −1.19 | 0 | −1.92 |
| RIPK2 | receptor-interacting serine-threonine kinase 2 | 1.29 | 0 | 0 | 1.29 | 1.29 |
| ***Other*** | | | | | | |
| MAPT | microtubule-associated protein tau | −5 | 0 | 0 | −5 | −4.9 |
| FTH1 | ferritin, heavy polypeptide 1 | −2.81 | −2.77 | −2.74 | 0 | 0 |
| FTL | ferritin, light polypeptide | −1.88 | −1.81 | −1.80 | 0 | 0 |
| PPP1R3A | protein phosphatase 1, regulatory 3A | 1.25 | 1.24 | 1.24 | 0 | 0 |
| PPP3CA | protein phosphatase 3 alpha | −2.56 | −3.03 | −2.94 | 0 | 0 |
| ST13 | supp. of tumorigenicity 13 | −1.67 | 0 | 0 | −1.64 | −1.67 |

*Annexe 2*. Physiologie de la synthèse des hormones stéroïdes sexuelles



*Annexe 3*. Voies canoniques dérégulées identifiées par IPA® pour l'analyse de la population totale des parkinsoniens vs l'ensemble des témoins (allPDvsallN).

| Voies canoniques | Valeur de p |
|---|---|
| Pathologie respiratoire de type broncho-pneumopathie obstructive chronique | 0,0026 |
| Signalisation du récepteur de l'Aryl Hydrocarbone | 0,0026 |
| Signalisation de TREM1 | 0,003 |
| Interactions de l'Agrin au niveau de la jonction neuromusculaire | 0,0036 |
| Régulation des cyclines et du cycle cellulaire | 0,0054 |
| Signalisation d'EIF2 | 0,0055 |
| Biosynthèse du 3-phosphoinositide | 0,0095 |
| Métabolisme du D-myo-inositol-5-phosphate | 0,015 |
| Regulation des mécanismes cellulaire par la portéase calpaine | 0,016 |
| Signalisation de RhoA | 0,017 |
| Voie des composants de l'Inositol Phosphate | 0,018 |
| Signalisation du cytosquelette d'actine | 0,019 |
| Biosynthèse V du 1D-myo-inositol Hexakisphosphate (à partir du Ins(1,3,4)P3) | 0,019 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (1,4,5)-Trisphosphate | 0,021 |
| Signalisation du Calcium | 0,023 |
| Signalisation de Rac | 0,023 |
| Hématopoïèse à partir de cellules souches pluripotentes | 0,023 |
| Détoxification médiée par la Glutathione | 0,026 |
| Rôle de NFAT dans la regulation de la réponse immunitaire | 0,026 |
| Signalisation par la famille des Rho GTPases | 0,026 |
| Cycle cellulaire: regulation de la transition G1/S | 0,028 |
| Signalisation des récepteurs aux glucocorticoïdes | 0,029 |
| Signalisation de RhoGDI | 0,029 |
| Signalisation du diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of Young) | 0,032 |
| Assemblage du complexe I de la RNA Polymerase I | 0,033 |
| Biosynthèse II de l'hème | 0,033 |
| Transformations des Folates | 0,033 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (1,4,5,6)-Tetrakisphosphate | 0,035 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (3,4,5,6)-tetrakisphosphate | 0,035 |
| Inflammation des voies respiratoires dans l'asthme | 0,037 |
| Shunt glycolytique de Rapoport-Luebering | 0,037 |
| Biosynthèse du cofacteur Molybdenum | 0,037 |
| Communication entre les cellules immunitaire innées et adaptatives | 0,038 |
| Développement des lymphocytes B | 0,046 |
| Signalisation PI3k/Akt | 0,049 |

*Annexe 4.* Voies canoniques dérégulées identifiées par IPA® dans l'analyse des femes parkinsoniennes sporadiques vs les femmes témins (fSPvsfN).

| Voies canoniques | Valeur de p |
|---|---|
| Signalisation de la Phospholipase C | 0,00013 |
| Mécanismes moléculaires du cancer | 0,00013 |
| Signalisation du PEDF | 0,00068 |
| Activation de PPARα/RXRα | 0,0007 |
| Signalisation du récepteur de l'Aryl Hydrocarbone | 0,0009 |
| Signalisation de l'immunodéficience primaire | 0,001 |
| Signalisation des récepteurs des glucocorticoides | 0,0011 |
| Intereaction entre les cellules dendritiques et les cellules natural killer | 0,0012 |
| Signalisation de PI3K/AKT | 0,0013 |
| Remodelage de la junction et de l'adhérence épithéliale | 0,0013 |
| Signalisation du cancer de la thyroïde | 0,0013 |
| Régulation de l'expression IL-2 dans l'activation et l'anergie des lymphocytesT | 0,0021 |
| Voie du stress du réticulum endosplasmique | 0,0026 |
| Signalisation des protéines Kinase A | 0,0027 |
| Signalisation des récepteurs des lymphocytes T | 0,0028 |
| Fonction tumorigène des cellules hépatiques natural killer | 0,0028 |
| Hematopoïèse à partir de cellules souchez pluripotentes | 0,0029 |
| Induction de l'apoptose par VIH1 | 0,0032 |
| Signalisation du cancer de la prostate | 0,0035 |
| Signalisation ERK/MAPK | 0,004 |
| Développement des lymphocytes B | 0,004 |
| Signalisation de Wnt/β-catenine | 0,0044 |
| Signalisation de la guidance axonale | 0,0045 |
| Rôle anti-prolifératif de TOB dans les lymphocytes T | 0,0046 |
| Signalisation de la leucémie myeloïde chronique | 0,0048 |
| Signalisation de PPAR | 0,0048 |
| Régulation du cycle cellulaire: G1/S | 0,0048 |
| Signalisation des androgènes | 0,0054 |
| Régulation du cancer du sein par Stathmine 1 | 0,0058 |
| Signalisation de l'apoptose | 0,0062 |
| Régulation des cyclines et du cycle cellulaire | 0,0063 |
| Signalisation de l'endocytose médiée par les cavéoles | 0,0079 |
| Signalisation des récepteurs de mort | 0,0079 |
| Signalisation de l'hypoxie dans le système cardio-vasculaire | 0,0081 |
| Rôle ode NFAT dans la regulation de la réponse immunitaire | 0,0085 |
| Régulation de la Dopamine-DARPP32 dans la signalisation de l'AMPc | 0,0093 |
| Cycle cellulaire: G2/M regulation de la réparation de l'ADN | 0,0095 |

| | |
|---|---|
| Signalisation de la jonction et de l'adhérence des cellules épithéliales | 0,01 |
| Signalisation d'IL-1 | 0,01 |
| Signalisation médiée par April | 0,012 |
| Signalisation de Granzyme A | 0,012 |
| Signalisation des pathologies thyroïdiennes auto-immunes | 0,015 |
| Signalisation du facteur d'activation des lymphocytes B | 0,016 |
| Rôle des Ostéoblastes, Ostéoclastes and Chondrocytes dans la polyarthrite rhumatoïde | 0,016 |
| Signalisation iCOS-iCOSL dans les cellules T Helper | 0,016 |
| Signalisation de ERK5 | 0,017 |
| Signalisation du diabète de type 1 | 0,018 |
| Signalisation du récepteur de l'Ephrine | 0,02 |
| Signalisation d'EIF2 | 0,02 |
| Signalisation Tec Kinase | 0,02 |
| Signalisation de l'apoptose médiée par Myc | 0,021 |
| Signalisation du rythme circadien | 0,021 |
| Signalisation de la méthylation de l'ADN et de l'inhibition de la transcription | 0,022 |
| Signalisation des récepteurs des lymphocytes B | 0,025 |
| Interaction de l'Agrine à la jonction neuromusculaire | 0,025 |
| Signalisation de l'extravasation des leucocytes | 0,026 |
| Signalisation de la Neureguline | 0,032 |
| Apoptose des lymphocytes T induite par les lymphocytes T | 0,032 |
| Signalisation de RhoGDI | 0,032 |
| Régulation des polyamines dans le cancer du côlon | 0,032 |
| Signalisation du cancer pulmonaire à petites cellules | 0,033 |
| Signalisation de l'adénocarcinome pancréatique | 0,033 |
| Transformations I des Folates | 0,034 |
| Signalisation médiée par la 14-3-3 | 0,035 |
| Signalisation de Notch | 0,036 |
| Voie de l'ubiquitination des protéines | 0,037 |
| Signalisation jonction Gap | 0,037 |
| Dégradation du α-tocopherol | 0,037 |
| Signalisation des cellules natural Killer | 0,041 |
| Signalisation des Telomerases | 0,042 |
| Signalisation du TGF-β | 0,044 |
| Signalisation de l'Ephrin B | 0,044 |
| Production de l'oxide nitric and et de ROS dans les Macrophages | 0,045 |
| Regulation des mécanismes cellulaires par les protéases calpaïnes | 0,047 |
| Signalisation du calcium | 0,047 |
| Voie de signalisation du récepteur de P2Y Purigenic | 0,049 |

*Annexe 5.* Voies canoniques régulées identifiées par IPA® dans l'analyse des hommes parkinsoniens sporadiques vs les hommes témoins (hSPvhN).

| Voies canoniques | Valeur de p |
|---|---|
| Signalisation des cellules Natural Killer | 0,00032 |
| Communication entre les cellules dendritiques et les cellules Natural Killer | 0,00055 |
| Signalisation de Rac | 0,00056 |
| Nucléation de l'Actine par le complexe ARP-WASP | 0,00068 |
| Signalisation de la Neureguline | 0,0016 |
| Signalisation de GM-CSF | 0,0016 |
| Signalisation de PI3K dans les lymphocytes B | 0,0041 |
| Biosynthèse du 3-phosphoinositide | 0,0059 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (1,4,5,6)-Tetrakisphosphate | 0,0069 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (3,4,5,6)-tetrakisphosphate | 0,0069 |
| Métabolisme du D-myo-inositol-5-phosphate | 0,0072 |
| Phagocytose des macrophages médiée par le récepteur Fcγ | 0,0076 |
| Signalisation de fMLP dans les neutrophiles | 0,0083 |
| Signalisation de la thrombopoïetine | 0,01 |
| Régulation du cancer du sein par Stathmine1 | 0.,011 |
| Shunt glycolytique de Rapoport-Luebering | 0,011 |
| Signalisation de CCR3 dans les éosinophiles | 0,012 |
| Signalisation d'IL-3 | 0,012 |
| Rôle d'Oct4 dans les cellules souches embryonnaires | 0,013 |
| Signalisation du cytosquelette d'actine | 0,013 |
| Signalisation de la prolactine | 0,014 |
| Signalisation de la phospholipase C | 0,015 |
| Sognalisation de l'oncostatine M | 0,015 |
| Voie de l'entrée des virus via l'endocytose | 0,016 |
| Potentialisation synaptique à long terme | 0,016 |
| Dégradation 3-phosphoinositide | 0,018 |
| Signalisation de ERK/MAPK | 0,019 |
| Apoptose des lymphocytes T médiée par le calcium | 0,019 |
| Rôle de JAK1 et JAK3 dans la signalisation des cytokines | 0,019 |
| Signalisation de la Ceramide | 0,024 |
| Dégradation de l'Isoleucine | 0,026 |
| Signalisation de l'érythropoietine | 0,027 |
| Régulation de la mobilité de l'actine par Rho | 0,027 |
| Signalisation de la Macropinocytose | 0,029 |
| Signalisation des chemokines | 0,031 |
| Cycle γ-glutamyl | 0,031 |
| Voie des composants de l'Inositol Phosphate | 0,035 |
| Signalisation du PEDF | 0,035 |
| Signalisation d'UVC induite par MAPK | 0,035 |
| Signalisation de CDK5 | 0,039 |
| Signalisation de α-Adrenergic | 0,039 |

| | |
|---|---|
| Signalisation de G Beta Gamma | 0,042 |
| Dégradation de la Valine | 0,042 |
| Activation de NF-κB par les virus | 0,044 |
| Signalisation des récepteurs de l'Ephrine | 0,045 |
| Biosynthèse de la Citrulline | 0,045 |
| Voie de signalisation de BMP | 0,046 |
| Communication entre les cellules immunitaires innées et adaptatives | 0,046 |
| Signalisation de Granzyme A | 0,048 |
| Signalisation HER-2 dans le cancer du sein | 0,049 |

*Annexe 6.* Liste des gènes dits « spécifiques » de la MP (communs aux analyses hSPvshN et fSPvsfN mais non retrouvés dans les analyses hSPvsfSP et hNvsfN).

| Gene ID | Nom (Entrez Gene) | FC hSPvshN | FC fSPvsfN |
|---|---|---|---|
| ABHD8 | abhydrolase domain containing 8 | 1,377 | 1,309 |
| ACAD8 | acyl-CoA dehydrogenase family, member 8 | -1,269 | -1,258 |
| ACADSB | acyl-CoA dehydrogenase, short/branched chain | 1,348 | 1,399 |
| ACAP1 | ArfGAP with coiled-coil, ankyrin repeat and PH domains 1 | 1,498 | 1,554 |
| ACAP3 | ArfGAP with coiled-coil, ankyrin repeat and PH domains 3 | 1,652 | 1,850 |
| AK3 | adenylate kinase 3 | -1,541 | -1,408 |
| ANKRD36 | ankyrin repeat domain 36 | -1,290 | -1,314 |
| ANP32E | acidic (leucine-rich) nuclear phosphoprotein 32 family, member E | -1,709 | -1,364 |
| AP1S3 | adaptor-related protein complex 1, sigma 3 subunit | -1,613 | -1,912 |
| AP4S1 | adaptor-related protein complex 4, sigma 1 subunit | -1,567 | -1,344 |
| APEX1 | APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1 | 1,312 | 1,363 |
| ARF4 | ADP-ribosylation factor 4 | -1,335 | -1,230 |
| ARHGEF11 | Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 11 | 1,506 | 1,262 |
| ARL14EP | ADP-ribosylation factor-like 14 effector protein | -1,481 | -1,555 |
| ARL5A | ADP-ribosylation factor-like 5A | -1,427 | -1,314 |
| ATP10B | ATPase, class V, type 10B | 1,900 | 2,204 |
| ATP5E | ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit | -1,435 | -1,490 |
| ATXN10 | ataxin 10 | 1,795 | 2,522 |
| BCAS2 | breast carcinoma amplified sequence 2 | -1,437 | -1,233 |
| BCAT2 | branched chain amino-acid transaminase 2, mitochondrial | 1,668 | 1,321 |
| BCCIP | BRCA2 and CDKN1A interacting protein | -1,297 | -1,404 |
| BCLAF1 | BCL2-associated transcription factor 1 | -1,236 | -1,202 |
| BEST1 | bestrophin 1 | 1,349 | 1,745 |
| BRMS1L | breast cancer metastasis-suppressor 1-like | -1,295 | -1,252 |
| BUB3 | BUB3 mitotic checkpoint protein | -1,650 | -1,443 |
| C18orf32 | chromosome 18 open reading frame 32 | -1,529 | -1,529 |
| C3orf17 | chromosome 3 open reading frame 17 | 1,339 | 1,263 |
| C7orf73 | chromosome 7 open reading frame 73 | -1,767 | -1,590 |
| CACYBP | calcyclin binding protein | -1,362 | -1,344 |
| CAND1 | cullin-associated and neddylation-dissociated 1 | -1,499 | -1,229 |
| CCAR1 | cell division cycle and apoptosis regulator 1 | -1,348 | -1,266 |
| CD4 | CD4 molecule | 1,345 | 1,492 |
| CDH24 | cadherin 24, type 2 | 1,867 | 2,033 |
| CEACAM19 | carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 19 | 1,617 | 1,630 |
| CEP128 | centrosomal protein 128kDa | -2,513 | -2,119 |
| CFLAR | CASP8 and FADD-like apoptosis regulator | -1,616 | 1,262 |
| CHCHD2 | coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2 | -1,323 | 1,476 |
| CHDH | choline dehydrogenase | 1,837 | 1,518 |
| CHRNA10 | cholinergic receptor, nicotinic, alpha 10 (neuronal) | 1,337 | 1,311 |
| CHRNA7 | cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7 (neuronal) | 1,604 | 2,820 |
| CKB | creatine kinase, brain | 1,705 | 1,823 |
| COL27A1 | collagen, type XXVII, alpha 1 | 2,161 | 1,204 |
| COL6A2 | collagen, type VI, alpha 2 | 1,733 | 2,257 |
| CRBN | cereblon | -1,250 | -1,304 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| CRY1 | cryptochrome 1 (photolyase-like) | -1,672 | 1,216 |
| CSDE1 | cold shock domain containing E1, RNA-binding | 1,363 | 1,248 |
| DDX39B | DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 39B | 1,304 | 1,444 |
| DLAT | dihydrolipoamide S-acetyltransferase | -1,374 | -1,253 |
| DLGAP3 | discs, large (Drosophila) homolog-associated protein 3 | 1,571 | 1,827 |
| DNAJB14 | DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 14 | -1,263 | -1,241 |
| DPYSL2 | dihydropyrimidinase-like 2 | 1,357 | 1,422 |
| DUSP7 | dual specificity phosphatase 7 | 1,538 | 1,352 |
| DYNC1LI1 | dynein, cytoplasmic 1, light intermediate chain 1 | -1,366 | -1,357 |
| DYNLT3 | dynein, light chain, Tctex-type 3 | -1,316 | -1,230 |
| EEF1A1 | eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1 | 1,358 | 1,651 |
| EFCAB2 | EF-hand calcium binding domain 2 | 1,959 | 2,342 |
| EIF3D | eukaryotic translation initiation factor 3, subunit D | 1,215 | 1,434 |
| ELOVL5 | ELOVL fatty acid elongase 5 | -1,372 | 1,590 |
| ERO1L | ERO1-like (S, cerevisiae) | -1,337 | -1,271 |
| FAM153A | family with sequence similarity 153, member A | 2,178 | 1,849 |
| FAM46C | family with sequence similarity 46, member C | -2,551 | -1,669 |
| FBRSL1 | fibrosin-like 1 | 1,598 | 1,899 |
| FBXL17 | F-box and leucine-rich repeat protein 17 | 1,780 | 2,050 |
| FGFR1OP | FGFR1 oncogene partner | 1,393 | -1,252 |
| FLJ22184 | putative uncharacterized protein FLJ22184 | 1,460 | 1,658 |
| FOXD3 | forkhead box D3 | 1,381 | 1,354 |
| GLO1 | glyoxalase I | -1,309 | -1,321 |
| GLTSCR1L | GLTSCR1-like | -1,456 | -1,299 |
| GM2A | GM2 ganglioside activator | 1,407 | 1,361 |
| GPCPD1 | glycerophosphocholine phosphodiesterase GDE1 homolog (S, cerevisiae) | 1,274 | -1,531 |
| HAUS3 | HAUS augmin-like complex, subunit 3 | -1,462 | -1,486 |
| HGSNAT | heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase | 1,588 | 1,386 |
| HLA-A | major histocompatibility complex, class I, A | -1,399 | -1,361 |
| HNF1B | HNF1 homeobox B | 1,630 | -1,548 |
| HNRNPA1L2 | heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2 | -1,289 | -1,337 |
| HNRNPA2B1 | heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 | -1,280 | -1,307 |
| HNRNPA3 | heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 | -1,709 | -1,541 |
| HNRNPH3 | heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3 (2H9) | -1,490 | -1,319 |
| HSP90AA1 | heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1 | -1,458 | -1,437 |
| HSP90B1 | heat shock protein 90kDa beta (Grp94), member 1 | -1,597 | -1,462 |
| IL4 | interleukin 4 | -3,155 | -4,854 |
| INTS1 | integrator complex subunit 1 | 1,712 | 1,539 |
| KCTD9 | potassium channel tetramerisation domain containing 9 | -1,484 | -1,321 |
| KHDRBS3 | KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 3 | 1,840 | 1,828 |
| KHSRP | KH-type splicing regulatory protein | 1,392 | 1,278 |
| KIAA0368 | KIAA0368 | -1,236 | -1,292 |
| KIAA1430 | KIAA1430 | -2,232 | -1,805 |
| KLHL25 | kelch-like family member 25 | 1,469 | 1,248 |
| LINC00115 | long intergenic non-protein coding RNA 115 | -1,456 | -1,393 |
| LINC00304 | long intergenic non-protein coding RNA 304 | 2,029 | 2,304 |
| LOC100506844 | uncharacterized LOC100506844 | -1,295 | -1,205 |
| LPHN2 | latrophilin 2 | 1,684 | 1,637 |
| LPPR2 | lipid phosphate phosphatase-related protein type 2 | 1,520 | 1,366 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| LRFN1 | leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 1 | -1,481 | 1,296 |
| LRRC37BP1 | leucine rich repeat containing 37B pseudogene 1 | -1,248 | 1,286 |
| LSM3 | LSM3 homolog, U6 small nuclear RNA associated (S, cerevisiae) | -1,441 | -1,346 |
| LTF | lactotransferrin | -2,146 | -113,636 |
| LUC7L2 | LUC7-like 2 (S, cerevisiae) | -1,348 | -1,321 |
| MALSU1 | mitochondrial assembly of ribosomal large subunit 1 | -1,214 | -1,294 |
| MAP1LC3B | microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta | -1,376 | -1,279 |
| MAP4K5 | mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 5 | -1,332 | -1,280 |
| MAST1 | microtubule associated serine/threonine kinase 1 | 1,215 | 1,400 |
| MBNL3 | muscleblind-like splicing regulator 3 | -1,376 | -1,418 |
| MDFIC | MyoD family inhibitor domain containing | -1,486 | -1,431 |
| MDM1 | Mdm1 nuclear protein homolog (mouse) | -1,560 | -1,328 |
| ME2 | malic enzyme 2, NAD(+)-dependent, mitochondrial | -1,318 | -1,227 |
| MED30 | mediator complex subunit 30 | -1,368 | -1,258 |
| MEX3D | mex-3 homolog D (C, elegans) | 1,300 | 1,413 |
| MIS18BP1 | MIS18 binding protein 1 | -1,403 | -1,355 |
| MLLT6 | myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, Drosophila); translocated to, 6 | 1,288 | 1,725 |
| MTERFD2 | MTERF domain containing 2 | 1,281 | 1,332 |
| MTPN | myotrophin | 1,605 | 2,100 |
| MYEOV2 | myeloma overexpressed 2 | 1,480 | 1,547 |
| MYSM1 | Myb-like, SWIRM and MPN domains 1 | -1,684 | -1,445 |
| MZT1 | mitotic spindle organizing protein 1 | -1,289 | -1,326 |
| NCOA2 | nuclear receptor coactivator 2 | -1,225 | -2,066 |
| NCOA7 | nuclear receptor coactivator 7 | -1,420 | -1,460 |
| NDUFA1 | NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 1, 7,5kDa | -1,408 | -1,325 |
| NOL8 | nucleolar protein 8 | -1,377 | 1,236 |
| NPAS3 | neuronal PAS domain protein 3 | 1,766 | 2,029 |
| NRAS | neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog | -1,445 | -1,272 |
| NUCB1 | nucleobindin 1 | 1,262 | 1,277 |
| NUDT4 | nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 4 | -1,344 | -1,272 |
| NXT2 | nuclear transport factor 2-like export factor 2 | -1,339 | -1,212 |
| NYX | nyctalopin | 1,680 | 1,737 |
| ORAI1 | ORAI calcium release-activated calcium modulator 1 | -1,220 | -1,218 |
| P2RX3 | purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 3 | 1,592 | 1,708 |
| PARP11 | poly (ADP-ribose) polymerase family, member 11 | -1,412 | -1,295 |
| PCDHA8 | protocadherin alpha 8 | 1,744 | 2,021 |
| PCM1 | pericentriolar material 1 | -1,592 | -1,610 |
| PIF1 | PIF1 5'-to-3' DNA helicase homolog (S, cerevisiae) | -1,957 | 1,289 |
| PIP4K2A | phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase, type II, alpha | -1,414 | 1,358 |
| PIP5K1A | phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, type I, alpha | 1,408 | 1,473 |
| PITHD1 | PITH (C-terminal proteasome-interacting domain of thioredoxin-like) domain containing 1 | -1,220 | -1,404 |
| PNISR | PNN-interacting serine/arginine-rich protein | -1,200 | -1,259 |
| PPAPDC1B | phosphatidic acid phosphatase type 2 domain containing 1B | -1,689 | -1,852 |
| PPP2R5E | protein phosphatase 2, regulatory subunit B', epsilon isoform | -1,289 | -1,206 |
| PPP6C | protein phosphatase 6, catalytic subunit | -1,393 | -1,284 |
| PRICKLE3 | prickle homolog 3 (Drosophila) | 1,383 | 1,390 |
| PRKCB | protein kinase C, beta | -1,212 | -1,285 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| PRR3 | proline rich 3 | 1,260 | 1,231 |
| PTCD2 | pentatricopeptide repeat domain 2 | 1,323 | 1,322 |
| PTCD3 | pentatricopeptide repeat domain 3 | 1,643 | 2,312 |
| PTP4A1 | protein tyrosine phosphatase type IVA, member 1 | -1,637 | -1,587 |
| PTP4A2 | protein tyrosine phosphatase type IVA, member 2 | -1,370 | -1,431 |
| PTPN23 | protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 23 | 1,302 | 1,772 |
| RAD1 | RAD1 homolog (S, pombe) | -1,420 | -1,490 |
| RALA | v-ral simian leukemia viral oncogene homolog A (ras related) | -1,536 | -1,340 |
| RAP1B | RAP1B, member of RAS oncogene family | -1,403 | 1,552 |
| RASSF3 | Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 3 | 1,310 | 1,455 |
| RBM27 | RNA binding motif protein 27 | -1,462 | -1,350 |
| RCC1 | regulator of chromosome condensation 1 | 1,471 | 1,236 |
| RDH14 | retinol dehydrogenase 14 (all-trans/9-cis/11-cis) | -1,208 | -1,236 |
| RNF38 | ring finger protein 38 | -1,312 | -1,311 |
| RP9P | retinitis pigmentosa 9 pseudogene | -1,497 | -1,397 |
| RPF1 | ribosome production factor 1 homolog (S, cerevisiae) | -1,261 | -1,299 |
| RPL22 | ribosomal protein L22 | 1,335 | 1,607 |
| RPL27A | ribosomal protein L27a | 1,394 | 1,650 |
| RRP7B | ribosomal RNA processing 7 homolog B (S, cerevisiae) | 1,444 | 1,673 |
| RSL24D1 | ribosomal L24 domain containing 1 | -1,333 | -1,325 |
| RTN3 | reticulon 3 | 1,975 | 2,246 |
| RUNX1 | runt-related transcription factor 1 | 1,728 | 1,960 |
| RWDD3 | RWD domain containing 3 | -1,414 | -1,499 |
| SCLT1 | sodium channel and clathrin linker 1 | -1,572 | -1,647 |
| SEPT7P2 | septin 7 pseudogene 2 | -2,242 | -2,146 |
| SERPINH1 | serpin peptidase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) | 1,938 | 1,478 |
| SH3BP5 | SH3-domain binding protein 5 (BTK-associated) | -1,282 | -1,280 |
| SIPA1L3 | signal-induced proliferation-associated 1 like 3 | -1,894 | -2,058 |
| SKP1 | S-phase kinase-associated protein 1 | 1,799 | 2,435 |
| SLC16A7 | solute carrier family 16, member 7 (monocarboxylic acid transporter 2) | -1,475 | -1,481 |
| SLC27A1 | solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 1 | 1,338 | 1,221 |
| SLC2A1 | solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1 | -1,587 | -2,188 |
| SMARCA2 | SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 2 | 1,699 | 1,826 |
| SMARCC2 | SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily c, member 2 | 1,708 | 2,072 |
| SNORA78 | small nucleolar RNA, H/ACA box 78 | 1,917 | 2,499 |
| SP100 | SP100 nuclear antigen | -1,404 | 1,334 |
| SPRYD7 | SPRY domain containing 7 | -1,493 | -1,675 |
| SRI | sorcin | -1,976 | -1,420 |
| SSH1 | slingshot protein phosphatase 1 | 1,732 | 1,575 |
| STAG3L1 | stromal antigen 3-like 1 | 2,260 | 1,331 |
| STAT5B | signal transducer and activator of transcription 5B | 1,478 | 1,271 |
| SUB1 | SUB1 homolog (S, cerevisiae) | -1,292 | -1,215 |
| SUV420H2 | suppressor of variegation 4-20 homolog 2 (Drosophila) | 1,342 | 1,203 |
| SUZ12 | suppressor of zeste 12 homolog (Drosophila) | -1,383 | -1,433 |
| SYNCRIP | synaptotagmin binding, cytoplasmic RNA interacting protein | -1,381 | -1,221 |
| TAB3 | TGF-beta activated kinase 1/MAP3K7 binding protein 3 | -1,372 | -1,370 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| TAF2 | TAF2 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 150kDa | -1,220 | -1,214 |
| TAS2R60 | taste receptor, type 2, member 60 | 1,608 | 2,050 |
| THUMPD1 | THUMP domain containing 1 | -1,364 | -1,266 |
| TIMM23 | translocase of inner mitochondrial membrane 23 homolog (yeast) | 1,611 | -1,211 |
| TMBIM4 | transmembrane BAX inhibitor motif containing 4 | 1,360 | 1,458 |
| TMC8 | transmembrane channel-like 8 | 1,274 | 1,606 |
| TMEM63B | transmembrane protein 63B | 1,353 | 1,380 |
| TMOD3 | tropomodulin 3 (ubiquitous) | -1,658 | -1,323 |
| TNRC18 | trinucleotide repeat containing 18 | 1,405 | 1,733 |
| TONSL | tonsoku-like, DNA repair protein | 1,321 | 1,374 |
| TPT1 | tumor protein, translationally-controlled 1 | 1,619 | 1,975 |
| TRA2A | transformer 2 alpha homolog (Drosophila) | -1,721 | -1,328 |
| UBE2D3 | ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3 | -1,285 | -1,276 |
| UBLCP1 | ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1 | -1,366 | -1,287 |
| UBXN2A | UBX domain protein 2A | -1,277 | -1,346 |
| UCHL5 | ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L5 | -1,522 | -1,361 |
| UFD1L | ubiquitin fusion degradation 1 like (yeast) | -1,348 | -1,346 |
| UFM1 | ubiquitin-fold modifier 1 | -1,416 | -1,238 |
| UNC13D | unc-13 homolog D (C, elegans) | 1,416 | 1,491 |
| USP22 | ubiquitin specific peptidase 22 | 1,537 | 1,785 |
| VPS13A | vacuolar protein sorting 13 homolog A (S, cerevisiae) | -1,208 | 1,475 |
| VPS37D | vacuolar protein sorting 37 homolog D (S, cerevisiae) | 1,443 | 1,658 |
| VRK1 | vaccinia related kinase 1 | -1,335 | -1,266 |
| WNT6 | wingless-type MMTV integration site family, member 6 | 1,306 | 1,411 |
| YIF1B | Yip1 interacting factor homolog B (S, cerevisiae) | 1,341 | 1,403 |
| ZBTB1 | zinc finger and BTB domain containing 1 | 1,959 | -1,284 |
| ZBTB45 | zinc finger and BTB domain containing 45 | 1,254 | 1,258 |
| ZNF248 | zinc finger protein 248 | -1,385 | -2,169 |
| ZNF33A | zinc finger protein 33A | -1,321 | -1,215 |
| ZNF714 | zinc finger protein 714 | -1,357 | -1,460 |
| ZNF770 | zinc finger protein 770 | 1,450 | 1,976 |

*Annexe 7*. Voies canoniques dérégulées identifiées par IPA® pour analyse des gènes dérégulés dits « spécifiques » de la MP.

| Voie canonique | Valeur de p |
|---|---|
| Dégradation de l'isoleucine | 0,0004 |
| Dégradation de la Valine | 0,0007 |
| Signalisation de la Neureguline | 0,0018 |
| Activation de PPARα/RXRα | 0,0019 |
| Signalisation de GM-CSF | 0,0035 |
| Biosynthèse du 3-phosphoinositide | 0,0037 |
| Voie de l'ubiquitination des protéines | 0,004 |
| Signalisation de l'aldostérone dans les cellules épithéliales | 0,0041 |
| Signalisation des récepteurs aux glucocorticoïdes | 0,0046 |
| Voie des composants de l'Inositol Phosphate | 0,011 |
| Métabolisme du D-myo-inositol-5-phosphate | 0,012 |
| Signalisation de PPAR | 0,014 |
| Signalisation de la Thrombopoietin | 0,017 |
| Signalisation de la télomérase | 0,018 |
| Signalisation de HIF1α | 0,019 |
| Dégradation de la choline | 0,02 |
| Signalisation d'IL-15 | 0,023 |
| Apoptose des lymphocytes induite par le calcium | 0,023 |
| Rôle de JAK1 et JAK3 dans la signalisation de γc Cytokine | 0,023 |
| Signalisation des androgènes | 0,025 |
| Signalisation de l'hypoxie dans le système cardio-vasculaire | 0,027 |
| Signalisation de l'Erythropoietine | 0,029 |
| Rôles mititiques de Polo-Like Kinase | 0,029 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (1,4,5)-Trisphosphate | 0,029 |
| Dégradation du Methylglyoxale | 0,03 |
| Signalisation de p70S6K | 0,032 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (1,4,5,6)-Tetrakisphosphate | 0,032 |
| Biosynthèse du D-myo-inositol (3,4,5,6)-tetrakisphosphate | 0,032 |
| Signalisation d'IL-3 | 0,034 |
| Signalisation du PEDF | 0,034 |
| Signalisation de PI3K/AKT | 0,034 |
| Signalisation de la Prolactine | 0,036 |
| Activation de NF-κB par les virus | 0,037 |
| Signalisation des récepteurs aux oestrogènes | 0,038 |
| Inflammation des voies aériennes dans l'asthme | 0,039 |
| Dégradation de l'Uracile | 0,039 |
| Degradation de la Thymine | 0,039 |
| Signalisation de la leucémie aigue myéloïde | 0,04 |
| Biosynthèse du Triacylglycerole | 0,043 |
| Signalisation de l'AMPK | 0,045 |
| Signalisation de l'Oncostatin M | 0,045 |
| Biosynthèse de la Creatine-phosphate | 0,049 |
| Dégradation du 3-phosphoinositide | 0,049 |
| Signalisation du cancer de la prostate | 0,049 |

*Annexe 8*. Voies canoniques dérégulées identifiées par IPA® dans l'analyse des hommes parkinsoniens sporadiques vs femmes parkinsoniennes sporadiques (hSPvsfSP).

| Voies canoniques | Valeur de p |
|---|---|
| Biosynthèse II du NAD | 0,0093 |
| Signalisation de l'extravasation leucocytaire | 0,0098 |
| Signalisation leucémie myéloïde chronique | 0,011 |
| Signalisation HER-2 dans le cancer du sein | 0,011 |
| Signalisation des récepteurs des lymphocytes T | 0,013 |
| Cycle cellulaire: régulation du point de contrôle G1/S | 0,014 |
| Mécanismes moléculaires du cancer | 0,014 |
| Signalisation PTEN | 0,015 |
| Signalisation de l'adhérence et de la jonction épithéliale | 0,019 |
| Signalisation de la macropinocytose | 0,022 |
| Voie de l'entrée des virus par endocytose | 0,025 |
| Dégradation du Tryptophane (Eukaryote) | 0,026 |
| Signalisation VEGF | 0,028 |
| Signalisation de la junction des cellules de Sertoli | 0,029 |
| Rôle des proteins CHK Proteins dans le contrôle su cycle cellulaire | 0,032 |
| Signalisation de la leucémie aigue myéloïde | 0,039 |
| Signalisation de l'endocytose médiée par les Clathrines | 0,039 |
| Phosphorylation et Déphosphorylation du NAD | 0,04 |
| Signalisation d'ATM | 0,042 |
| Régulation de l'expression d'IL-2 dans les lymphocytes T actives et anergiques | 0,043 |
| Régulation du cycle cellulaire et des cyclines | 0,043 |
| Rôle de BRCA1 dans la réponse aux lesions de l'ADN | 0,045 |
| Signalisation d'ErbB4 | 0,0453 |
| Signalisation des métastases du cancer colorectal | 0,047 |

*Annexe 9.* Liste des 58 gènes dits « spécifiques » du sexe.

| Gene ID | Nom (Entrez gene) | FC hSPvsfSP | FC hNvsfN |
|---|---|---|---|
| ACTN4 | actinin, alpha 4 | -1,650 | 1,254 |
| C11orf96 | chromosome 11 open reading frame 96 | 3,469 | 3,809 |
| CA5BP1 | carbonic anhydrase VB pseudogene 1 | -1,297 | -1,427 |
| CDK6 | cyclin-dependent kinase 6 | -1,353 | -1,274 |
| CFH | complement factor H | 2,830 | 2,757 |
| CHUK | conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase | 1,221 | 1,325 |
| CLIC6 | chloride intracellular channel 6 | 1,952 | 2,558 |
| DACT1 | dapper, antagonist of beta-catenin, homolog 1 (Xenopus laevis) | -3,676 | -5,618 |
| DDX3X | DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, X-linked | 2,515 | 2,566 |
| DDX3Y | DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked | 522,500 | 8,978 |
| EIF1AY | eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked | 116,500 | 93,130 |
| EIF2S3 | eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 3 gamma, 52kDa | -1,277 | -1,410 |
| ERCC6L | excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 6-like | -2,793 | -2,732 |
| ERRFI1 | ERBB receptor feedback inhibitor 1 | 1,663 | 2,578 |
| FGD1 | FYVE, RhoGEF and PH domain containing 1 | -1,256 | -1,269 |
| FLJ21369 | uncharacterized protein FLJ21369 | -1,869 | -1,855 |
| HDHD1 | haloacid dehalogenase-like hydrolase domain containing 1 | -1,477 | -1,414 |
| HID1 | HID1 domain containing | -1,350 | -1,890 |
| IL6ST | interleukin 6 signal transducer (gp130, oncostatin M receptor) | -1,311 | -2,045 |
| KDM5C | lysine (K)-specific demethylase 5C | -1,337 | -1,292 |
| KDM5D | lysine (K)-specific demethylase 5D | 24,650 | 22,660 |
| KDM6A | lysine (K)-specific demethylase 6A | -1,456 | -1,473 |
| LDOC1L | leucine zipper, down-regulated in cancer 1-like | 1,270 | 1,422 |
| LOC100240735 | uncharacterized LOC100240735 | 1,598 | 1,835 |
| LOC389906 | zinc finger protein 839 pseudogene | -1,572 | -1,506 |
| MAGI3 | membrane associated guanylate kinase, WW and PDZ domain containing 3 | -1,401 | -1,600 |
| MANEA | mannosidase, endo-alpha | 1,732 | 1,538 |
| MLLT4 | myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax homolog, Drosophila); translocated to, 4 | 1,709 | 1,675 |
| MROH1 | maestro heat-like repeat family member 1 | -1,462 | -2,252 |
| NEK3 | NIMA-related kinase 3 | 1,495 | 1,547 |
| NEK8 | NIMA-related kinase 8 | -1,233 | -1,335 |
| PCMT1 | protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase | 1,243 | 1,305 |
| PER3 | period circadian clock 3 | 1,861 | 2,378 |
| PLAC4 | placenta-specific 4 | -1,383 | -1,517 |
| PRKX | protein kinase, X-linked | -1,391 | -1,379 |
| PRKY | protein kinase, Y-linked, pseudogene | 2,460 | 2,305 |
| PTGDS | prostaglandin D2 synthase 21kDa (brain) | 2,587 | 3,029 |
| RALGDS | ral guanine nucleotide dissociation stimulator | 1,347 | 1,445 |
| RBMX | RNA binding motif protein, X-linked | 3,284 | 2,159 |
| RPS4X | ribosomal protein S4, X-linked | -1,447 | -1,350 |
| RPS4Y1 | ribosomal protein S4, Y-linked 1 | 4,774 | 9,525 |
| RPS4Y2 | ribosomal protein S4, Y-linked 2 | 3,199 | 2,014 |
| SCP2 | sterol carrier protein 2 | 1,237 | 1,298 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| SMC1A | structural maintenance of chromosomes 1A | -1,462 | -1,309 |
| SNX6 | sorting nexin 6 | 1,246 | 1,302 |
| TMSB4Y | thymosin beta 4, Y-linked | 3,315 | 2,456 |
| TTTY14 | testis-specific transcript, Y-linked 14 (non-protein coding) | 5,714 | 4,780 |
| TTTY15 | testis-specific transcript, Y-linked 15 (non-protein coding) | 11,890 | 10,230 |
| TXLNG2P | taxilin gamma 2, pseudogene | 44,870 | 27,160 |
| USP9Y | ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked | 5,375 | 5,715 |
| UTY | ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat containing, Y-linked | 11,370 | 7,704 |
| VRK2 | vaccinia related kinase 2 | 1,265 | 1,327 |
| XIST | X inactive specific transcript (non-protein coding) | -123,916 | -9,434 |
| ZC3H12D | zinc finger CCCH-type containing 12D | -1,905 | -1,748 |
| ZDHHC13 | zinc finger, DHHC-type containing 13 | 1,727 | 1,268 |
| ZFX | zinc finger protein, X-linked | -1,546 | -1,541 |
| ZFY | zinc finger protein, Y-linked | 30,680 | 8,837 |
| ZRSR2 | zinc finger (CCCH type), RNA-binding motif and serine/arginine rich 2 | -1,290 | -1,277 |

**AUTEUR : Nom : HOPES** **Prénom : LUCIE**

**Date de Soutenance : 12 septembre 2013**

**Titre de la Thèse : Etude de l'influence du sexe dans la maladie de Parkinson : De l'épidémiologie à l'expression génique.**

**Thèse - Médecine - Lille 2013**

**Cadre de classement : DES de neurologie**

**Mots-clés : Maladie de Parkinson, sexe, œstrogènes, transcriptome**

**Résumé :**

**La maladie de Parkinson (MP) présente un sexe ratio allant de 1,5 à 2 en défaveur des hommes. Des études épidémiologiques ont montré un lien possible entre des facteurs hormonaux et le risque ainsi que la sévérité de la maladie. Par ailleurs, la MP est une pathologie multifactorielle avec une interaction de facteurs environnementaux et génétiques. Nous avons donc voulu évaluer si le sexe, et en particulier les facteurs hormonaux, ont une influence sur la MP, et si les facteurs environnementaux et l'expression génique sont différents entre hommes et femmes parkinsoniens. Nous avons réalisé un questionnaire chez 474 femmes et 383 hommes parkinsoniens suivis dans le service de Neurologie et Pathologies du Mouvement du CHRU de Lille, ainsi que chez 125 femmes et 72 hommes témoins. Certains sujets ont également bénéficié d'un bilan biologique. Enfin, nous avons complété notre étude par l'analyse du transcriptome de cellules mononucléées sanguines périphériques par micropuces, afin d'évaluer si l'expression génique diffère selon le sexe et la MP. Nos résultats montrent un âge de début de la maladie plus tardif chez les femmes parkinsoniennes de forme sporadique, corrélé à l'âge de la ménopause, au nombre de grossesses et à l'âge de prise d'une contraception. De plus, les facteurs environnementaux délétères ou protecteurs sont plus nombreux chez les femmes. Enfin, les gènes dont l'expression est dérégulée sont en partie différents chez les hommes et femmes, avec en particulier une dérégulation uniquement chez les femmes parkinsoniennes de gènes clés et impliqués dans la pathogénie de la MP. La prévalence plus élevée de la MP chez les hommes serait donc secondaire à la fois à l'absence du rôle protecteur des œstrogènes, et à une dérégulation de l'expression génique entraînant une vulnérabilité plus importante au stress cellulaire chez l'homme. Enfin, la pathogénie de la MP serait en partie différente selon le sexe, ce qui pourrait nous inciter à envisager la recherche et la prise en charge de la MP de façon sexe spécifique.**

**Composition du Jury :**

**Président : Pr Alain Destée**

**Assesseurs : Pr Florence Pasquier**
**Pr Luc Defebvre**
**Dr Marie-Christine Chartier-Harlin**
**Dr Eugénie Mutez**

[redacted]