

Le séquençage d'exome dans le trouble bipolaire : une approche par symptômes candidats

Jean-Baptiste Duboc

▶ **To cite this version:**

Jean-Baptiste Duboc. Le séquençage d'exome dans le trouble bipolaire : une approche par symptômes candidats. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01230845

HAL Id: dumas-01230845

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01230845

Submitted on 19 Nov 2015

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

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

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 2015

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

DUBOC Jean-Baptiste

Né le 22 juin 1984 à PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19 OCTOBRE 2015

LE SEQUENÇAGE D'EXOME DANS LE TROUBLE BIPOLAIRE : UNE APPROCHE PAR SYMPTOMES CANDIDATS

PRESIDENT DE JURY: Monsieur le Professeur O. GUILLIN

DIRECTEUR DE THESE: Monsieur le Professeur O. GUILLIN

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 - 2015

U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESSEURS : **Professeur Michel GUERBET**

Professeur Benoit VEBER

Professeur Pascal JOLY

Professeur Stéphane MARRET

I - **MEDECINE**

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric **ANSELME**	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle **AUQUIT AUCKBUR**	HCN	Chirurgie plastique
Mr Bruno **BACHY** *(surnombre)*	HCN	Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice **BAUER**	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya **BEKRI**	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques **BENICHOU**	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul **BESSOU**	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise **BEURET-BLANQUART** *(surnombre)*	*HCN*	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Guy **BONMARCHAND** (*surnombre)*	HCN	Réanimation médicale
Mr Olivier **BOYER**	UFR	Immunologie
Mr Jean-François **CAILLARD** *(surnombre)*	HCN	Médecine et santé au travail
Mr François **CARON**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales

Mr Philippe **CHASSAGNE**	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent **COMPERE**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine **CUVELIER**	HB	Pneumologie
Mr Pierre **CZERNICHOW**	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas **DACHER**	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan **DARMONI**	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre **DECHELOTTE**	HCN	Nutrition
Mme Danièle **DEHESDIN** *(surnombre)*	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric **DI FIORE**	CB	Cancérologie
Mr Fabien **DOGUET**	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean **DOUCET**	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard **DUBRAY**	CB	Radiothérapie
Mr Philippe **DUCROTTE**	HCN	Hépato-gastro-entérologie
Mr Frank **DUJARDIN**	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice **DUPARC**	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric **DURAND**	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand **DUREUIL**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène **ELTCHANINOFF**	HCN	Cardiologie
Mr Thierry **FREBOURG**	UFR	Génétique
Mr Pierre **FREGER**	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François **GEHANNO**	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel **GERARDIN**	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille **GERARDIN**	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel **GODIN** *(surnombre)*	HB	Néphrologie
M. Guillaume **GOURCEROL**	HCN	Physiologie
Mr Philippe **GRISE** *(surnombre)*	HCN	Urologie
Mr Olivier **GUILLIN**	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier **HANNEQUIN**	HCN	Neurologie
Mr Fabrice **JARDIN**	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie **JOLY**	HCN	Médecine d'urgence

Mr Pascal **JOLY**	HCN	Dermato - Vénéréologie
Mme Annie **LAQUERRIERE**	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent **LAUDENBACH**	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Xavier **LE LOET**	HCN	Rhumatologie
Mr Joël **LECHEVALLIER**	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé **LEFEBVRE**	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry **LEQUERRE**	HB	Rhumatologie
Mr Eric **LEREBOURS**	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie **LEROI**	HCN	Physiologie
Mr Hervé **LEVESQUE**	HB	Médecine interne
Mme Agnès **LIARD-ZMUDA**	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves **LITZLER**	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand **MACE**	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David **MALTETE**	HCN	Neurologie
Mr Christophe **MARGUET**	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle **MARIE**	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul **MARIE**	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc **MARPEAU**	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane **MARRET**	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique **MERLE**	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre **MICHEL**	HCN	Hépato-gastro-entérologie
Mr Bruno **MIHOUT** *(surnombre)*	HCN	Neurologie
Mr Jean-François **MUIR**	HB	Pneumologie
Mr Marc **MURAINE**	HCN	Ophtalmologie
Mr Philippe **MUSETTE**	HCN	Dermatologie - Vénéréologie
Mr Christophe **PEILLON**	HCN	Chirurgie générale
Mr Jean-Marc **PERON** *(surnombre)*	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
Mr Christian **PFISTER**	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe **PLANTIER**	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier **PLISSONNIER**	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Bernard **PROUST**	HCN	Médecine légale

Mr François **PROUST** HCN Neurochirurgie

Mme Nathalie **RIVES** HCN Biologie du développement et de la reproduction

Mr Jean-Christophe **RICHARD** *(détachement)* HCN Réanimation médicale - Médecine d'urgence

Mr Horace **ROMAN** HCN Gynécologie - Obstétrique

Mr Jean-Christophe **SABOURIN** HCN Anatomie - Pathologie

Mr Guillaume **SAVOYE** HCN Hépato-gastrologie

Mme Céline **SAVOYE–COLLET** HCN Imagerie médicale

Mme Pascale **SCHNEIDER** HCN Pédiatrie

Mr Michel **SCOTTE** HCN Chirurgie digestive

Mme Fabienne **TAMION** HCN Thérapeutique

Mr Luc **THIBERVILLE** HCN Pneumologie

Mr Christian **THUILLEZ** HB Pharmacologie

Mr Hervé **TILLY** CB Hématologie et transfusion

Mr Jean-Jacques **TUECH** HCN Chirurgie digestive

Mr Jean-Pierre **VANNIER** HCN Pédiatrie génétique

Mr Benoît **VEBER** HCN Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale

Mr Pierre **VERA** CB Biophysique et traitement de l'image

Mr Eric **VERIN** CRMPR Médecine physique et de réadaptation

Mr Eric **VERSPYCK** HCN Gynécologie obstétrique

Mr Olivier **VITTECOQ** HB Rhumatologie

Mr Jacques **WEBER** HCN Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle **BARBIER-FREBOURG** HCN Bactériologie – Virologie

Mr Jeremy **BELLIEN** HCN Pharmacologie

Mme Carole **BRASSE LAGNEL** HCN Biochimie

Mme Valérie **BRIDOUX HUYBRECHTS** HCN Chirurgie Vasculaire

Mr Gérard **BUCHONNET** HCN Hématologie

Mme Mireille **CASTANET** HCN Pédiatrie

Mme Nathalie **CHASTAN**	HCN	Physiologie
Mme Sophie **CLAEYSSENS**	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse **COEFFIER**	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie **DERREY**	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel **ETIENNE**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge **JACQUOT**	UFR	Immunologie
Mr Joël **LADNER**	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste **LATOUCHE**	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas **MOUREZ**	HCN	Bactériologie
Mr Jean-François **MENARD**	HCN	Biophysique
Mme Muriel **QUILLARD**	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Vincent **RICHARD**	UFR	Pharmacologie
Mr Mathieu **SALAUN**	HCN	Pneumologie
Mme Pascale **SAUGIER-VEBER**	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire **TOBENAS-DUJARDIN**	HCN	Anatomie
Mr Olivier **TROST**	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique **LANIEZ**	UFR	Anglais
Mr Thierry **WABLE**	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry **BESSON**	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacologie
Mr Roland **CAPRON** (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean **COSTENTIN** (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
Mr Loïc **FAVENNEC** (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre **GOULLE**	Toxicologie
Mr Michel **GUERBET**	Toxicologie
Mme Isabelle **LEROUX - NICOLLET**	Physiologie
Mme Christelle **MONTEIL**	Toxicologie
Mme Martine **PESTEL-CARON** (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
Mr Rémi **VARIN** (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie **VAUGEOIS**	Pharmacologie
Mr Philippe **VERITE**	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile **BARBOT**	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique **BOUCHER**	Pharmacologie
Mr Frédéric **BOUNOURE**	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam **CHAGRAOUI**	Physiologie
Mr Jean **CHASTANG**	Biomathématiques
Mme Marie Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth **CHOSSON**	Botanique

Mme Cécile **CORBIERE**	Biochimie
Mr Eric **DITTMAR**	Biophysique
Mme Nathalie **DOURMAP**	Pharmacologie
Mme Isabelle **DUBUC**	Pharmacologie
Mr Abdelhakim **ELOMRI**	Pharmacognosie
Mr François **ESTOUR**	Chimie Organique
Mr Gilles **GARGALA** (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla **GHARBI**	Chimie analytique
Mme Marie-Laure **GROULT**	Botanique
Mr Hervé **HUE**	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia **LE GOFF**	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong **LU**	Biologie
Mme Sabine **MENAGER**	Chimie organique
Mr Mohamed **SKIBA**	Pharmacie galénique
Mme Malika **SKIBA**	Pharmacie galénique
Mme Christine **THARASSE**	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric **ZIEGLER**	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile **GUERARD-DETUNCQ**	Pharmacie officinale
Mr Jean-François **HOUIVET**	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde **GUERIN**	Anglais

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr Jérémie **MARTINET**	Immunologie

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Romy **RAZAKANDRAINIBE**	Parasitologie
Mr François **HALLOUARD**	Galénique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile **BARBOT**	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry **BESSON**	Chimie thérapeutique
Mr Roland **CAPRON**	Biophysique
Mr Jean **CHASTANG**	Mathématiques
Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth **CHOSSON**	Botanique
Mr Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacodynamie
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
Mr Loïc **FAVENNEC**	Parasitologie
Mr Michel **GUERBET**	Toxicologie
Mr François **ESTOUR**	Chimie organique
Mme Isabelle **LEROUX-NICOLLET**	Physiologie
Mme Martine **PESTEL-CARON**	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
Mr Mohamed **SKIBA**	Pharmacie galénique
Mr Philippe **VERITE**	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL**	UFR	Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE**	UFR	Médecine Générale
Mr Alain **MERCIER**	UFR	Médecine générale
Mr Philippe **NGUYEN THANH**	UFR	Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET**	UFR	Médecine générale
Mme Elisabeth **MAUVIARD**	UFR	Médecine générale
Mme Yveline **SEVRIN**	UFR	Médecine générale
Mme Marie Thérèse **THUEUX**	UFR	Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei **FETISSOV** (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul **MULDER** (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su **RUAN** (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil **ADRIOUCH** (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle **BOUGEARD-DENOYELLE** (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079**)**
Mme Carine **CLEREN** (phar)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline **GAILDRAT** (phar)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas **GUEROUT** (phar)	Neurophysiologie
Mr Antoine **OUVRARD-PASCAUD** (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric **PASQUET**	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle **TOURNIER** (phar)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique **DELAFONTAINE**

HCN - Hôpital Charles Nicolle *HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

CB - Centre Henri Becquerel *CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation *SJ – Saint Julien Rouen*

A Monsieur le Professeur GUILLIN

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury.

Pour avoir porté intérêt à ce travail et accepté de le juger.

Pour nous avoir fait partager vos connaissances et votre enthousiasme lors de vos enseignements.

Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur JOLY

Pour avoir porté intérêt à ce travail et avoir accepté de le juger.
Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur HANNEQUIN

Pour nous faire l'honneur de juger ce travail.

Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Remerciements

A Monsieur le Professeur O. Guillin,

Pour l'honneur que vous me faites et la confiance que vous me portez en acceptant d'encadrer ce travail de recherche et ma thèse de médecine. Pour l'apport précieux de votre enseignement dans la pratique clinique et dans le travail de recherche, pour votre disponibilité.

Veuillez accepter mes plus sincères remerciements ainsi que l'expression de mon respect et de mon profond dévouement.

A Monsieur le Docteur D. Campion,

Pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de m'accueillir dans votre laboratoire. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

Aux membres du laboratoire U1079,

Pour votre accueil, votre disponibilité et votre enseignement. Je remercie particulièrement le Docteur Gaël Nicolas, Stéphanie et Anne-Claire pour leur aide précieuse tout au long de ce travail.

A Madame le Professeur M O Krebs et Madame le Docteur M Cuenca,

D'avoir collaborer à ce travail en complétant notre première série d'exomes. Merci à Macarena pour ta disponibilité et tes connaissances.

A mon épouse Cécile,

Pour ton aide indéfectible au quotidien, ta sincérité et ta confiance. Pour cette merveilleuse nouvelle que nous attendons.

LE SEQUENÇAGE D'EXOME DANS LES TROUBLES BIPOLAIRES : UNE APPROCHE PAR SYMPTOMES CANDIDATS

INTRODUCTION.....1

I PREMIERE PARTIE: LES TROUBLES BIPOLAIRES 3

I.1 EVOLUTION DU CONCEPT 3

I.1.A) De la psychose maniaco-dépressive aux Troubles Bipolaires du DSM-5.....3

I.1.B) Les phénotypes dans le DSM-5 6
I.1.B) (1) Le Trouble bipolaire I 7
I.1.B) (2) Le Trouble bipolaire II 7
I.1.B) (3) Le Trouble cyclothymique 8
I.1.B) (4) La Dépression dans le trouble bipolaire 9

I.1.C) Elargissement du concept : la notion de Spectre Bipolaire 10

I.2 ASPECTS GENETIQUE DES TROUBLES BIPOLAIRES 12

I.2.A) Déterminisme génétique des Troubles Bipolaires 12

I.2.B) Constat actuel des résultats obtenus par les techniques de génétiques traditionnelles 15

I.2.C) Le séquençage de nouvelle génération dans les troubles bipolaires 22
I.2.C) (1) Principes généraux du séquençage d'exome 23
I.2.C) (2) Résultats obtenus dans les troubles bipolaires 26

II DEUXIEME PARTIE : VERS DE NOUVELLES APPROCHES PHENOTYPIQUES 28

II.1 LIMITES DES DESCRIPTIONS PHENOTYPIQUES ACTUELLES DU TROUBLE BIPOLAIRE 28

II.1.A) Approche endophénotypique 30

II.1.B) Approche par Symptômes candidats 32

II.2 L'AGE DE DEBUT PRECOCE COMME SYMPTOME CANDIDAT 34

II.2.A) Arguments cliniques 34

II.2.B) Arguments biologiques et circadiens.....37

II.2.C) Arguments en neuro-imagerie 37

II.2.D) Arguments cognitifs 38

II.2.E) Poids des facteurs environnementaux.....39

II.2F) Arguments génétiques 39

II.3 L'AGREGATION FAMILIALE COMME SYMPTOME CANDIDAT 40

III TROISIEME PARTIE : ETUDE 43

III.1 OBJECTIF 43

III .2 METHODOLOGIE 43

III.2.A) Population étudiée 43
III.2.A) (1) Critères d'inclusion des cas 43
III.2.A) (2) Critères de non inclusion des cas 44
III.2.A) (3) Critères d'inclusion des témoins 44

III.2.B) Protocole de recherche.....44
III.2.B) (1) Mesures prévues pour réduire les biais 44
III.2.B) (2) Aspects règlementaires 46
III.2.B) (3) Déroulement du recrutement 46
III.2.B) (4) Evaluation clinique 46
III.2.B) (5) Enquête familiale 47
III.2.B) (6) Prélèvement sanguin 48
III.2.B) (7) Extraction d'ADN 48
III.2.B) (8) Séquençage d'exomes 48
III.2.B) (9) Analyse de variations et validation 49
III.2.B) (10) Analyse statistique 50

III.3 RESULTATS 51

III.3.A) Description des cas 51

III.3.B) Description des témoins 52

III.4 RECHERCHE DE CNVS CHEZ UNE FAMILLE DEJA SEQUENCEE 53

III.4.A) Principe de détection de CNVs à partir des données d'exomes 53

III.4.B) Confirmation du CNV chez une famille 54

III.4.C) Modification transcriptionnelle de ARL6IP1 60

DISCUSSION 63

CONCLUSION 70

BIBLIOGRAPHIE 71

ANNEXES 89

INTRODUCTION

Le trouble bipolaire, est un trouble de l'humeur chronique, épisodique et récurrent, caractérisé par une fluctuation de l'humeur qui oscille entre deux pôles : la manie (exaltation de l'humeur), et la dépression (tristesse de l'humeur), entrecoupé dans sa forme typique par des périodes de rémission a priori asymptomatique.

Le trouble bipolaire débute classiquement chez l'adulte jeune, il s'accompagne généralement d'altérations cognitives et comportementales, et pour la moitié des cas d'éléments psychotiques congruents à l'humeur.

Selon le DSM-5 (1), il existe 3 principaux sous-types de troubles bipolaires: le trouble bipolaire de type I, le trouble bipolaire de type II et la Cyclothymie.

C'est une pathologie fréquente, dont la prévalence dans la population générale est estimée entre 1 et 2,5%, et serait certainement sous-évaluée (2).

Certains auteurs comme Akiskal, proposent une subdivision des troubles bipolaires selon le spectre bipolaire, élargissant ainsi la présentation clinique à des formes de troubles de l'humeur dits « sub-syndromique», qui partageraient une base éthiopathogénique commune (3). Ainsi selon certaines études, en considérant une définition plus élargie, la prévalence du spectre bipolaire pourrait atteindre 5% de la population (4).

Le trouble bipolaire apparaît comme une pathologie dont la présentation est hétérogène, et dont le diagnostic, reposant sur des arguments cliniques seuls, peut s'avérer complexe à établir par le clinicien (5). Bien que les classifications diagnostiques actuelles soient valides et pertinentes du point de vu nosologique, il paraît néanmoins nécessaire de proposer de nouvelles spécifications qui soient clairement définies à la fois sur le plan clinique, mais aussi potentiellement corrélés à des marqueurs de la maladie.

L'existence d'une composante à la fois génétique et environnementale fait rentrer le trouble bipolaire dans le champ des maladies à hérédité complexe (6).

Les techniques de génétique, depuis une trentaine d'année se sont heurtées à la complexité génétique du trouble bipolaire, complexité d'autant plus grande que la pathologie est hétérogène sur le plan clinique. C'est pour cela qu'identifier des indicateurs phénotypiques (c'est à dire des traits visibles et transmissibles) serait un outil de choix pour individualiser des sous-groupes de malades qui seraient plus homogènes cliniquement et génétiquement (7). Les avancées des techniques de biologie moléculaire, dont le séquençage de nouvelle

génération, offrent un axe de recherche majeur dans l'identification des gènes de susceptibilité impliqués dans les maladies complexes, dont le trouble bipolaire.

Dans la première partie de cette thèse, nous réaliserons le bilan actuel des différentes stratégies génétiques appliquées aux troubles bipolaires. Nous décrirons ensuite les nouvelles approches phénotypiques utilisées dans l'aide à l'identification de gènes de susceptibilité, en présentant les symptômes candidats choisis pour cette étude : le trouble bipolaire à début précoce, et le trouble bipolaire avec une agrégation familiale forte. Enfin, nous exposerons le design de notre étude cas témoin en cours, cherchant à identifier des variants rares par séquençage d'exome chez des patients présentant un trouble bipolaire de Type I à début précoce et présentant une forte agrégation familiale de troubles bipolaires puis nous présenterons les résultats obtenus à partir des données de séquençage d'exome chez une famille à forte agrégation, dans laquelle nous avons mis en évidence un CNV (*Copy Number Variation*) partagé.

I PREMIERE PARTIE: LES TROUBLES BIPOLAIRES

I.1 EVOLUTION DU CONCEPT

I.1.A) De la psychose maniaco-dépressive aux Troubles Bipolaires du DSM-5

L'appellation actuelle de trouble bipolaire est entrée dans le langage sémiologique avec l'avènement de la classification américaine DSM-III en 1980. Pour autant, les troubles de la polarité de l'humeur que sont la mélancolie et la manie sont décrits depuis l'antiquité.

Dans l'Antiquité, c'est au Vème siècle avant J.-C., qu'Hippocrate dans « le corpus Hippocraticum », mentionne l'existence de deux états thymiques bien différenciés : la mélancolie (bile noire) et la manie (folie, rage). Hippocrate dans son concept, représentait ces états comme deux entités nosologiques à part entière (8).

Les premières descriptions de l'alternance entre mélancolie et manie chez un même individu sont attribuées à Arétée de Cappadoce, médecin grec du Ier siècle après J.-C. Il semble être le précurseur qui a institué un lien clair existant entre ces deux pôles extrêmes de l'humeur (9).

A l'époque classique, l'écrivain anglais Robert Burton (1577 – 1640) décrit dans son ouvrage « l'anatomie de la mélancolie », un trouble où la mélancolie (compatible dans sa définition avec le sens moderne de dépression) alterne avec des périodes d'excitation psychique (correspondant à la définition actuelle de la manie) (10).

Si ces états, relatifs à la théorie des humeurs soutenue par Hippocrate, ont suscité au fil des siècles un intérêt particulier, notamment dans le domaine artistique, la deuxième partie du XIXe siècle marque un profond bouleversement dans le concept des troubles de l'humeur.

Wilhelm Griesinger, psychiatre allemand du milieu du XIXe siècle établit en 1845 que la dépression et la manie sont constitutives d'un même trouble. Il décrit la pathologie comme un cercle, passant régulièrement d'un pôle de l'humeur à l'autre. Il attribue également à cette entité un caractère saisonnier (mélancolie en automne et en hiver, début de la manie au printemps) ainsi que des formes à cycle rapide (11).

En 1854, Jean-Pierre Falret (1794 – 1870) décrit la folie circulaire, caractérisée par la récurrence entre manie et dépression, et l'existence d'un intervalle libre, c'est à dire sans symptômes thymiques appelé « intervalle lucide », plus ou moins long (12). La même année, Jules Baillarger (1809 – 1890) parle de folie à double forme pour décrire une même entité caractérisée par deux périodes régulières, l'une de dépression et l'autre d'excitation (13).

C'est Emil Kraepelin (1856 – 1926), psychiatre allemand, qui dans la sixième édition de son traité de psychiatrie décrit la maladie maniaco-dépressive (littéralement : folie maniaco-dépressive) comme une entité individualisée. Sa définition est la plus proche du trouble bipolaire dans son concept actuel (14).

Dans ce même traité, nait la dichotomie au sein des psychoses dites « fonctionnelles », avec d'une part la maladie maniaco-dépressive (futur trouble bipolaire) et d'autre part la démence précoce (future schizophrénie). Cette dichotomie repose en partie sur le caractère évolutif démentiel inéluctable dans la démence précoce, et sur le meilleur pronostic de la maladie maniaco-dépressive, avec un retour possible à un état asymptomatique entre les épisodes thymiques pour celle-ci.

Pour Kraepelin, manie et dépression sont deux aspects d'une même affection, qui oscille entre des phases différenciés et indépendantes. Il introduit également la possibilité d'un état intermédiaire où coexistent des affects dépressifs et maniaques, l'état mixte.

Dans sa description chaque patient dispose d'une rythmicité qui lui est propre, d'une tendance saisonnière particulière dans la rechute, ainsi que d'un intervalle libre qui lui est distinctif.

Il rapporte également dans ses travaux l'abord évolutif de la maladie, avec une accélération de la cyclicité, un allongement de la durée des épisodes et un raccourcissement des intervalles libres au cours du temps.

Kraepelin déjà fait mention de l'existence d'un sous groupe à début précoce plus sévère et décrit également l'existence d'une histoire familiale chez certains sujets introduisant une prédisposition héréditaire du trouble.

L'école de Wernicke, Kleist et Leonhard dans les années 50, fait la dichotomie entre trouble unipolaire et trouble bipolaire. Elle distingue une forme caractérisée par la survenue récurrente d'épisodes dépressifs : la forme unipolaire, et une autre par l'alternance entre

manie et dépression : la forme bipolaire (15). Cette dissociation nosographique repose sur un symptôme cardinal qu'est la présence d'un épisode d'excitation maniaque ou hypomaniaque.

Les travaux de Angst, Perris, Winokur et Clayton soutiennent cette dichotomie, qui sera officialisée en 1980 avec la 3ème édition du DSM (16).

En 1976, Dunner propose une catégorisation en fonction de l'intensité symptomatique de la phase d'élation de l'humeur, distinguant le trouble bipolaire de type I avec des épisodes maniaques, et le trouble bipolaire de type II, dont les épisodes d'excitation sont atténués n'excédant pas le niveau d'intensité de l'hypomanie (17). Cette distinction entrera en vigueur dans la version révisée du DSMIII (DSM-III-R) en 1987 (18).

L'arrivée du DSMIII, en 1980, introduit pour la première fois l'appellation « Troubles Bipolaires » (19).

Ceux-ci sont regroupés, au même titre que les troubles dépressifs, dans une classe intitulée « troubles affectifs ». Le trouble bipolaire est ensuite subdivisé, en fonction de l'épisode actuel, en trouble bipolaire maniaque, dépressif ou mixte.

Dans cette lignée, sa version révisée, le DSM-III-R propose en 1987 la distinction entre trouble bipolaire type I, trouble bipolaire type II, et introduit la cyclothymie (dépression mineure et symptomatologie hypomaniaque au long cours) comme un trouble à part entière.

Dans le DSM-IV (1994) puis sa version révisée (DSM-IV-R) en 2000, les troubles maniaques restent regroupés avec les troubles dépressifs sous l'appellation « troubles de l'humeur ». L'organisation des troubles se retrouve modifiée, avec de nouveaux sous-types et d'autres spécifications (20).

En plus des 4 grands sous-types que sont type I, type II, cyclothymie et trouble bipolaire non spécifié, sont rajoutés comme sous types : le trouble de l'humeur dû à une affection médicale générale et le trouble de l'humeur induit par une substance psycho-active.

Enfin, le DSM-5 publié en 2014 (1) propose comme principal changement une nouvelle méta-structure des troubles de l'humeur. Les troubles bipolaires sont désormais séparés des troubles dépressifs dans une catégorie propre intitulée « troubles bipolaires et troubles connexes ». Ce chapitre est placé entre les chapitres « Spectre de la schizophrénie et autres troubles psychotiques » et « Troubles dépressifs ». Le choix de cette nouvelle

classification est le fait de progrès récents dans le domaine de la recherche qui tendent à les associer à ces deux classes diagnostiques sur le plan aussi bien de la symptomatologie, que des antécédents familiaux et de la vulnérabilité génétique.

Il comporte ainsi 6 catégories :

-Trouble bipolaire I
-Trouble bipolaire II
-Trouble Cyclothymique
-Trouble bipolaire associé a une autre affection médicale
-Trouble bipolaire dû à un abus de substance
-Trouble bipolaire non classé ailleurs

I.1.B) Les phénotypes dans le DSM-5

Nous nous intéresserons ici aux 3 principales catégories de troubles bipolaires retrouvées dans le DSM-5, à savoir le trouble bipolaire de type I, le trouble bipolaire de type II et le trouble cyclothymique.

Outre le changement de structure des troubles de l'humeur, le comité de rédaction du DSM-5 propose d'inclure dans le critère principal des manies et hypomanies, le changement d'humeur et l'augmentation du niveau d'énergie et d'activation. Ce nouveau critère semble important : d'une part il permettrait de palier au mauvais repérage par certains patients du caractère euphorique et exalté de l'humeur (notamment pour les phases d'hypomanie), et d'autre part il semble plus facilement objectivable par le sujet (21).

Les critères diagnostiques pour un épisode dépressif majeur dans les troubles bipolaires sont les mêmes que les critères de trouble dépressif unipolaire, et ce quel que soit le type de trouble bipolaire (Annexe 2).

I.1.B) (1) Le Trouble bipolaire I

Le trouble bipolaire de type I est défini par la présence d'un épisode de manie, symptôme cardinal nécessaire à la définition de ce trouble.

Le plus souvent, des épisodes dépressifs majeurs s'intercalent entre les épisodes d'excitation maniaque dans l'évolution de la pathologie, mais ils sont non indispensables selon le DSM pour le diagnostic du type I.

La clinique de la manie a été abondamment décrite par les auteurs classiques.

Typiquement d'apparition rapide voir brutale, il s'agit « d'une période nettement délimitée durant laquelle l'humeur est élevée, expansive ou irritable de façon anormale et persistante, avec une augmentation anormale et persistante de l'activité orientée vers un but ou de l'énergie, persistant la plus part du temps, presque tous les jours, pendant au moins une semaine (ou toute autre durée si une hospitalisation est nécessaire). » (1)

Traditionnellement, l'état maniaque est considéré par définition comme un état psychotique (22) : du fait de l'intensité des troubles, imposant souvent une hospitalisation (parfois une hospitalisation sous contrainte), car il s'accompagne dans la moitié des cas de symptômes psychotiques, où dominent des idées délirantes, des hallucinations ainsi qu'une désorganisation de la pensée du discours et du comportement, et enfin car une anosognosie du sujet est très fréquemment retrouvé pendant les épisodes de manie.

Il est à noter également que l'état mixte (présence concomitante de symptômes de dépression et d'excitation de l'humeur) autrefois propre au trouble bipolaire de type I, s'élargie dans le DSM5 et peut ainsi se rencontrer au cours d'un trouble bipolaire de type II et au cours d'un épisode dépressif majeur.

Les critères cliniques du trouble bipolaire de type I sont décrits en annexe 1.

I.1.B) (2) Le Trouble bipolaire II

Le trouble bipolaire de type II se caractérise par la présence d'au moins un épisode d'hypomanie associé à un ou plusieurs épisodes dépressifs.

Classiquement, l'hypomanie est d'une durée plus brève que la manie, et l'intensité des symptômes de l'exaltation de l'humeur est moins sévère que pour l'épisode maniaque, entraînant une altération moins marquée du fonctionnement.

Pour autant, les conséquences en terme de comorbidités addictives et anxieuses, la fréquence des épisodes thymiques, et le nombre de tentatives de suicides semblent comparables dans ces deux grands types de troubles bipolaires. Seule la durée d'hospitalisation semble plus courte chez le sujet ayant un trouble bipolaire de type II (23).

Si le trouble bipolaire de type I est facilement identifiable du fait d'épisodes maniaques typiques, le diagnostic de trouble bipolaire de type II est quant à lui plus difficile à établir. En effet l'évolution du trouble bipolaire de type II est majoritairement dominé par la présence de symptômes dépressifs et les épisodes d'hypomanie sont rarement perçus par le sujet comme pathologiques (24). Le trouble bipolaire de type II serait diagnostiqué à tort en tant que trouble dépressif récurrent dans 40% des cas (25).

Les critères cliniques du trouble bipolaire de type II sont décrits en annexe 2.

I.1.B) (3) Le Trouble cyclothymique

La cyclothymie apparait comme un tableau clinique caractérisé par la présence de symptômes thymiques de façon quasi permanente pendant une période d'au moins deux ans.

Ces symptômes sont caractérisés par des éléments d'hypomanie et par des symptômes dépressifs ne répondant pas à l'ensemble des critères de l'hypomanie et de l'épisode dépressif caractérisé (26). Il s'agit d'une définition excluant les patients ayant présenté un épisode maniaque ou hypomaniaque, dépressif ou mixte, mais le DSM-5 admet la possibilité d'établir un double diagnostic, à savoir une cyclothymique associée à un trouble bipolaire ou à un épisode dépressif majeur.

Certaines études ont montré de façon intéressante que le trouble cyclothymique pouvait être associé à un plus grand risque de développer un trouble bipolaire. En effet, environ un tiers des patients cyclothymiques développerait un trouble bipolaire, avec une association préférentielle pour le trouble bipolaire de type II (27). Néanmoins, cette

association ne permet pas de discerner si la cyclothymie est un facteur de risque indépendant de trouble bipolaire, ou s'il s'agit d'une phase prodromale du trouble.

Du point de vu catégoriel, la cyclothymie apparait donc comme une forme atténuée de trouble bipolaire dans son expression symptomatique. Par une approche dimensionnelle, la cyclothymie pourrait être apparentée à un tempérament affectif.

Les critères cliniques du trouble cyclothymique sont décrits en annexe 3

I.1.B) (4) La Dépression dans le trouble bipolaire

Concernant l'épisode dépressif caractérisé dans le trouble bipolaire, il n'y a pas de caractéristiques pathognomoniques dans le DSM-5 permettant de le différencier de la dépression unipolaire.

En comparaison à la polarité maniaque ou hypomaniaque, l'état dépressif est majoritaire dans le cours évolutif du trouble, aussi bien en terme de fréquence des épisodes, mais aussi concernant l'épisode inaugural (28).

La recherche tend à identifier des caractéristiques cliniques qui doivent faire évoquer le diagnostic de trouble bipolaire de la manière la plus précoce possible, afin de permettre au patient de recevoir les traitements médicamenteux et les mesures d'éducation thérapeutique les plus appropriées le plus tôt possible.

Les indices cliniques des dépressions bipolaires, comparativement aux dépressions unipolaires, reposent classiquement sur (29):

- Un âge de début plus précoce dans la dépression bipolaire,
- La survenue d'un épisode dépressif dans le post-partum,
- Des caractéristiques psychotiques, ou une tonalité mélancolique plus fréquents dans la dépression du sujet bipolaire,
- Un ralentissement psychomoteur marqué avec un émoussement des affects,
- Des signes somatiques d'atypicité (hypersomnie, hyperphagie, sensation de jambes lourdes),
- Un risque suicidaire plus élevé dans le trouble bipolaire,
- La présence d'antécédents familiaux de trouble bipolaire,
- La présence d'antécédents personnels de virage de l'humeur sous antidépresseurs.

Bien que non validés par le DSM, le clinicien se doit de rechercher ces caractéristiques spécifiques lors d'un épisode dépressif, le pronostic global d'un trouble bipolaire non diagnostiqué restant largement défavorable par rapport à celui du trouble unipolaire (30). Les sujets déprimés atteints d'un trouble bipolaire peuvent recevoir à tord des antidépresseurs au long cours, pouvant entraîner la survenue d'un virage de l'humeur, et le retard de mise en place d'une thymorégulation efficace aggrave l'évolution de la maladie (25).

I.1.C) Elargissement du concept : la notion de Spectre Bipolaire

La notion de spectre bipolaire, est introduite par Klerman en 1983, qui propose un concept plus large du trouble bipolaire que celui défini par les classifications usuelles (31).

L'émergence du spectre bipolaire est née en partie avec la notion de tempérament soulignée dès la médecine hippocratique, en lien avec la théorie des humeurs. Selon Akiskal, «le tempérament est le déterminant des manifestations comportementales et émotionnelles innées, endogènes et/ou biologiques de la personne, opposé en cela au caractère, définissant les comportements et les réactions émotionnelles acquises, sensibles au développement et à l'éducation» (32).

L'existence de tempéraments affectifs, plus ou moins prononcés, chez les sujets sains et les patients, avant comme après le début des troubles, permettraient d'étudier le processus évolutif conduisant aux troubles bipolaires. Ils aideraient également à ne pas méconnaitre une vulnérabilité existante au sein d'une famille ou au niveau individuel.

Traditionnellement on décrit 5 tempéraments (Tableau1) : le tempérament cyclothymique, le tempérament hyperthymique, le tempérament dépressif, le tempérament anxieux et le tempérament irritable. C'est par la description des 3 premiers tempéraments, qu'il a été suspecté des formes de troubles bipolaires dits « atténués » donnant ainsi naissance à la définition d'un spectre bipolaire.

Tempérament	Clinique
Hyperthymique	Sujet exubérant, grégaire, petit dormeur, bavard, enjoué, expansif
Dépressif	Sujet sensible, manquant d'énergie, dévoué, faisant passer l'intérêt des autres avant le sein, ayant tendance à voir uniquement la part négative des choses, n'aimant pas les changements
Cyclothymique	Sujet dont l'humeur est instable, connaissant des variations de l'énergie, comme des capacités motrices et intellectuelles
Anxieux	Sujet craintif, ayant souvent peur d'apprendre une mauvaise nouvelle ou qu'un malheur arrive à ses proches
Irritable	Sujet pouvant être explosif sans raison apparente, se disputant facilement, bagarreur et impulsif, ayant des ivresses pathologiques

Tableau 1 : Description synthétique des 5 tempéraments affectifs (33)

Le spectre implique donc une plus grande diversité de présentations cliniques, soit des phénotypes divers, mais qui résulteraient d'une même base éthiopathogénique avec des fondements génétiques en communs. Dans cette définition, c'est par une approche dimensionnelle plutôt que catégorielle des troubles que la notion de continuum entre les entités du spectre est privilégiée.

Akiskal a largement participé au concept de spectre bipolaire, principalement à partir de deux constats (34):

- L'amélioration des symptômes thymiques avec l'utilisation des thymorégulateurs, ainsi que leur rôle prophylactique dans le traitement de troubles affectifs ne répondant pas aux catégories de troubles bipolaires du DSM.
- La constatation d'un regroupement de troubles affectifs, voir de tempéraments affectifs au sein de familles comportant des sujets atteints de trouble bipolaire.

Il définit une approche dimensionnelle avec un spectre comportant 4 catégories, basées sur le chevauchement symptomatique existant entre les entités (Tableau 2).

Bipolaire ½	Trouble Schizo-affectif
Bipolaire I	Trouble Bipolaire de Type I
Bipolaire I ½	Dépression + Hypomanie prolongée
Bipolaire II	Trouble bipolaire de Type II
Bipolaire II ½	Episode dépressif + tempérament Cyclothymique
Bipolaire III	Dépression récurrente + virage de l'humeur induit par un traitement antidépresseur
Bipolaire III ½	Virage de l'humeur induit par l'abus d'alcool ou de toxique
Bipolaire IV	Dépression et tempérament Hyperthymique (exubérence, expensivité)

Tableau 2 : Le spectre bipolaire selon Akiskal (35)

I.2 ASPECTS GENETIQUE DES TROUBLES BIPOLAIRES

I.2.A) Détermisme génétique des Troubles Bipolaires

En épidémiologie, le risque morbide est considéré comme l'estimation du taux d'une pathologie donnée chez les apparentés, en prenant en considération la période à risque de développer la pathologie chez ceux-ci (36).

Pour montrer l'existence d'un risque morbide chez les apparentés, il faut montrer que la maladie est plus fréquente chez les apparentés du premier degré des malades (parents, enfants, fratrie) que dans la population générale. Il faut donc être en mesure de mettre en évidence une agrégation familiale de la ou des pathologie(s) d'intérêt(s). Quand le risque morbide est déterminé, un risque relatif pour les apparentés du premier degré de développer la pathologie concernée peut être calculé. Le risque relatif chez les apparentés se défini comme la prévalence de la maladie chez les sujets apparentés d'un sujet malade rapporté à celle de la population générale (37).

Dès les années 70, apparaissent les premières publications s'intéressant au risque de survenue de trouble bipolaire dans les familles (38). Depuis lors, les différentes études d'épidémiologie portant sur les études de famille retrouvent un tableau remarquablement similaire, caractérisé par une augmentation importante du risque de survenue de trouble bipolaire dans les familles de sujets bipolaires en comparaison aux familles de témoins.

Une étude familiale Suédoise, portant sur une très large cohorte, réalisée à partir de données de registres nationaux, s'intéressait à l'agrégation familiale du trouble bipolaire. A partir de l'étude de 4 millions de familles, 53 723 patients bipolaires ont été identifiés. Les auteurs ont retrouvé une agrégation familiale forte de la pathologie, avec un risque relatif (RR) de développer un trouble bipolaire chez les apparentés du premier degré entre 5,8 et 7,9 par rapport à la population générale. Celui-ci diminuait au sein d'une même famille avec la distance génétique, c'est à dire que le risque relatif diminuait progressivement chez les apparentés du deuxième degré (RR=2,2-3,3) et du troisième degré (RR=1,6). Ainsi, le risque de survenu du trouble apparait toujours supérieur chez les apparentés de deuxième et troisième degré par rapport à celui de la population générale (39).

La présence d'une agrégation familiale, est un argument pour l'existence de facteurs héritables, mais ne suffit pas à identifier une composante génétique. Tous les traits familiaux ne sont pas génétiques, et des taux de pathologies élevés dans une famille pourrait être le fait d'une influence environnementale partagée. A titre d'exemple, la maltraitance ou les abus sexuels dans l'enfance sont les facteurs environnementaux post-nataux les plus fréquemment retrouvés comme associés au trouble bipolaire (40).

L'action combinée des facteurs de risque à la fois génétiques et environnementaux se retrouve dans toutes les pathologies. Certaines pathologies étant plus soumises à l'action du facteur génétique, comme dans le cas des maladies à transmissions mendéliennes, d'autres à l'action du facteur environnemental, comme c'est le cas pour les maladies infectieuses. Les maladies complexes, dont le trouble bipolaire, se situeraient dans une position intermédiaire pour l'action de ces deux facteurs (Figure 1).

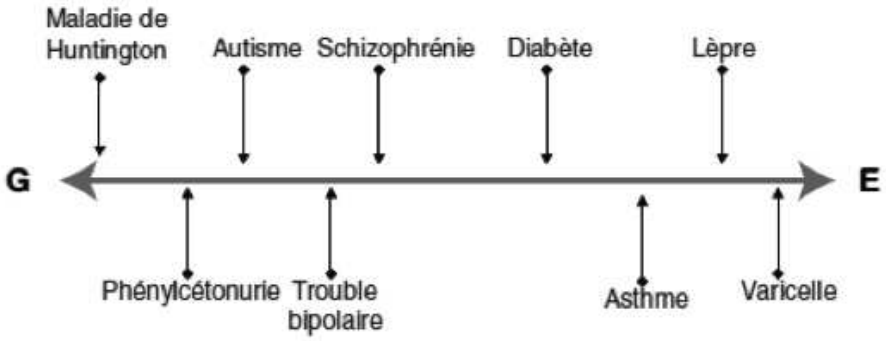


Figure 1: Gradient des facteurs génétiques et environnementaux dans les pathologie.
G représente la composante génétique et E la composante environnementale (41)

Seules les études portant sur le taux de concordance entre jumeaux et les études familiales d'adoption ont permis de dissocier la part attribuée aux facteurs génétiques de celle attribuée à l'environnement.

Le principe des études de jumeaux consiste à comparer le taux de concordance de la pathologie (c'est à dire le fait que la paire de jumeaux présente la pathologie) chez les jumeaux monozygotes à celle des jumeaux dizygotes. Ces études, malgré des chiffres variables, rapportent toutes un taux de concordance supérieur chez les monozygotes, attestant de la part génétique de la pathologie (42). Ces chiffres de concordance chez les monozygotes n'atteignent jamais 100%, témoignant de la place de l'effet de l'environnement dans le trouble bipolaire.

La composante génétique peut être quantifiée grâce au calcul de l'héritabilité. Celle-ci évalue la part des facteurs génétiques dans la probabilité d'apparition d'un phénotype donné au sein d'une population donnée. Autrement dit, elle mesure la part de la variance phénotypique liée aux facteurs génétiques. L'héritabilité est calculée à partir des études de taux de concordance entre jumeaux.

Elle s'exprime ainsi : h2= (%MZ concordants-%DZ concordants)/(100%DZ concordants). Celle-ci est estimée à 60% dans le trouble bipolaire (39).

Les études d'adoption permettent de séparer la composante génétique et la composante environnementale prénatale, de la composante environnementale post-natale. Peu d'études d'adoption ont été effectuées dans les troubles bipolaires. Ces études sont limitées par la faible probabilité de recruter des familles d'adoptants, et de pouvoir disposer des données des parents biologiques. Ces études ont montré que la prévalence de la pathologie est supérieure chez les parents biologiques (7%) comparé aux parents adoptifs (1,8%), cette dernière étant proche de celle de la population générale (43).

I.2.B) Constat actuel des résultats obtenus par les techniques de génétiques traditionnelles

Une fois le caractère héréditaire du trouble bipolaire établi, l'identification de gènes de susceptibilité se heurte aux difficultés rencontrées dans les maladies à déterminisme génétique complexe.

Les premières études réalisées l'ont été par le biais d'approche de « gène candidat » ou par l'approche « étude de liaison ».

Les analyses de gènes candidats partent d'une hypothèse à priori concernant un gène d'intérêt, en général suggéré par les mécanismes neurobiologiques connus. Les mécanismes d'action des psychotropes utilisés dans les troubles de l'humeur ont largement orientés les analyses de gènes dits candidats, codant pour des protéines impliqués par voie directe ou indirecte dans les mécanismes d'action de ces psychotropes.

A titre d'exemple, le gène qui a été l'un des plus étudié dans les maladies psychiatriques et en particulier dans le trouble bipolaire, est le gène *SLC6A4,* codant pour le transporteur plasmatique de la sérotonine. Ce transporteur permet la recapture de la sérotonine de la fente synaptique après libération du neurotransmetteur (44). Il existe deux polymorphismes fréquents au niveau de la région promotrice de ce gène, correspondant soit à une insertion soit à une délétion d'une séquence de 43 nucléotides, affectant directement le taux d'expression du gène, la quantité de protéine codée et donc la capacité de recapture de la sérotonine (45).

Plus de 17 études d'association ont cherché à déterminer si l'allèle portant l'insertion ou celui portant la délétion se retrouvait de manière préférentielle chez des sujets bipolaires en

comparaison à des témoins. Ces études retrouvaient des associations contradictoires ne permettant pas de conclure de manière claire sur le rôle de ce polymorphisme dans le trouble bipolaire.

Une méta-analyse regroupant 1712 patients bipolaires et 2583 témoins issus de ces 17 études, retrouvait de manière significative une association entre les porteurs de la délétion du promoteur et le trouble bipolaire, avec un risque relatif estimé à 1,12 (46).

Néanmoins, l'effet sur le risque retrouvé est très peu augmenté, et d'autre part, cet allèle semble peu spécifique au trouble bipolaire car il est également rapporté comme associé à d'autres pathologies psychiatriques comme l'épisode dépressif, les troubles anxieux ou encore l'autisme.

Les études de liaison sont des approches sans hypothèse à priori, et utilisent des marqueurs génétiques situés dans le génome entier d'un individu pour localiser des gènes situés dans ces régions génétiques.

Les études de liaison sont des approches sans hypothèse à priori, et utilisent des marqueurs génétiques situés dans le génome entier d'un individu pour localiser des gènes situés dans ces régions génétiques.

Le principe de ce type d'étude repose sur la transmission commune de ces marqueurs et du phénotype d'intérêt, au sein des familles, et de déterminer un gène causal de la maladie si celui-ci est situé dans la région du marqueur génétique transmis. Ces marqueurs sont en général des microsatellites, soit une séquence d'ADN constituée d'une répétition continue de plusieurs nucléotides, cette répétition peut être de taille variable. Pour le trouble bipolaire, ces études ont permis d'identifier plus de 400 marqueurs génétiques potentiels sur l'ensemble du génome (47).

Bien que ces études se soient multipliées dans le cadre du trouble bipolaire, aucun gène ayant un réel impact dans le déterminisme du trouble bipolaire n'a pu être identifié et répliqué de façon convaincante, cette approche n'étant probablement pas suffisamment puissante pour capturer la variabilité génétique de la maladie. En effet ces régions de liaison génétique sont de très grandes taille et comportent donc un grand nombre de gènes à explorer en détail à la recherche de variants génétiques.

Depuis le séquençage du génome complet au début des années 2000, et la découverte d'un nombre considérable de polymorphismes fréquents répartis sur l'ensemble du génome,

les dernières années ont été marquées par les études d'associations sur génome entier ou GWAS (*Genome Wide Association Study*) (48).

Chaque individu dispose dans son génome de deux copies de tous les chromosomes, à l'exception des chromosomes sexuels, et présente donc 2 allèles pour chaque gène. On nomme polymorphismes nucléotidiques simples, les SNPs (*Single Nucléotid Polymorphism*), les sites où la séquence d'ADN du génome peut varier d'une seule base d'un individu à l'autre. Ces variants génétiques dits fréquents ont une fréquence allélique (*MAF Minimal Allele frequency*) MAF> 1%, c'est à dire qu'ils se retrouvent chez plus de 1% dans la population générale.

Il existe environ 10 millions de SNPs chez chaque individu, et ils constituent les variations génomiques interindividuelles les plus courantes. Un groupe d'allèles SNPs peut être transmis conjointement lorsqu'ils se situent dans une région chromosomique proche, constituant un haplotype. Même si une même région chromosomique peut contenir de nombreux SNPs, la localisation de quelques SNPs marqueurs issus du même haplotype suffit pour connaître la nature de la variation génétique dans cette région. Si la majorité des haplotypes courants se retrouvent dans toutes les populations humaines, leur fréquence peut varier d'une population à l'autre. Le projet HapMap vise à cartographier dans le génome l'ensemble des SNPs retrouvé dans les études, et d'établir leurs fréquences dans chaque population (49).

Les études par GWAS partent du postulat que des polymorphismes nucléotidiques fréquents (SNP de fréquence > 1-5%) sont impliqués dans les maladies fréquentes (50).

Ces études d'associations cherchent à identifier quels SNPs ont une fréquence allélique significativement différente entre 2 groupes : les patients souffrant d'un trouble bipolaire et des sujets témoins, et testent en moyenne jusqu'à 1 millions de SNPs entre les groupes.

Elles nécessitent un nombre considérable de sujets pour être en mesure de maintenir un seuil de significativité de 5% de faux positifs à l'échelle d'un SNP. En effet du fait du nombre très élevé de SNPs testés, il est nécessaire d'appliquer une correction de Bonferroni pour chaque test d'association réalisé, soit d'atteindre un seuil de significativité de l'association au niveau d'un SNP de 10^{-8}. Même si une association au risque de 5% de faux positifs est retrouvée à l'échelle d'un variant, les études par GWAS doivent être répliquées

sur des cohortes indépendantes, mais issues d'une même population de manière à ce que la fréquence allélique des polymorphismes soit relativement similaire (51).

Une récente revue de la littérature fait état des principales associations retrouvées par GWAS dans le trouble bipolaire. (Tableau 3) 5 signaux d'association ayant atteint le seuil de significativité ont été retrouvés avec le trouble bipolaire et répliqués sur de larges échantillons pour les gènes *CACNA1C, ANK-3, ODZ-4, SYNE-1, TRANK1* (52).

Auteur	Année	Journal	Population	Cas (N)	Contrôles (N)	Gènes associés significativement	Autres gènes impliqués
Baum	2007	Mol Psychiatry	NIMH and German	461 & 772	563 & 876	_____	*DGKH*
WTCCC	2007	Nature	WTCCC	1,868	3,000	_____	*KCNC2, GABRB1, GRM7, SYN3*
Ferreira	2008	Nature Genetics	STEP-BD & UK & Ireland	4,387	6,209	*CACNA1C, ANK3*	
Sklar	2008	Mol Psychiatry	STEP-BD	1,461	2,008	_____	*MYO5B*
Smith	2009	Mol Psychiatry	GAIN	1,001 & 345	1,033 & 670	_____	*NAP5, DPY19L3, NTRK2*
Hattori	2009	Am J Med Genet B	Japanese	107 & 395	107 & 409	_____	
Djurovic	2010	Journal of Affective Disorders	Norwegian, Icelandic	194 & 435	336 & 10,258	_____	*DLEU2, GUCY1B2, PKIA, CCL2, DPP10, CNTNAP5, FBN1*
PGC-BD	2011	Nature Genetics	PGC-BD	7,481 & 4,496	9,250 & 42,422	*CACNA1C, ODZ4*	
Smith	2011	PLoS Genetics	BiGS	2,191	1,434	_____	
Yosifova	2011	Gene Brain Behav	Bulgarian	188 & 122	376 & 328	_____	*GRIK5, PARD6B, CTSH*
Cichon	2011	American Journal of Human Genetics	MooDS (German)	6,030	31,749	*NCAN*	
Lee	2011	Molecular Psychiatry	Han Chinese	1,000 & 409	1,000 & 1,000	_____	*SP8, ST8SIA2, KCTD12, CACNB2*
Chen	2013	Molecular Psychiatry	meta-analysis	6,658 & 484	8,187 & 1,823	*TRANK1*	*ANK3*
Muhleisen	2014	Nature Communications	PGC-BD & MooDS	9,747	14,278	*ANK3, ODZ4, TRANK1, ADCY2*	
Xu	2014	BMC Med Genet	Canadian and UK	950	950	_____	*SYNE1 , ZNF659, CNTNAP5, CDH13*

WTCCC: Wellcome Trust Case Control Consortium, STEP-BD: Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder, BiGS: Bipolar Genome Study, GAIN: Genetic Association Information Network, PGC-BD: Psychiatric Genomics Consortium-Bipolar Disorder Working Group, MooDS: Systematic Investigation of the Molecular Causes of Major Mood Disorders and Schizophrenia

Tableau 3: résultats des études d'association par GWAS réalisées dans le trouble bipolaire (52)

CACNA1C code pour une sous unité d'un canal calcique voltage-dépendant, et est considéré comme l'un des gènes ayant l'une des plus fortes susceptibilité génétique dans le trouble bipolaire dans la mesure ou il est retrouvé comme associé dans plusieurs GWAS.

De façon intéressante, lorsqu'un variant d'intérêt est identifié comme associé au trouble, il est possible de s'intéresser au rôle fonctionnel de l'activité neurale du gène, soit par le biais d'étude d'imagerie fonctionnelle, soit par le biais de tests neuropsychologiques chez des sujets porteurs du SNP associé de ce gène.

C'est le cas du variant rs1006737 pour *CACNA1C*, où les études en imagerie s'intéressent au niveau d'activation de l'hippocampe, de l'amygdale, et du cortex préfrontal pendant une tâche cognitive impliquée dans les processus émotionnels. A titre d'exemples, Wessa retrouve une augmentation de l'activité de l'amygdale chez des sujets sains porteur de l'allèle lors d'une tâche de récompense monétaire (53). Erk rapporte que les sujets sains porteurs de l'allèle à risque sur *CACNA1C* ont une hypoactivation hippocampique significative lors d'une tâche de mémorisation, ainsi qu'une réduction du couplage

fonctionnel inter-hippocampiques pendant la tâche (54). Néanmoins, pour une autre étude portant sur les mêmes tâches cognitifs réalisée chez des porteurs du variant rs1006737, à la fois chez des sujets sains porteurs, des patients bipolaires, et des patients schizophrènes, retrouve une augmentation de l'activité hippocampique gauche et ce indépendamment du statut de malade ou non malade et indépendamment du diagnostic (55).

Le gène *ANK-3* code pour une protéine cytoarchitecturale, l'Ankyrine-3 localisée spécifiquement dans le système nerveux au niveau de la jonction neuro-musculaire, du segment initial de l'axone et au niveau des nœuds de Ranvier.

Une récente étude rapporte qu'au niveau cellulaire, l'Ankyrine-3 jouerait un rôle prépondérant dans la prolifération des neurones au cours du développement neural (56).

Une étude en imagerie fonctionnelle retrouve une réduction d'activation des voies cérébrales impliquées dans la reconnaissance faciale des émotions chez des sujets bipolaires porteurs du SNP rs10994336 du gène ANK-3 en comparaison à des sujets sains porteurs (57).

Bien que retrouvés de manière robuste dans plusieurs études d'association, les variants retrouvés sur ces gènes confèrent un risque relatif estimé faible, de l'ordre de 1,2 à 1,4 aux individus porteurs. Ainsi, les résultats sur la contribution de ces variants fréquents n'expliquent pas la forte héritabilité existante dans le trouble bipolaire (58).

<u>Plusieurs explications sont envisageables pour expliquer l'héritabilité manquante :</u>

- Il est envisageable que des variants fréquents additionnels de pénétrance très faible expliquent la part d'héritabilité restante, dont l'effet serait trop faible pour être détecté par les études d'association, à moins d'augmenter les effectifs de façon considérables (centaines de milliers d'individus), ce qui en pratique est non réalisable à ce jour.

- La recherche en psychiatrie génétique se porte actuellement sur l'hypothèse de variants rares (de fréquence <1%) qui aurait un effet sur le risque plus important (Figure 2). Cette hypothèse est directement issue des effets de la pression de sélection qui influencent la fréquence des mutations délétères dans la population. Ces mutations délétères sont rares, soit parce qu'elles sont apparues récemment (depuis quelques générations), soit parce qu'elles sont ancestrales et maintenues à une fréquence faible dans la population en raison de la pression de sélection négative (les variations qui sont le moins favorables à la survie de

l'individu qui les porte sont éliminées par le biais de la sélection naturelle). Les variants fréquents ont tendance à être plus anciens étant donné leur fréquence relativement importante dans la population générale. Il semble donc peu probable que ceux-ci soient sujets à une pression de sélection négative. Or, l'existence de variants favorisant les maladies reflète un équilibre entre la «mutation» qui crée de nouveaux variants de susceptibilité et la «sélection» qui les empêche de progresser vers une fréquence plus élevée dans la population. Par conséquent, les variants de susceptibilité aux maladies complexes ne devraient donc pas être des variants fréquents (59).

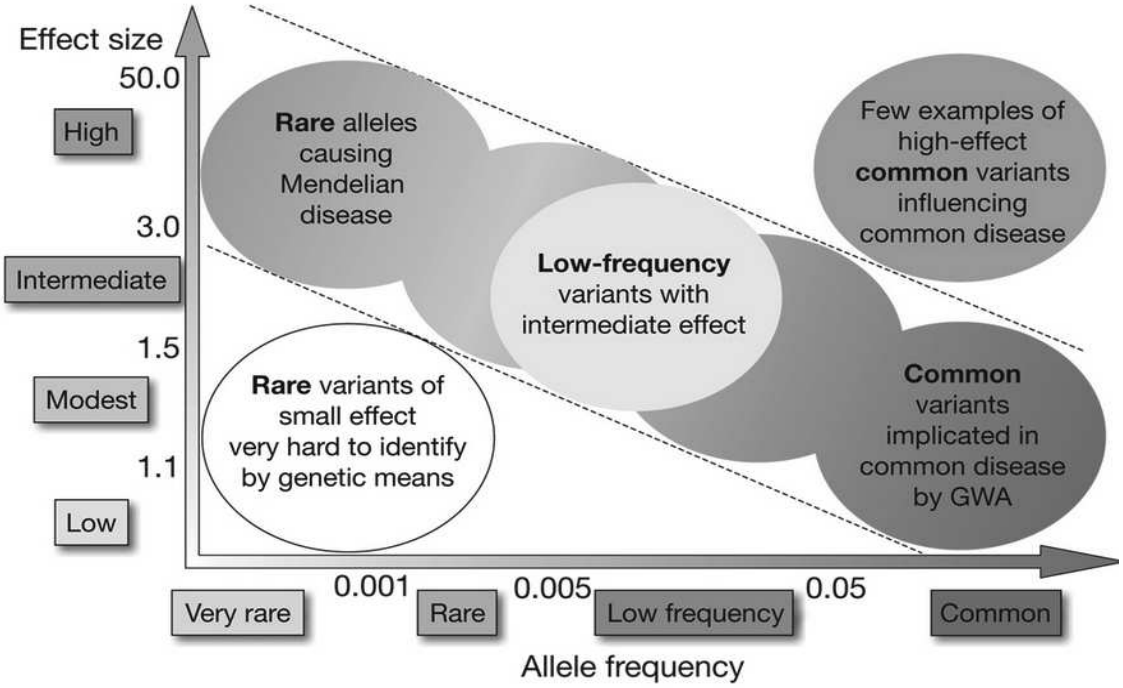


Figure 2. Impact des différents variants à l'origine de pathologies en fonction de leur fréquence dans les maladies complexes. L'axe des abscisses représente la fréquence allélique, l'axe des ordonnés représente une estimation du risque relatif. (59)

- Outre les effets des variations qualitatives fréquentes ou rares dans le génome, il existe des variations dites quantitatives, les CNVs (*Copy Number Variation*), retrouvés comme associés avec les maladies complexes dont les maladies neuropsychiatriques (60).

Les CNVs sont des variations structurales du génome de taille >1 Kb et apparaissent sous la forme de délétion ou de duplication de fragments plus ou moins grands du génome, pouvant inclure un ou plusieurs gènes.

Au même titre que les variants qualitatifs, ceux-ci peuvent être transmis ou survenir de novo, et il peut s'agir de CNVs fréquents (>1-5%) ou rares (<1%) en fonction de leur fréquence retrouvée dans la population. Les CNVs dans le génome sont localisés de manière préférentielle dans des zones de répétitions ségmentaires, les LCR (*Low Copy Repeat*) typiquement situées dans les régions péricentromériques et télomoriques. Ceux-ci, sont habituellement détectés soit par des techniques d'hybridation du génome (CGH-array), soit à partir des données des GWAS en utilisant la SNP-array.

Les CNVs dits rares ont un impact beaucoup plus importants sur le risque de survenue des pathologies, Les études retrouvent de manière robuste une augmentation des CNVs larges (>100kb) et rares dans des pathologies comme la schizophrénie, l'autisme, et le déficit intellectuel en comparaison à des témoins (61).

Dans le trouble bipolaire, la littérature rapporte un excès de CNVs totaux rares dans le trouble bipolaire, en comparaison à des témoins. Le nombre de ces variations génomiques semble moins important dans le trouble bipolaire en comparaison à la schizophrénie. Cette différence est retrouvée pour les CNVs de très grande taille (>1Mb) et pour ceux de grande taille > 500kb. Néanmoins, les stratégies de détection actuelles manquent de sensibilité pour les CNVs de petite taille (<100kb) dont le rôle reste largement inconnu, mais qui pourraient avoir un effet sur le risque important (62).

Pour ce qui est des CNVs *de Novo*, ceux-ci sont également rapportés comme associés au trouble bipolaire. Au même titre que les CNVs totaux, le nombre de CNVs *de novo* est rapporté comme supérieur dans la schizophrénie en comparaison au trouble bipolaire (63).

• Il existe également une contribution d'effets génétiques n'occasionnant pas de variations sur la séquence nucléotidique de l'ADN :

- Dans le génome les phénomènes d'épistasie, sont considérés comme les effets que peuvent entretenir les gènes entre eux, en général lorsqu'ils participent à une même voie physiopathologique (ou « pathway »). Certaines études réalisées à partir des signaux d'association issues des GWAS, cherchent à identifier des SNPs au niveau d'un pathway, puis une modélisation dite en réseau (ou « network ») est construite pour voir quels gènes interagissent de manière préférentielle entre eux.

Nurnberger et son équipe, en examinant les données de 4 GWAS (5253 sujets

bipolaires et 6874 sujets témoins), ont considérés 966 gènes dans lequel un signal d'association était retrouvé au niveau d'un SNP, inclus dans 17 pathways chez les sujets bipolaires. Une cohorte de réplication (3507 sujets bipolaires et 4886 sujets témoins) indépendante retrouvait 6 pathways de ceux retrouvés par les données de GWAS, incluant la voie de signalisation du récepteur glutamatergique, la voie de signalisation de la phospholipase C, la voie de signalisation du CRH (64).

Ce type d'études centrées sur les pathways, en prenant en considération les relations d'un gène muté au sein d'un réseau, pourraient s'avérer d'un grand intérêt pour une meilleure compréhension de l'architecture polygénique du trouble bipolaire.

- Les changements épigénétiques, sont le reflet d'une altération de l'expression du gène induits par un facteur environnemental. Ils ont la plupart du temps médiés par la modification des histones de la chromatine. Par exemple, une hypométhylation du promoteur gène de la *COMT* est retrouvé associé à la fois au trouble bipolaire et à la schizophrénie, à partir d'analyses sur un échantillon de cerveaux en post-mortem (65).

Dans le trouble bipolaire, des changements épigénomiques ont pu être identifiés chez des sujets ayant vécus des évènements de vie stressant dans la petite enfance. Lors du cours évolutif de la maladie, il existait une différence de profil d'expression génique entre les états dépressifs, euthymiques et maniaques (66).

Il a pu également être établi que le stress oxydatif généré par un nombre répété d'épisodes maniaques, pouvait modifier la méthylation de l'ADN, limitant la régulation d'expression de certains gènes (67).

I.2.C) Le séquençage de nouvelle génération dans les troubles bipolaires

Une partie de l'héritabilité manquante pourrait être expliqué par les variants génomiques rares. Le séquençage de nouvelle génération est une technique extrêmement sensible qui permet de détecter ces variations, c'est à dire de fréquence allélique inférieure à 1% dans la population, qui ont un effet sur le risque plus important dans le cadre des maladies complexes.

Les variants génétiques rares peuvent être soit des variations quantitatives, les CNVs (*Copy Number Variation*) soit des variations nucléotidiques dites qualitatives, les SNVs (*Single Nucleotide Variant*). Les variants rares se définissent par une MAF<1%.

La détection des SNVs est possible par l'utilisation du séquençage haut débit dont le séquençage d'exome. Cette stratégie a permis de découvrir que des pathologies considérés comme complexe résultaient de mutations *de novo*, ou encore que des pathologies considérées comme mandéliennes résultaient finalement d'un mode de transmission polygénique ou des variations rares portant sur plusieurs gènes étaient impliqués (68).

Ce séquençage de nouvelle génération s'intéresse soit aux exons de l'individu (le séquençage d'exome) soit au génome entier d'un individu (séquençage génome entier/*Whole genome sequencing*) incluant introns et exons.

I.2.C) (1) Principes généraux du séquençage d'exome

Le séquençage d'exome, correspond au séquençage de tous les exons du génome c'est-à-dire de toute la séquence codant pour des protéines (l'ensemble des exons des 20 000 gènes, ce qui représente 200 000 exons, incluant 30Mb sur les 30 Gb total soit environ 1,5% du génome) d'un individu.

L'avantage présenté par cette technique est de se limiter à la séquence de l'ADN transcrite en ARNm et survivant à l'épissage pour être traduite, et qui donc à priori présenterai une meilleure concordance entre le génome et un impact fonctionnel à l'échelle de la fonction protéique. L'intérêt de cette stratégie en se limitant à cette partie du génome, outre un moindre coût, est que la quantité de données générées lors du séquençage est moins conséquente en comparaison au séquençage génome entier.

L'exome de chaque individu présente un nombre de SNV de l'ordre de 17 000, dont environ 500 ont une fréquence allélique < à 0.1% et en moyenne il apparait à chaque génération un SNV *de novo* avec un impact biologique potentiel. Certaines mutations qualifiées de « privées » seraient propres à un individu ou à une famille (69). Sur le nombre important de variants rares détectés, la plupart ne constituent que des polymorphismes parfaitement bénins puisque l'on estime que chaque exome contient environ 500 SNVs susceptibles d'avoir un impact biologiques. Il est donc nécessaire de trier et de filtrer ces variations exoniques à l'aide d'outils bioinformatiques, afin d'en restreindre le nombre et de ne garder que les altérations génétiques d'intérêt.

Trois principales stratégies sont envisageables avec le séquençage d'exome (Figure 3):

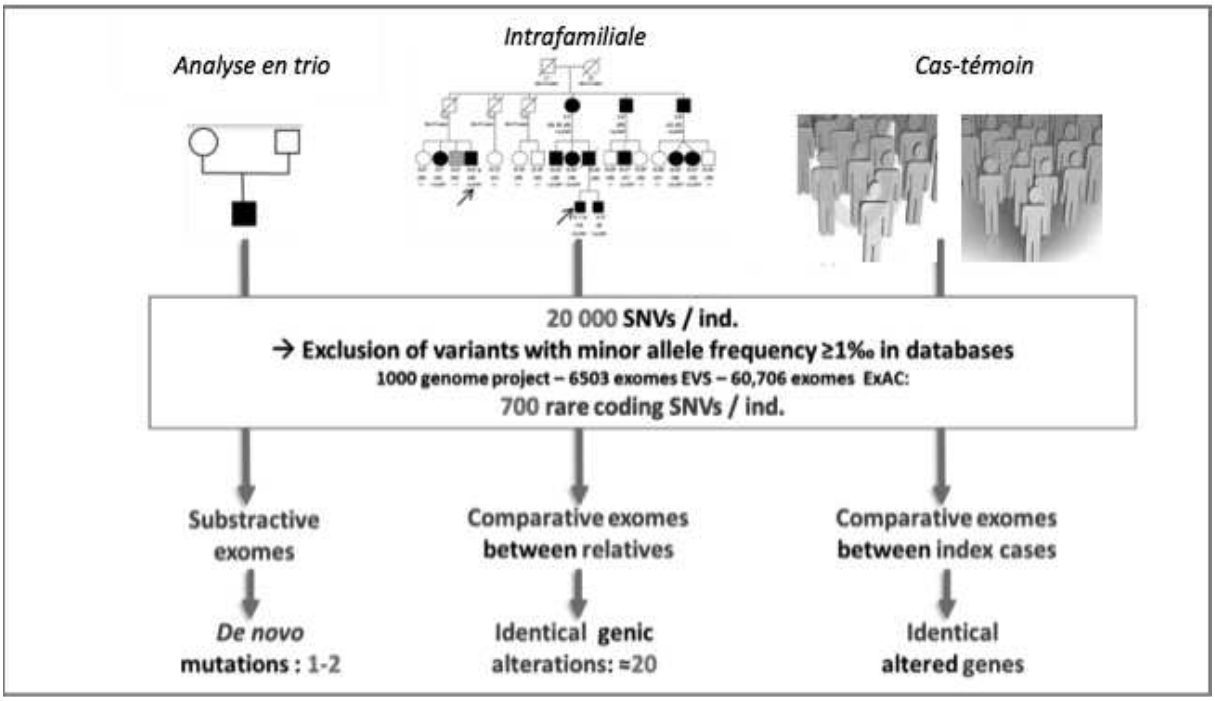


Figure 3: représentation des 3 stratégies principales dans le séquençage d'exome (D'après le Pr FREBOURG)

- Dans le cadre d'une survenue sporadique, on réalise une analyse de trio à la recherche de mutation *de novo*: on soustrait les variations des parents sains à celles de l'enfant atteint dans le but d'étudier celles qui sont uniquement présentes chez l'enfant.

- La stratégie intrafamiliale, consiste à comparer les exomes d'au moins deux individus atteints d'une même famille pour en tirer une liste réduite de variations en commun et avec l'hypothèse que celle contribuant au phénotype observé dans la famille y soit.

- Enfin, la stratégie des études d'association cas-témoins consiste à comparer des exomes de plusieurs individus atteints non apparentés à celui d'individus sains et de déterminer si la fréquence de variants dans un gène donné est supérieure dans le groupe atteint par rapport au groupe sain. Dans le cadre du design cas-témoin, plusieurs types d'associations peuvent être recherchées.

Les différents types d'associations dans les études cas-témoins (70) :

- L'association peut être réalisée à l'échelle du variant, mais cela est extrêmement difficile dans le cas de variants rares du fait de la faible probabilité de récurrence de ceux-ci dans une population.

- Plutôt que d'analyser chaque variant de façon indépendante, une façon de réduire le nombre de tests statistiques et d'atteindre un seuil de significativité de l'association moins restrictif, est d'agréger les variants rares. Cette agrégation peut être réalisée à deux niveaux :

- Soit au niveau d'un même gène : tous les variants détéctés dans un même gène sont groupés ou (« collapsés ») pour construire un variant unique. Si plusieurs variants rares sont trouvés dans un gène qui est associé au trouble, chaque variant pris individuellement devrait être extrêmement rare, alors que l'effet combiné de plusieurs variants rares dans le même gène aura un poids plus important, permettant alors plus facilement la mise en évidence de leurs effets (Figure 4).
- Cette démarche peut également être réalisée au sein d'un groupe de gènes en comparant les variants plus ou moins sélectionnés et fusionnés (« collapsés ») appartenant à un même réseau ou une voie biologique commune chez les cas versus les témoins.

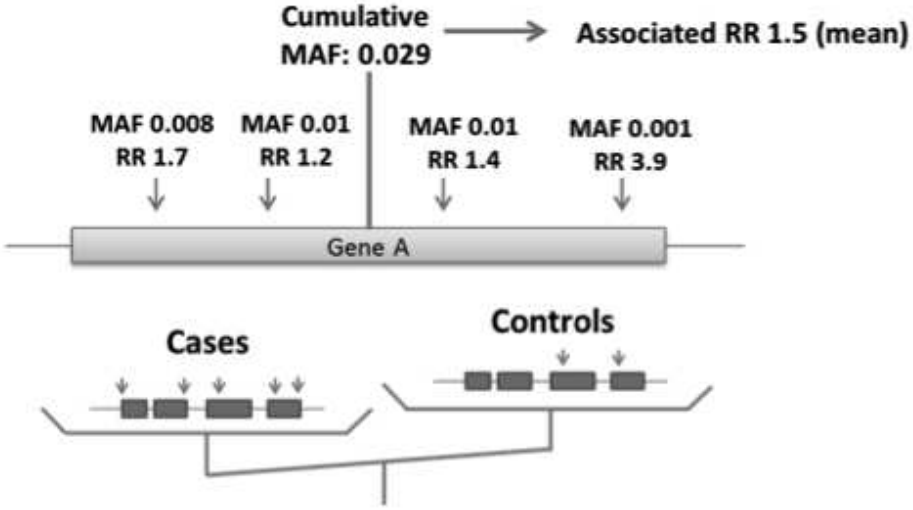


Figure 4:Principe des tests de type burden (collapsing) dans le cadre des études cas-témoin, basés sur les variants rares. Les chiffres sont donnés à titre d'exemples. Les variants rares sont fusionnés en un seul variant fictif chez les cas, et le même principe est appliqué aux témoins. Le test cherche à identifier une différence de charge en variants rares entre cas et témoins.

I.2.C) (2) Résultats obtenus dans les troubles bipolaires

Une récente revue de la littérature rapporte les principaux résultats retrouvés par séquençage d'exome dans le trouble bipolaire (Tableau 4).

Résumé des études portant sur le séquençage dans le trouble bipolaire : génome entier et exome

	Study design	Sample		Platform	Findings
Chen *et al.*, 2013	Case–control study	191 BD, 107 controls	Exome	Nimblegen v1.0/ Illumina GAII, Numblegen v2.0/Illumina HiSeq2000	Seven gene-sets were nominally associated with BD
Cruceanu *et al.*, 2013	Large pedigrees	250 individuals from 25 families	Exome	SureSelect Human All Exon v4/HiSeq2000	ZNF259 F387L variant showed completely linkage with BD in one pedigree
Kerner *et al.*, 2013	Single family	3 affected siblings and an unaffected sibling	Exome	TruSeq/Illumina	Linkage with eight genes (IQUB, JMJD1C, GADD45A, GOLGB1, PLSCR5, VRK2, MESDC2, FGGY) related to CREB signaling
Georgi *et al.*, 2014	Large pedigree	50 subjects of a pedigree consisting of 497 individuals	Whole genome sequencing with linkage analysis	Complete Genomics	Each nominally significant linkage peak had several deleterious variants, but no robust risk loci were identified
Strauss *et al.*, 2014	Large pedigrees	7 subjects of 4 families	Exome	SureSelect Human All Exon 37Mb(v1)/ Illumina GAII	KCNH7 R394H mutation was associated with BD
Fiorentino *et al.*, 2014	Case only	99 patients with BD	Whole genome	Complete Genomics	CACNA1C rs79398153 and ANK3 N2643S were associated with BD

BD, bipolar disorder.

Tableau 4: études portant sur le séquençage dans le trouble bipolaire (71)

L'équipe de Chen et al est la première équipe à avoir réalisé une étude cas-témoin de séquençage d'exome en utilisant un design d'association de type burden, en agrégeant les variants au niveau d'une voie biologique (72).

L'échantillon était constitué de 191 patients bipolaires comparés à 107 contrôles et une tendance d'association était retrouvée pour des variants dans 7 gènes. Ces gènes étaient retrouvés dans les pathway impliquées dans la guidance axonale, la signalisation calcique synaptique, l'interaction ligand récepteur de la synapse, et la voie de signalisation *MAPK*.

La tendance d'association retrouvée comme la plus probante concernait la voie de *MAPK,* voie de signalisation retrouvée de manière ubiquitaire intervenant dans la transduction du signal extracellulaire vers le cytosol, médiant notamment la transduction des facteurs de

croissance . Une augmentation d'activité transcriptionnelle de la voie MAPK a pu être identifié dans les monocytes périphériques chez des sujets bipolaires (73).

Kerner et al, ont réalisé une étude intrafamiliale de séquençage d'exome au sein d'un pédigré comportant 4 enfants dont 3 sujets présentaient un phénotype bipolaire et un sujet sain. Les parents étaient indemnes de toutes pathologie psychiatrique, au même titre que les générations supérieures. 8 SNVs rares étaient partagés chez les sujets malades, et n'étaient pas retrouvés chez le sujet non affecté de la famille ni chez 200 sujets contrôles (74).

Les 8 gènes portant ces SNVs codaient pour des protéines impliquées dans la voie de signalisation de la protéine CREB *(Cyclic adenosine monophosphate Response Element Binding protein)*. Cette voie de signalisation bien qu'ubiquitaire a pu être identifié au niveau cérébral, et jouerai un rôle central dans la plasticité synaptique, la neurogénèse hippocampique, et dans la régulation et la réponse au stress chronique (75).

Le lithium aurait une action sur la voie de signalisation CREB. L'utilisation de ce traitement en prophylaxie des rechutes thymiques agirait en diminuant la phosphorilation de CREB (76)

L'implication des gènes *CACNA1C* et *ANK3* retrouvés comme associés au trouble bipolaire dans les études par GWAS, a également été étudiée à l'échelle des variants rares (77). Après génotypage chez environ 1 500 cas et 1 000 témoins, les SNVs les plus associés présentaient des p valeurs peu significatives, respectivement 0,015 et 0,042 pour un SNV dans *CACNA1C* (*Minor Allele Frequency*, MAF = 0,03) et un SNV dans *ANK3* (MAF = 0,003). Bien qu'utilisant le séquençage à haut-débit, cette étude raisonnait variant par variant, et non à l'échelle du gène, ce qui semble être maintenant la clé pour les études d'association basées sur les variants rares (70).

Ces études n'ont pas encore permis d'identifier sans équivoque, quels gènes influenceraient la survenue du trouble bipolaire, probablement en lien avec des effectifs trop petits, des designs statistique d'études non adaptés aux variants rares, et parfois un groupe hétérogène de patients. Pour autant, de nouvelles approches statistiques et analytiques apparaissent pour être en mesure de détecter ces variations par séquençage. L'une des stratégies proposée est celle de concentrer sur un sous-groupe de sujet affecté par la pathologie, présentant des caractéristiques phénotypiques similaires (78).

II. DEUXIEME PARTIE: VERS DE NOUVELLES APPROCHES PHENOTYPIQUES

II.1 LIMITES DES DESCRIPTIONS PHENOTYPIQUES ACTUELLES DU TROUBLE BIPOLAIRE

En absence de critères de validité externe, la définition actuelle des phénotypes en psychiatrie s'appuie sur des symptômes cliniques regroupés en entités syndromiques. Ces entités syndromiques permettent par une vision catégorielle des pathologies d'avoir une fidélité inter-cotateur satisfaisante. Néanmoins, une bonne validité de construction clinique ne garantit pas l'existence d'une validité étiologique génétique ou biologique (79).

L'observation de chevauchements symptomatiques de certaines pathologies psychiatriques pouvant être superposables pendant le cours évolutif de la maladie évoque alors la possibilté de fondements étiopathogéniques partagés. L'exemple typique est celui de l'épisode dépressif dont les symptômes sont retrouvés à la fois dans la dépression unipolaire et dans la dépression du trouble bipolaire. De la même façon, l'existence du trouble schizo-affectif caractérisé par Kasanin, empruntant à la fois de la symptomatologie aux troubles bipolaires et à la schizophrénie suggère l'idée d'une possible appartenance génétique commune entre les entités (80).

Si les études d'épidémiologie s'intéressant au risque familial révèlent toutes un risque morbide plus élevé de trouble bipolaire chez les apparentés de premier degré du cas par rapport à la population générale, elles font également état d'un risque morbide supérieur pour d'autres pathologies psychiatriques chez eux par rapport à la population générale (43).

Ainsi des épisodes dépressifs récurrents et de dysthymie sont plus fréquemment identifiés chez les familles de sujets bipolaires que dans des familles de témoins (81).

Les études d'agrégation ont également mis en avant une co-agrégation du trouble bipolaire avec la schizophrénie. Dans l'étude de Song et Lichtenstein, qui s'intéressait à l'agrégation familiale du trouble et à sa co-agrégation avec les autres pathologies psychiatriques, la co-occurrence avec les autres pathologies psychiatriques au sein des familles était considérable. La corrélation la plus importante retrouvée était avec la dépression, soit de 0 ,62 et celle retrouvée pour la schizophrénie était de 0,44.

L'équipe de Song suggère que le trouble bipolaire pourrait appartenir à la fois au spectre des troubles affectifs, et à celui des troubles psychotiques. Néanmoins, les auteurs soulignent que le lien du trouble bipolaire serait plus important avec le spectre des troubles de

l'humeur (39).

Les études de biologie moléculaire réalisées ont confirmés l'existence de gènes partagés entre les différentes entités de la nosographie psychiatriques. Ainsi, le Cross-Disorder Group of Psychiatric Genomics Consortium a mis en évidence des SNPs communs entre les 5 pathologies psychiatriques, que sont la schizophrénie, le trouble bipolaire, l'autisme, l'épisode dépressif et le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité. Même si le degré avec lequel une mutation est en lien avec un trouble individualisé ou est partagé entre plusieurs troubles reste peu clair, la corrélation entre des SNPs partagée la plus forte était celle retrouvée entre la schizophrénie et le trouble bipolaire (82).

Au regard de la littérature, la susceptibilité génétique partagée pour lequel le niveau d'évidence est le plus fort, est celle existante entre le trouble bipolaire et la schizophrénie (83). Des gènes tels que *DISC1* (Disrupted in schizophrenia 1) ou *NRG1* (Neuregulin 1) ont été identifiés dans des échantillons indépendants, par le biais d'études de liaison dans des familles ou les 2 pathologies étaient présentes (83). Pour Craddock et Owen selon leur modèle, certains gènes seraient plus spécifiques aux troubles bipolaires, d'autres à la schizophrénie, enfin certains seraient communs aux deux entités (Figure 5). Ils suggèrent des hypothèses alternatives, comme celle d'une base génétique totalement commune entre troubles affectifs et troubles schizophréniques, l'expression phénotypique des troubles étant modulée par des facteurs environnementaux spécifiques à chacun.

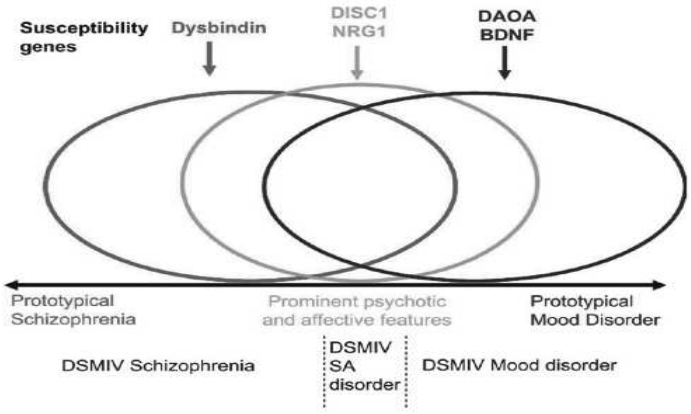


Figure 5 : Relation entre gènes de vulnérabilité et phénotypes cliniques selon le modèle de Craddock et Owen (83). Le chevauchement des ellipses représente le chevauchement d'un ensemble de gènes. En rouge les gènes susceptibles d'influer sur le phénotype de la schizophrénie, en vert les gènes communs décrivant le phénotype schizo-affectif, en bleu les gènes de susceptibilité du phénotype bipolaire.

Devant ces différents niveaux d'incertitude phénotypique pour le trouble bipolaire, élaborer des stratégies dans le sens de la restriction phénotypique semble en toute logique, la manière la plus appropriée de dégager un sous groupe à génotype plus identique, et pourrait faciliter l'identification des gènes impliqués dans ces phénotypes.

II.1.A) Approche Endophénotypique

Les endophénotypes sont des traits neurophysiologiques mesurables (mesures biologiques, physiologiques, neuroanatomiques ou neurocognitives) présents chez les sujets atteints de la pathologie d'intérêt mais également présents chez les apparentés non atteints.

Un endophénotype doit répondre aux caractéristiques suivantes (84):
- Etre associé avec la maladie dans la population.
- Etre stable dans le temps, non modifiable et indépendant de l'état ; c'est à dire présent avant, pendant et après le développement de la pathologie.
- Etre héritable.
- Dans les familles, l'endophénotype et la maladie coségrégent.
- Dans les maladies complexes : l'endophénotype présent chez les patients est présent chez des sujets non atteints de la famille, avec une prévalence supérieure par rapport à la population générale.

Pour les maladies psychiatriques à hérédité complexe, étudier une population partageant un endophénotype permettrait de « mendéliser » ce marqueur et de faciliter l'identification de gènes de susceptibilité en lien avec l'expression de cet endophénotype.

Plusieurs modèles dans lesquels de même gènes pourraient être associés à des endophénotypes ont été proposé dans le trouble bipolaire, à partir d'anomalies retrouvés chez les patients et leurs apparentés (85). Néanmoins, ces modèles ne sont pas validés par des études d'association génétique à ce jour (figure 6).

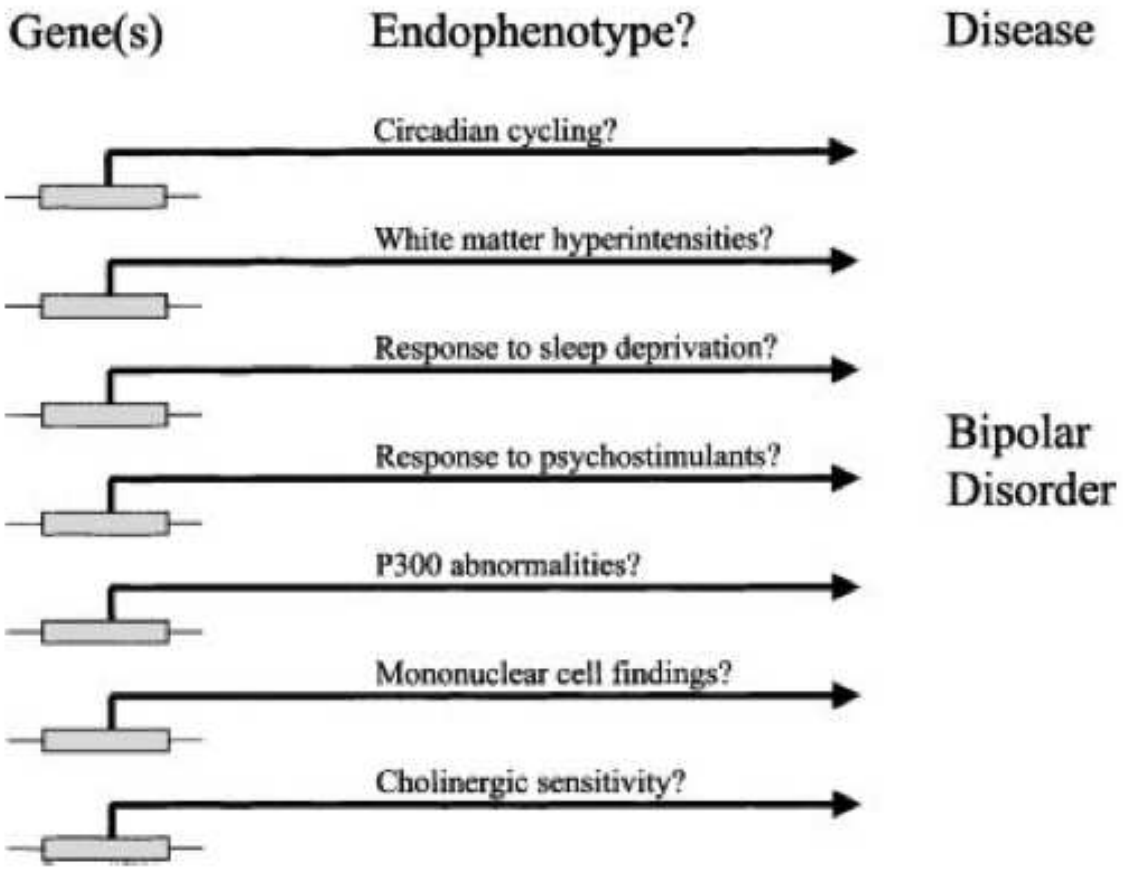


Figure 6. Modèles de la susceptibilité génétique avec les endophénotypes proposés dans le trouble bipolaire (85).

A notre connaissance, seul l'endophénotype concernant l'onde P300 a pu être validé au niveau d'étude génétique.

Les anomalies de l'onde P300 est une caractéristique cognitive largement décrite dans la schizophrénie, également rapportée dans le trouble bipolaire dans les études portant sur les potentiels évoqués. Chez le sujet sain, l'onde P300 est une onde positive enregistrée 300 ms lorsque celui-ci détecte un stimulus auditif inattendu et imprévisible. L'amplitude de l'onde serait un indice électroencépholagraphique qui reflèterait la qualité de la mémoire de travail. Chez les sujets schizophrènes et bipolaires ainsi que chez leurs apparentés du premier degré, il existe une réduction de l'amplitude de l'onde P300 (86).

Dans une large famille composée de sujets affectés de schizophrénie et de trouble bipolaire, la translocation interrompant le gène *DISC1* mise en évidence était retrouvée comme associée à une réduction d'amplitude de l'onde P300 chez tous les sujets de la famille porteurs de la translocation (87)

Le rôle des variants du gène *DISC1* sur l'onde P300 a été recherché par étude d'association, dans un échantillon comportant 279 patients bipolaires, schizophrènes et des apparentés non affectés, en comparaison à 208 contrôles non apparentés. Un polymorphisme de *DISC1* était associé significativement avec une réduction de l'amplitude de l'onde P300 pour le SNP rs821597 (88).

D'autre part l'étude clinique et psychométrique des tempéraments affectifs pourrait s'avérer prometteuse dans la recherche des substrats génétiques des troubles bipolaires. En effet, par définition, les tempéraments sont héritables, et stables dans le temps indépendamment de l'état thymique d'un sujet au moment de son évaluation. Les tempéraments sont facilement évaluables quantitativement à l'aide de l'autoquestionnaire TEMPS-A (89). Une étude menée par GWAS a décrit une association entre plusieurs polymorphismes avec différents tempéraments chez des patients présentant un trouble bipolaire de type I. L'idée était de déterminer quel sous-type de tempérament était le plus associé à une région génétique, l'association retrouvée la plus probante était entre un variant et l'existence d'un tempérament irritable. Néanmoins, seuls des patients étaient évalués en comparaison à des témoins dans cette étude et leurs apparentés n'étaient pas pris en considération (90).

II.1.B) Approche par Symptômes candidats

Une autre approche employée pour dégager un sous-groupe étiologiquement plus homogène est une approche par symptôme candidat. Un symptôme candidat peut être défini comme une caractéristique clinique observable chez les sujets atteints et associé aux caractéristiques suivantes (91) :

- La définition d'une forme clinique plus homogène (profil clinique, évolutif ou thérapeutique),
- Un risque plus élevé d'être atteint chez les apparentés de 1er degré,
- Une concordance entre jumeaux monozygotes et entre paires de germain atteints.

Dans le cadre du trouble bipolaire, certaines études génétiques ont utilisé cette approche par des symptômes candidats différents.

La réponse au lithium a pu être identifiée comme un marqueur trait familial pharmacologique, dans la mesure où les sujets bipolaires répondeurs présentent une histoire familiale positive de réponse à ce traitement (52).

De façon générale concernant la réponse au lithium, on estime que 30% des sujets traités seront d'excellents répondeurs, 30% seront des répondeurs partiels et 40% des sujets traités seront non répondeurs à ce traitement (92).

Les caractéristiques cliniques du groupe de sujets répondant favorablement au traitement par lithium en comparaison aux non répondeurs sont décrites ainsi (93):

- Les sujets présentent des épisodes typiques et récurrents,
- Lorsqu'ils sont traités en monothérapie seule par lithium, la réponse pharmacologique est maintenue,
- Les sujets ne présentent pas de symptômes résiduels entre les épisodes,
- Les comorbidités anxieuses et addictives sont moins importantes dans ce groupe,
- Ils présentent une histoire familiale de troubles bipolaires et de troubles unipolaires de bonnes réponses au lithium,
- De plus, les familles de troubles bipolaires répondant au lithium présentent une co-agrégation moins importante avec la pathologie schizophrénique.

Les études par gène candidat menées chez des répondeurs au lithium ont suggéré l'association à de nombreux gènes potentiels, notamment ceux de la famille des gènes CREB, ou encore des gènes impliqués dans la voie du facteur neurotrophique BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*) mais peu de gènes identifiés n'ont pu être répliqué (94).

Une étude récente par GWAS a été menée dans une population Taiwanaise entre des patients bipolaires répondeurs au lithium en comparaison à des patients non répondeurs. Cette étude retrouvait un signal d'association très fort chez les répondeurs avec un variant fréquent du gène *GADL-1* (Glutamate Decarboxylase Like protein 1), avec une significativité jamais égalée pour un variant dans le trouble bipolaire ($p= 6,6x10^{-62}$) (95). Des variations du gène *GADL-1* sont fréquentes dans la population de l'Asie de l'Est, on ne retrouve pas de variations fréquentes au sein d'autres populations pour ce gène. Néanmoins, une association entre des répondeurs au traitement par lithium et la présence de ce variant n'a pas pu être retrouvée dans des études de réplication dont les sujets étaient issus de la même population (96).

Une approche par stratégie intrafamiliale de séquençage d'exome a été entreprise dans des familles de patients répondant bien à la monothérapie par sels de lithium. Les auteurs ont mis en évidence pour une famille une variation située dans le gène *ZPR1* qui ségrégait avec les membres affectés du trouble bipolaire. Cependant, devant le peu de données disponibles dans la littérature pour ce gène, il est difficile de conclure quant au potentiel impact de cette variation dans la survenue du trouble bipolaire (97).

L'existence de tentatives de suicides se retrouve agrégée au sein des familles de sujets bipolaires (98). Une étude comparant les données de GWAS entre des sujets bipolaires présentant une histoire familiale de suicide versus des sujets sans antécédents de tentatives de suicides a retrouvé un signal d'association sur la région 2p25 (rs300774). Ce SNP était proche avec le gène *ACP1*, dont l'expression a pu être retrouvé comme augmentée significativement chez des patients bipolaires ayant réalisé un suicide abouti (99).

Nous explorerons plus avant dans les parties suivantes les 2 symptômes candidats retenus pour cette étude que sont : un âge de début précoce de survenue du trouble bipolaire (symptôme candidat le plus décrit dans la littérature) et l'agrégation familiale.

II.2 L'AGE DE DEBUT PRECOCE COMME SYMPTOME CANDIDAT

Déjà, Kraepelin, fait mention de l'existence d'un sous groupe de sujets entrant plus précocement dans la maladie et dont l'évolutivité est plus sévère. Il décrit également l'existence d'une histoire familiale plus forte chez ces sujets, introduisant la notion d'une prédisposition héréditaire du trouble. Dans sa 8ème édition du traité de psychiatrie, les patients maniaco-dépressifs débutant le trouble entre 15 et 20 ans étaient majoritaires.

II.2.A) Arguments cliniques

De nombreux arguments sont en faveur d'une grande homogénéité clinique du sous groupe de trouble bipolaire à début précoce. Cela représente la grande majorité du trouble, puisque l'on estime que 70% déclarent le trouble avant 24 ans (113).

Ces résultats princeps de Kraepelin ont été depuis confirmés par de nombreuses études cliniques dont la STEP-BD qui retrouve un âge du premier épisode avant 18 ans chez 68% d'une cohorte de 3658 patients (100).

De nombreuses études font état d'un profil plus lourd en terme de comorbidités chez les patients bipolaires dont l'âge de début est précoce. Dès 1977, il a pu être décrit chez les patients bipolaires ayant un âge de début inférieur à 30 ans un risque plus important d'alcoolisme et de sociopathie (101).

Goldstein et Burkstein (102) retrouvent une plus grande prévalence des addictions (tabagique, cannabique et alcoolique) dans le trouble bipolaire à début précoce, ainsi qu'un risque augmenté de difficultés légales, scolaires et de décès par suicide.

L'étude STEP-BD retrouve chez les patients débutant un trouble bipolaire avant 18 ans plus de comorbidités anxieuses et addictives, de récurrences thymiques, des périodes d'euthymie plus courtes et d'avantage de comportements violents et de tentatives de suicide (103).

Il a été également rapporté une plus grande propension aux caractéristiques psychotiques dans les épisodes thymiques chez les patients à début précoce, ainsi que plus d'épisodes mixtes, et de comorbidités anxieuses (104).

Dans ce sous-groupe, les troubles hyperactifs avec déficit de l'attention sont retrouvés de façon plus fréquente (105).

D'autre part, le sous-groupe précoce souffrirait d'un allongement du délai diagnostique et de sa prise en charge (106). Une réponse prophylactique au lithium moins bonne chez ces sujets est également rapportée (104).

Somatiquement, on retrouverait un risque accru de facteurs de risques cardiovasculaire chez les patients ayant un trouble bipolaire à début précoce, notamment le diabète, l'obésité, une hypertension artérielle associée à une élévation du tonus sympathique, ainsi qu'une dysfonction thyroidienne. Ces facteurs de risques cardio-vasculaires étaient identifiés avant le diagnostic de trouble bipolaire (107).

Si les auteurs s'accordent pour la définition de l'âge de début à l'âge d'apparition du premier épisode thymique (108), les seuils proposés pour individualiser les différents sous-groupes ainsi que le nombre de groupes proposés sont moins consensuels et font toujours débat dans la littérature (109).

La distribution de l'âge de début du trouble peut être modélisé à l'aide de modèles mathématique dits d' « admixture » ou de mélange de distribution. Ces modèles rendent compte de la distribution observée d'un nombre n de sous-groupes de distribution gaussienne dans une population (110).

Ainsi depuis une quinzaine d'année, de nombreuses études utilisant un modèle d'admixture retrouvent une distribution du trouble bipolaire en 2 (début précoce et début tardif) ou 3 (début précoce, début intermédiaire, début tardif) groupes distincts.

Dans ce type d'études, les valeurs seuils d'âge de début proposées sont hétérogènes et souvent fixées de manières arbitraires, limitant ainsi le niveau de preuve et de réplication entre les études.

Finalement, en regroupant les études portant sur l'âge de début par modélisation d'admixture, et cherchant à identifier un sous groupe précoce, le seuil d'âge de début proposé oscille entre des valeurs extrêmes de 18 ans (111) et 40 ans (112).

Geoffroy et al (113), en reprenant les résultats issus de 8 études d'admixtures, retrouvent une distribution en 3 sous-groupes. Ils définissent ainsi le seuil du trouble bipolaire à début précoce par un âge inférieur ou égal à 21 ans, ce modèle disposant d'un écart-type réduit (21.33 $\pm$ 1.41). Cette forme est très fréquente sur l'ensemble des échantillons avec une moyenne de 44,80%. Avec ce seuil d'âge de début du trouble, le profil clinique du trouble bipolaire à début précoce comprend : plus de tentative de suicide, plus de forme à cycles rapides, plus d'addiction à l'alcool et aux drogues, de symptômes psychotiques, d'anxiété généralisée, d'attaques de panique et de troubles obsessionnels compulsifs.

Comme soulevé par Grigoroiou, l'une des incohérences rencontrée dans la proposition de répartition en trois groupes du trouble bipolaire par ces études réside dans le fait que les différences cliniques sont comparées pour la plus part entre le groupe à début précoce et celui à début tardif, le groupe à début intermédiaire étant souvent ignoré. Ainsi son étude avait pour but d'évaluer le modèle optimal pour la répartition de l'âge de début dans un échantillon combiné de 1503 bipolaire de type I. Il ne ressortait pas de différence entre une répartition en deux ou trois groupe, et il retrouvait un cut-off à 24 ans pour le début précoce (114).

Ces arguments mettent en avant un profil d'expression clinique pour le trouble bipolaire à début précoce, en terme de comorbidité et d'évolutivité, et renforcent l'idée de

l'individualisation d'un sous groupe à phénotype plus homogène. Il paraît également raisonnable de penser, que le seuil de début pour celui-ci se situerait entre 18 et 24 ans (109).

II.2.B) Arguments biologiques et circadiens

De nombreux arguments ont pu être identifiés concernant des marqueurs biologiques, notamment ceux impliqués dans les mécanismes immuno-inflammatoire, en tant que médiateurs dans la physiopathologie des troubles de l'humeur. Un taux élevé de cytokines pro-inflammatoires est rapporté pendant les épisodes maniaques et pendant les épisodes dépressifs par de nombreuses études (115).

Dans le trouble bipolaire à début précoce, deux études réalisées chez des adolescents bipolaires rapportent des taux élevés périphériques de marqueurs pro-inflammatoires, retrouvant une CRP élevée, des taux bas du facteur neurotrophique BDNF (*Brain Derivated Neuronal Factor*) (116) et d'interleukine IL-6 (117). Néanmoins, ces études portaient sur de petits échantillons et nécessitent d'être confirmées par des études futures.

Concernant les anomalies du rythme circadien, c'est à dire les marqueurs intéressant les processus physiologiques rythmiques d'une période d'environ 24h, les patients ayant un trouble bipolaire à début précoce présenteraient des anomalies circadiennes plus marquées que des pour un début du trouble plus tardif (118). Dans la mesure où les caractéristiques circadiennes sont très biologiquement déterminées, elles représentent des biomarqueurs d'intérêt pour caractériser les sous-types de trouble bipolaire.

Le sous-groupe à début précoce serait sujet à plus de troubles du sommeil, avec un retard de la phase d'endormissement, (119) une fragmentation du rythme éveil/sommeil, une plus grande variabilité inter-nuit du sommeil, un allongement de la période d'endormissement ainsi qu'une augmentation des mouvements oculaires rapides pendant le sommeil et ce, même en période d'euthymie (120).

II.2.C) Arguments en neuro-imagerie

En étude d'imagerie structurelle par IRM, il a pu être constaté une hyper-densité de la substance blanche sous-corticale chez les sujets bipolaires à début précoce. (121). Ces résultats sont à considérer avec précaution, du fait du caractère aspécifique et commun avec

d'autres pathologies psychiatriques comme la schizophrénie, la dépression et l'état de stress post traumatique (122).

Une réduction du volume de l'hippocampe et de l'amygdale a pu être observé chez des patients bipolaires à début précoce (123). Le volume du Gyrus Temporal Supérieur, serait réduit de façon significative chez une population de patients enfants et adolescents atteints de trouble bipolaire (124).

Une étude en imagerie fonctionnelle, par IRMf, décrit une réduction de l'index sulcal dans la région préfontale dorso-latérale droite, ainsi qu'une réduction de l'index sulcal des deux hémisphères chez un groupe de sujet bipolaires à début précoce, en comparaison avec un groupe à début intermédiaire et au groupe témoin (125).

Une étude éléctro-physiologique par EEG (éléctro-encéphalogramme) met en avant une asymétrie hémisphérique préfrontale avec un enregistrement éléctrique réduit à droite spécifiquement chez des sujets d'âge jeune non retrouvé chez ceux d'âge moyen (126).

II.2.D) Arguments cognitifs

Les travaux neuropsychologiques concernant les altérations cognitives dans le trouble bipolaire sont florides dans la littérature.

Concernant le trouble bipolaire à début précoce, les troubles attentionnels et de la mémoire verbale semblent plus marqués chez ces sujets, et l'on observe spécifiquement chez eux des performances abaissées sur la mémoire de travail, le contrôle inhibiteur, et les capacités visuo-motrices (127).

Dans une population pédiatrique de trouble bipolaire et d'enfant à haut risque familial en comparaison à des témoins, un déficit de reconnaissance faciale émotionnelle a pu être identifiée (128).

II.2.E) Poids des facteurs environnementaux

Si la génétique du trouble bipolaire fait l'objet de nombreux travaux, les facteurs environnementaux, bien qu'ayant une participation évidente, sont moins étudiés. Néanmoins, certains facteurs environnementaux ont été identifiés comme des facteurs pouvant moduler l'âge de début du trouble.

C'est le cas des abus sexuels dans l'enfance, qui sont fréquemment retrouvés en association au trouble bipolaire, et une revue de la littérature met en avant leur corrélation avec un âge de début plus précoce de la pathologie (40). Néanmoins, il n'y a pas d'association spécifique avec ce facteur environnemental, dans la mesure ou celui-ci se retrouve associé à d'autres pathologies psychiatriques.

Un autre exemple est celui des complications obstétricales à la naissance, qui sont plus largement représentés chez le groupe précoce de trouble bipolaire (129).

II.2 F) Arguments génétiques

Une récente revue de la littérature portant sur la génétique du trouble bipolaire à début précoce fait état des principaux résultats retrouvés, à travers les 4 grandes types d'études proposées en génétique que sont les études de liaison, les études portant sur les gènes candidats, les études d'association pangénomique (GWAS), et les études portant sur la recherche de CNVs (*Copy Number Variation*) (109). A notre connaissance, aucune étude portant sur le séquençage haut-débit dans le trouble à début précoce n'apparaît dans la littérature à ce jour.

Dans le trouble bipolaire à début précoce, au même titre que dans le trouble bipolaire sans restriction d'âge, les études portant sur les analyses de liaison retrouvent des résultats souvent contradictoire et faiblement répliquées.

Pour les études portant sur les gènes candidats, des associations préférentielles avec le groupe précoce ont pu être identifiées avec certains polymorphismes pour des gènes tels le BDNF (130), le gène du récepteur dopaminergique D1 (131), le gène de la COMT *(Cathécol-o-Methyl-Transferase)* (132), le promoteur 5HTT de la sérotonine (133), le gène *TPH2* (*Tryptophan hydroxylase 2*) (134), ainsi que certains gènes de l'horloge circadienne (135).

Deux études menées par GWAS dans le trouble bipolaire à début précoce n'ont pas réussit à identifier un signal d'association, probablement du fait d'un effectif insuffisant de sujets (respectivement 370 cas vs 2400 contrôles (136) et 2836 cas vs 2744 contrôles (137)), et de l'absence de limitation phénotypique à un type de trouble bipolaire.

Les études s'intéressant aux CNVs chez les sujets présentant un trouble bipolaire à début précoce ont obtenus les résultats les plus probants.
Zhang a mis en avant un excès de CNVs totaux (transmis et *de novo*) de plus de 100kb chez 1000 sujets présentant un trouble bipolaire en comparaison à 1034 témoins. Cet excès était significativement plus important chez les sujets ayant présenté un premier épisode maniaque inférieur ou égal à 18 ans (138).
L'étude de Priebe comparait 882 sujets ayant un trouble bipolaire en comparaison à 872 témoins. Lors d'une analyse en sous-groupe d'âge de début de la pathologie, un excès de CNVs (duplications et délétions) était retrouvé chez les sujets ayant développé leur trouble à un âge inférieur ou égal à 21 ans. Les auteurs suggèrent que les CNVs auraient une influence dans le développement du trouble bipolaire à début précoce, mais n'influencerait pas la survenue du trouble à début tardif (139).

II.3 L'AGREGATION FAMILIALE COMME SYMPTOME CANDIDAT

D'une manière générale, on estime que 60% des sujets présentant un trouble bipolaire ont une histoire familiale de trouble bipolaire, et que 40% des sujets présenteraient une forme dite sporadique (39).

Le mode de transmission du trouble bipolaire à longtemps fait débat. L'arrivé du séquençage de nouvelle génération à permis de reconsidérer le modèle de transmission du trouble bipolaire.

Initialement, dans les années 1990, l'observation de la ségrégation du trouble bipolaire dans certaines familles répondant à un mode de transmission mendélienne s'est concentrée à identifier des mutations monogéniques, responsables du phénotype.

Devant l'absence de réplication de ces résultats, puis la découverte d'un nombre considérable de variations fréquentes dans le génome, l'hypothèse majeure des années 2000 était celle d'un nombre multiples de gènes impliqués sous l'influence de l'environnement.

Depuis la découverte des variants rares ayant un effet important sur le risque dans les maladies complexes, il est envisagé, dans certaines familles chez qui l'agrégation familiale du trouble est forte, un mode de transmission plus simple dit « oligogénique quasi-mendélien », dans lequel il y aurait un nombre limité de gènes impliqués (78).

Finalement, en l'espace d'une trentaine d'année, le mode de transmission envisagé actuellement s'est rapproché du modèle initial proposé, et se situerait à la fois entre un modèle mendélien pur et un modèle polygénique (Figure 7).

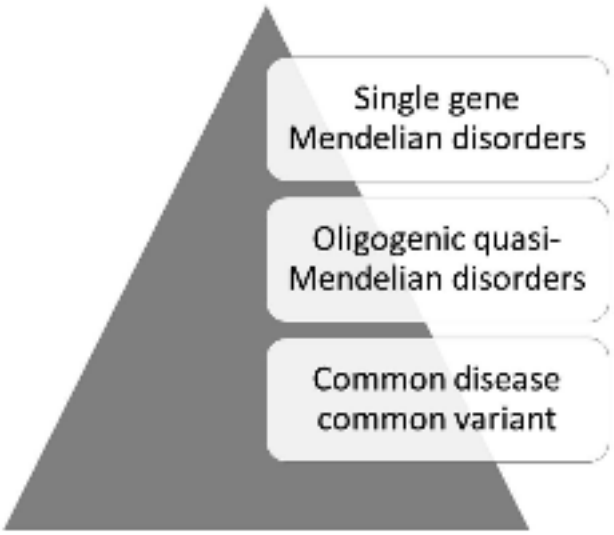


Figure 7. Les différents modèles génétiques dans le trouble bipolaire (78).

L'un des enjeux du séquençage de nouvelle génération pour tester l'hypothèse d'un modèle quasi-mendélien, est de s'intéresser aux familles dont la transmission évoque une transmission mendélienne, et donc présente une forte agrégation familiale.

Cette stratégie a pu être employée dans d'autres pathologies complexes dont la maladie d'Alzheimer à début précoce. Dans des familles où la transmissions était compatible avec une transmission autosomique dominante, l'équipe de l'unité INSERM 1079 à pu mettre en évidence l'implication du gène *SORL1* dans cette forme de la pathologie (140)

Dans le trouble bipolaire, quelques études menées par séquençage de nouvelle génération portent sur des familles multiplex.

De manière intéressante, il existe de nombreux travaux portant sur des membres de la communauté Amish des Etats-Unis. Cette communauté dans laquelle se trouve une forte agrégation de pathologies psychiatriques, est connue pour être isolée, et descend d'ancêtres européens.

Une étude par séquençage d'exome chez 26 sujets dont 14 présentant un trouble bipolaire issus de 4 familles de cette communauté, a pu mettre en avant un variant du gène *KCNH7,* gène codant pour une sous-unité du canal calcique voltage dépendant, sans atteindre néanmoins un seuil de significativité (141).

Georgi et al se sont également intéressés à cette communauté. Ils ont d'abord réalisé une analyse de liaison par génotypage en SNP-array chez 388 individus issus d'une même famille, afin d'identifier des variants candidats. Puis ils ont complété leur étude en réalisant un séquençage génome entier chez 50 individus dont 23 sujets bipolaires afin d'identifier précisément la localisation de ces variants et leur association préférentielle avec la maladie. Ils n'ont pas été en mesure d'identifier un variant avec ce design d'étude (142).

Un des designs d'étude par séquençage permettant de déterminer si certaines familles correspondraient à un mode quasi-mendélien de transmission, est de réaliser une étude cas-témoin par séquençage, puis de réaliser une étude de co-ségrégation dans la famille du cas.

En effet, certains variants trop rares (voir restreints à une famille dans le cas des variations privées) pour être détectés par une étude d'association simple, peuvent être identifié en évaluant la distribution des variants ségrégant au sein de la famille du cas.

Cette stratégie a été réalisée récemment par séquençage du génome entier, chez 200 individus issus de 41 familles. 2 à 17 patients bipolaires par famille ont été séquencés. Par cette stratégie, un SNV a pu être identifié comme associé significativement au trouble bipolaire. Il s'agissait d'un variant rare situé dans le gène *GABRA6*, codant pour une sous unité α du récepteur GABA-A. Ce SNV était prédit comme délétère sur la protéine codée par le gène (143).

III TROISIEME PARTIE : ETUDE

Dans cette partie, nous nous proposons de présenter le design de l'étude cas-témoin de séquençage d'exome que nous avons contribué à mener, dont la première partie des résultats est en cours.

Nous présenterons également les résultats obtenus chez l'un des sujets participant à l'étude cas-témoin (pour lequel nous disposons des données d'exome) qui consistent en la mise en évidence d'un CNV chez lui et au sein de sa famille.

III.1 OBJECTIF

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence un excès de SNVs (Single Nucleotidic Variant) rares, ayant une MAF <1%, agrégés au niveau du gène, prédit comme délétère sur la protéine par séquençage d'exome, chez des patients présentant un trouble bipolaire de type I en comparaison à des sujets sains.

III.2 METHODOLOGIE

III.2.A) Population étudiée

III.2.A) (1) Critères d'inclusion des cas

- Patients avec diagnostic de trouble bipolaire de type I selon le DSM-IV-TR, ou le DSM-5 si le recrutement était postérieur à 2014 (pas de modification entre les deux versions du DSM pour la catégorisation en trouble bipolaire de type I).

- Dont l'âge de début du trouble est inférieur ou égal à 22 ans.

- Un apparenté au premier degré du cas index avec un trouble bipolaire, et au moins trois sujets avec trouble bipolaire selon les critères du spectre bipolaire chez les apparentés.

- Tous les cas sont nés sur le territoire français métropolitain ainsi que leurs apparentés du premier et deuxième degré.

III.2.A) (2) Critères de non inclusion des cas

- Les patients non caucasiens, ou dont les apparentés n'étaient pas caucasiens.
- Les patients ayant refusé de signer le consentement.
- Les femmes enceintes.

III.2.A) (3) Les critères d'inclusion des Témoins

Les témoins sont d'origine caucasienne, au même titre que leurs apparentés du premier degré. Ceux-ci sont indemnes de pathologie mentale de l'axe 1, ainsi que leurs apparentés du premier degré. Ils ont été recrutés dans la région haute et basse Normandie dans le cadre de la recherche sur la maladie d'Alzheimer réalisé par notre groupe. Ayant plus de 58 ans ils présentent une très faible probabilité de développer un trouble bipolaire postérieurement à leur inclusion, le deuxième pic d'âge de début du trouble étant de 38 ans (113).

III.2.B) Protocole de recherche

III.2.B) (1) Mesures prévues pour réduire les biais

Pour pouvoir détecter par étude d'association des variants rares, Il est nécessaire d'appliquer plusieurs mesures afin de réduire les biais :

La première stratégie que l'on peut proposer dans ce cadre est d'augmenter la taille des échantillons. Cette approche est retenue dans le cadre des grands consortiums tel le *Psychiatric Genomics Consortium (PGC)* (144), dans lequel nous sommes impliqués.

Néanmoins, un certain nombre de stratégies peuvent être utilisées et associées pour augmenter la probabilité de détecter un effet d'un variant rare lorsque le nombre de sujet est réduit: le choix de phénotypes extrêmes, l'agrégation des variants rares d'un même gène, la combinaison de l'étude cas-témoins et d'une étude de co-ségrégation familiale, et limiter les biais de stratification.

-Les phénotypes extrêmes : le choix des patients à phénotype extrême dans les études d'association est une méthode qui permet de réduire le nombre de sujets nécessaire pour être en mesure de détecter l'effet d'un variant rare. Si un trait phénotypique suit une distribution normale dans la population, une telle approche consiste à sélectionner les cas et les témoins en deux groupes dont les phénotypes sont opposés ou « extrêmes ». Ainsi, pour obtenir une

puissance statistique identique, il est suffisant d'inclure 4 fois moins de sujets lorsque l'on considère des patients avec un phénotype extrême (145).

Cette stratégie s'est avérée efficace pour montrer l'association de variants rares du gène *ABCA1* chez des sujets ayant un taux de HDL-cholesterol (HDL-C) à très haute concentration. Les groupes d'individus comparés étaient d'une part les cas, ayant un taux de HDL-C >5% de la distribution de ce taux dans la population, en comparaison au groupe témoin ayant un taux de HDL-C à très basse concentration, soit <5% de la distribution normale de ce taux (146).

Dans la maladie d'Alzheimer, des CNVs rares ont pu être identifié chez des sujets à phénotype extrême, présentant une forme autosomique dominante à début précoce (age de début < 55 ans) en comparaison à des formes à début tardif (age de début > 68 ans en moyenne) (147).

Dans le cas de notre étude, nous pourrions considérés que nous avons séléctionné des sujets présentant des phénotypes extrêmes. Pour les cas, nous nous sommes limités à des sujets présentant un trouble bipolaire de type I, et ayant 2 symptômes candidats associés : un âge de début précoce, et une agrégation familiale forte. Si l'on considère respectivement les données de prévalence estimées du spectre bipolaire de 5% et de 0,6% du trouble bipolaire de type I, de 70% des sujets à début précoce, et de 60% pour les cas familiaux, Nous obtenons :

$$(0,6/5) \times (0,7) \times (0,6) \approx 0,05$$ soit environ 5% du phénotype bipolaire pour les cas.

Pour les témoins, ceux-ci ont un âge > 55 ans, et représentent une proportion du phénotype bipolaire quasi nulle du fait de la très faible probabilité de déclencher un trouble bipolaire à cet âge.

- Une étude en deux étapes: pour augmenter les chances de détecter un effet de variants rares, c'est une stratégie dans laquelle la caractérisation de variants rares sera menée par une étude cas-témoin puis une étude de co-ségrégation. Si un variant est trop rare pour être détecté lors de l'étude d'association, il pourrait être retrouvé chez des apparentés affectés. Le type de famille à forte agrégation recruté est donc adapté pour ce design.

- Eviter les biais de stratification : le design d'une étude d'association suppose que les cas et les contrôles sont issus de la même population. Les consortiums internationaux sont confrontés à ce type de difficultés dans l'ensemble des études menées, nécessitant pour

chaque centre impliqué de constituer une cohorte de contrôles sains issus de la région des cas. Dans notre étude, nous avons choisis des cas et des témoins issus de la même ethnie et d'une région géographique comparable.

III.2.B) (2) Aspects règlementaires

Cette recherche s'inscrit dans le cadre réglementaire de l'étude menée par le Docteur Campion (Recherche de facteurs de risque génétiques dans trois maladies neuropsychiatriques: trouble bipolaire, autisme, schizophrénie, enregistrée à l'AFFSAPS sous le numéro : 2009-A00113-54 et qui a reçu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes du Nord-Ouest I à la date du 4 mai 2009).

III.2.B) (3) Déroulement du recrutement

Depuis mai 2009, une cohorte de patients présentant un trouble bipolaire est constituée regroupant 230 patients bipolaires. Celle-ci est constituée de patients ayant été hospitalisés au centre hospitalier du Rouvray, qui draine l'ensemble de l'agglomération rouennaise.

Afin de compléter la liste des sujets éligibles, les psychiatres des différents secteurs du centre hospitalier de Rouen, ainsi que les psychiatres libéraux de Rouen ont été informés du recrutement, et nous ont adressé des sujets soit lors de leur hospitalisation sectorielle, soit lors de leur suivi ambulatoire.

Devant le caractère restrictif des critères d'inclusion de ce phénotype limitant le recrutement, nous avons optés pour un recrutement en deux étapes. Ainsi, une première série d'exome de 48 cas était adressé au CNG (Centre National de Génotypage, Evry, France) (148) fin avril 2015. Pour la deuxième série qui devra comporter 52 cas, le recrutement est toujours en cours. Il comporte à ce jour 3 patients éligibles. Celui-ci est élargi à l'échelle régionale, notamment sur le centre hospitalier de Dieppe. Nous souhaitons également étendre notre recrutement dans la région nord-ouest, à savoir les centres de Lille, Caen et Amiens.

Pour compléter notre cohorte nous avons contacté le laboratoire du Pr KREBS, qui nous a fourni cinq cas avec leurs échantillons sanguins et leurs données cliniques.

III.2.B) (4) Evaluation clinique

L'évaluation phénotypique des patients consiste en un entretien de 1h00 comportant la

passation de 2 échelles :

- la *Diagnostic Interview for Genetic Studies* (DIGS) (149) : qui consiste en un entretien structuré spécialement conçu pour la caractérisation des troubles de l'humeur et psychotiques pour les études génétiques.
- L' *Affective Disorder Evaluation* (ADE) (150) : qui consiste en un entretien semi-structuré spécialement conçu pour caractériser les troubles de l'humeur, notamment pour la réponse aux thymorégulateurs et une sous partie évalue l'histoire familiale psychiatrique à différent degrés.

Depuis le début de la constitution de la cohorte Rouennaise, 5 évaluateurs (O.G., C.D., C.M., X.J., JB.D.) ont été en charge de ce recrutement. Tous les patients qui n'avaient pas été inclus par l'investigateur principal ont été recontactés par celui ci afin de réactualiser les données cliniques et notamment les arbres généalogiques. Cette démarche de recueil d'informations était complétée par l'appel systématique du psychiatre référent du cas index ou de son médecin traitant, ainsi que par la consultation du dossier médical d'hospitalisation du Centre Hospitalier du Rouvray.

III.2.B) (5) Enquête familiale

L'enquête familiale était réalisée avec le cas index au moment de l'entretien, et avec l'un des membres de sa famille quand cela était possible.

Elle consistait en la réalisation d'un arbre généalogique détaillé avec l'âge, les pathologies somatiques, et le trouble psychiatrique des apparentés quand il y en avait un.

Dans le cas de l'existence d'un trouble psychiatrique chez un apparenté, il était demandé au cas index de préciser au mieux s'il en avait connaissance:

- Le diagnostic chez son apparenté,
- Le nombre, lieux et dates d'hospitalisations en milieu psychiatrique,
- Le type de traitement reçu,
- Le nom du psychiatre assurant le suivi.

S'il existait un doute diagnostic chez l'un des apparentés, celui-ci pouvait être contacté directement après accord du cas index. Lorsque l'investigateur n'avait pas directement phénotypé le cas index, de manière systématique des informations étaient demandées auprès de celui-ci lors de la réactualisation des données concernant une éventuelle survenue du

trouble au sein de sa famille depuis son évaluation initiale.

Le diagnostic retenu chez les apparentés était basé sur la meilleure estimation de l'investigateur, en considérant toutes les différentes sources de recueil d'informations. Ce diagnostic était basé sur ceux proposés dans le spectre bipolaire selon Akiskal (35).

III.2.B) (6) Prélèvement sanguin

Un prélèvement sanguin périphérique, après obtention du consentement signé de participation à l'étude, a été réalisé chez tous les cas (20 cc sur EDTA). La gestion des prélèvements a été réalisée par l'unité Inserm 1079 après l'anonymisation des données.

III.2.B) (7) Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN, était réalisée à partir de lymphocytes du sang périphérique au laboratoire Inserm 1079 selon le protocole « Flexigène ».

III.2.B) (8) Séquençage d'exomes

La première série de séquençage de nos 46 cas est en cours de réalisation par le CNG.

Pour ce qui est de la technique du séquençage, la première étape consiste à fragmenter l'ADN de l'individu en fragments de 200 à 300 paires de bases, afin de générer une librairie. Les exons sont ensuite ciblés et enrichis par des amorces permettant leur capture avec le Kit Agilent SureSelect Human All Exon V5. Les brins isolés sont amplifiés par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) puis séquencés sur une plateforme *Illumina Genome Analyzer HiSEQ 2500*, selon le principe décrit dans la figure 8.

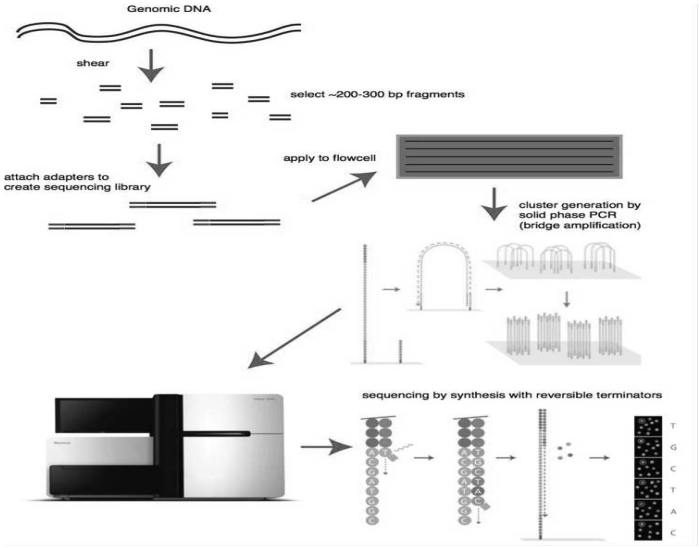


Figure 8 : Principe du séquençage sur le séquenceur Illumina

III.2.B) (9) Analyse de variations et validation

Le nombre de variants obtenus étant de 17000, une étape de trie et de filtration de ces SNVs sera réalisé pour ne conserver en moyenne que 500 variants rares. Le trie et la filtration sont réalisés en fonction de 2 critères :

- En fonction des critères de fréquence :

Une étape d'alignement sera réalisée à partir du génome humain entier de référence du *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), en utilisant BWA 0.7.5a (*Burrows-Wheeler Aligner*, Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK). Picard Tools 1.101 (Broad Institute, Cambridge, USA) GATK 3.3-0 (*Genome Analysis Toolkit*, Broad Institute, Cambridge, USA) sera employé, pour détecter les altérations génétiques (*variant calling* : SNV, indels).

Toutes le variations connues fréquentes (MAF >1%) des bases de données de référence ne seront pas retenues. Le seuil de 1% est choisi de manière à ne pas méconnaître une mutation peu fréquente dans la population ayant un réel impact sur la survenue du trouble bipolaire. Les SNVs et les indels persistant après filtration seront analysés un par un par lecture des fichiers d'alignement (et seuls ceux de fréquence allélique inférieure à 1% selon EXAC (*Exome Aggregation Consortium*, données recueillies dans Alamut Visual).

- En fonction des critères de conséquence sur la structure protidique :

L'objectif est d'éliminer les variations synonymes, et de retenir les variations potentiellement délétères : variations faux-sens, non-sens, les variations du site d'épissage et les indels (insertion-délétion). Pour cela, trois logiciels de prédiction de l'impact biologique de la mutation seront utilisés pour l'interprétation des variations :

- *SIFT* (*Sorting Intolerant From Tolerant*), établit sa prédiction en se basant sur le degré de conservation de l'acide aminé.
- *Mutation Taster* utilise les données de bases de données biomédicales, la matrice Grantham ainsi que différents outils permettant de connaître le degré de conservation de la séquence et l'impact sur l'épissage de la variation afin de la caractériser.
- *Polyphen2* utilise des données phylogénétiques et étudie quel est l'impact de la mutation sur la structure de la protéine en fonction du niveau de conservation inter-espèce.

III.2.B) (10) Analyse statistique

L'analyse d'association sera menée au niveau de la variation génique et au niveau du gène. Cependant, l'analyse statistique de variants rares souffre d'une puissance statistique faible. Combiner des tests univariés en tests multivariés à l'échellon d'une fonction (le gène, une voie biologique) est un moyen d'augmenter la puissance de l'étude. Les statistiques SKAT (70) ont été développées pour ce type d'analyse et seront utilisées dans notre étude.

Les différentes simulations de ce type d'étude permettant de mettre en évidence un excès de variants rares, montrent que les effectifs nécessaires sont de 2 à 3000 sujets par groupe. Même si notre stratégie d'association de gènes candidats permet de réduire le nombre de sujets, il n'est pas raisonnable de penser qu'avec 100 sujets par groupe nous serons en mesure d'obtenir un résultat significatif au niveau de l'étude d'association, ce qui sera abordé dans la discussion.

III.3 RESULTATS

III.3.A) Description des cas

Le diagramme de flux :

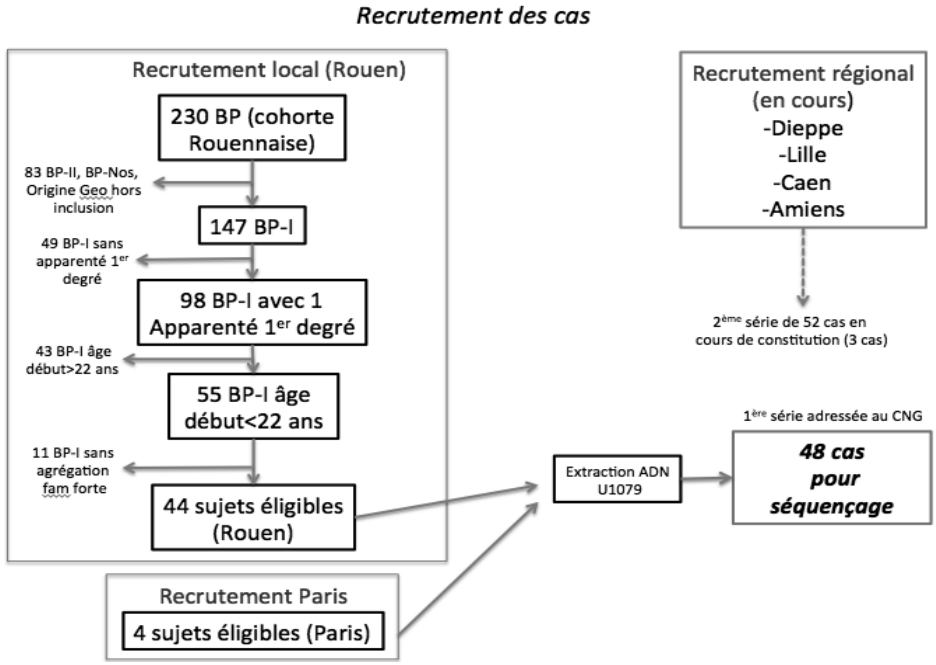


Figure 9 : Diagramme de flux. BP-I : Trouble Bipolaire de type I ; BP-II Trouble Bipolaire de type II ; BP-Nos : Trouble bipolaire non spécifié.

147 cas présentant un trouble bipolaire de type I, dont 98 d'entre eux présentant un apparenté du premier degré porteur d'un trouble bipolaire ont été identifiés dans notre base de donnée. Sur ceux-ci, 55 ont un âge du premier épisode thymique inférieur à 22 ans.

Finalement, nous avons retenus 44 sujets de notre cohorte remplissant les critères complets proposés pour cette étude. 4 autres sujets remplissant ces critères proviennent de la base de données de Paris de l'équipe du Pr KREBS.

	nombre (%)	moyenne ± DS	médiane	valeurs extrêmes Max-Min
Homme	19 (39,6%)			
Femme	29 (60,4%)			
Age		43,75 ± 16,7	43,5	76-15
Age de début		17,9 ± 2,8	17	22-12
Durée de la maladie		25,4 ± 15,7	26,5	55-0
Nombre d'apparentés au premier degré atteints				4-1
Nombre d'apparentés autre que premier degré atteints				7-0

Tableau 5. Caractéristiques démographiques des cas

III.3.B) Description des témoins

Nous disposons de 113 témoins dont les exomes sont séquencés. Les caractéristiques sont les suivantes :

	nombre (%)	moyenne + DS	médiane	valeurs extrêmes Max-Min
Homme	56 (49,6%)			
Femme	57 (50,4%)			
Age		70,5 ± 8,5	70	95-68

Tableau 6. Caractéristiques démographiques des témoins

La qualité des ADN a permis de réaliser le séquençage d'exome chez la totalité des cas dans des conditions optimales de couverture. Actuellement, les données d'exomes des cas ne sont pas disponibles, et nous ne sommes pas en mesure de présenter de résultats pour cette étude.

Néanmoins, nous proposons pour cette thèse de présenter les résultats d'un sujet participant à l'étude et pour lequel nous disposons des données d'exome ayant permis de mettre en évidence un CNV partagé au sein de sa famille.

III.4 RECHERCHE DE CNVS CHEZ UNE FAMILLE DEJA SEQUENCEE

III.4.A) Principe de détection de CNVs à partir des données d'exomes

L'intérêt dans l'approche de ces variations quantitatives en comparaison aux approches portant sur les variants qualitatifs, porte sur le fait que le ou les gènes remaniés sous la forme de duplication ou de délétion sont directement désignés chez un individu ou dans une famille, si celui ci est partagé.

Depuis 2012, par l'utilisation de logiciels bioinformatiques adaptés, il est possible de détecter des CNVs à partir des données générées par le séquençage d'exome d'un individu. Cette technique basée sur l'analyse comparative de la profondeur du séquençage, en comparant l'exome d'un individu à celui de plusieurs témoins (une trentaine en moyenne) présente plusieurs avantages en comparaison aux techniques habituellement utilisées (CGH-array et SNP-array) (151):

- Elle caractérise de manière exacte les points de cassure des CNVs dans l'exome de l'individu, c'est-à-dire leurs localisations exactes.

- Elle est en mesure de détecter les CNVs de petite taille (10 à 100kb), ceux-ci ne sont pas en mesure d'être détecté par les techniques de SNP-array.

- Contrairement à la technique d'hybridation génomique comparative (la CGH-array), cette technique ne se limite pas à la comparaison d'un seul génome de sujet témoin, permettant une meilleure estimation du nombre de CNVs détectés.

Il existe deux principaux pipelines bioinformatiques en mesure de détecter les CNVs à partir des données d'exomes : CoNIFER (*Copy Number Inference From Exome Reads*) et CANOES *(CNVs with an Arbitrary Number of Exome Samples*). En moyenne, 10 à 100 CNVs par individu sont détéctés au sein d'un exome par cette technique. (Illustration de la technique figure 10)

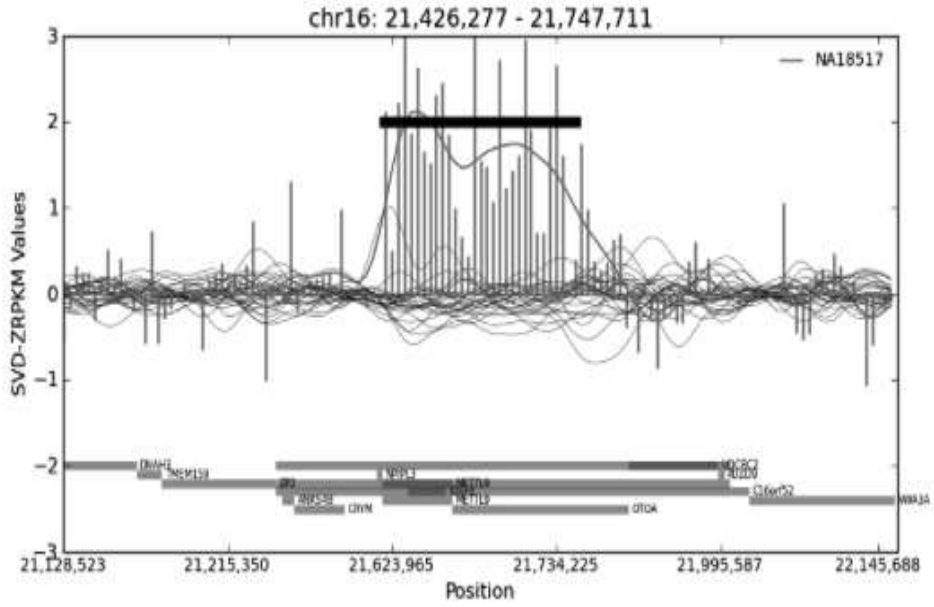


Figure 10 : Principe de la détection de CNVs par des techniques bioinformatiques. L'exemple présenté ici, est celui d'une duplication. Les données obtenues pour les témoins sont représentées en gris, celles de l'exome de l'invidu est en rouge. Le logiciel utilisé est CoNIFER (152)

III.4.B) Confirmation du CNV chez une famille

Nous avons à notre disposition dans le laboratoire les exomes de cas familiaux de trouble bipolaire, et nous avons choisis de rechercher au sein de ces familles la présence de CNVs. Cette analyse a été réalisée avec le logiciel CANOES adapté localement par un membre de notre équipe bioinformatique (M O. Queinez).

Nous n'avons mis en évidence des résultats que dans une seule des deux familles, présentée dans la figure 11 et le tableau 7.

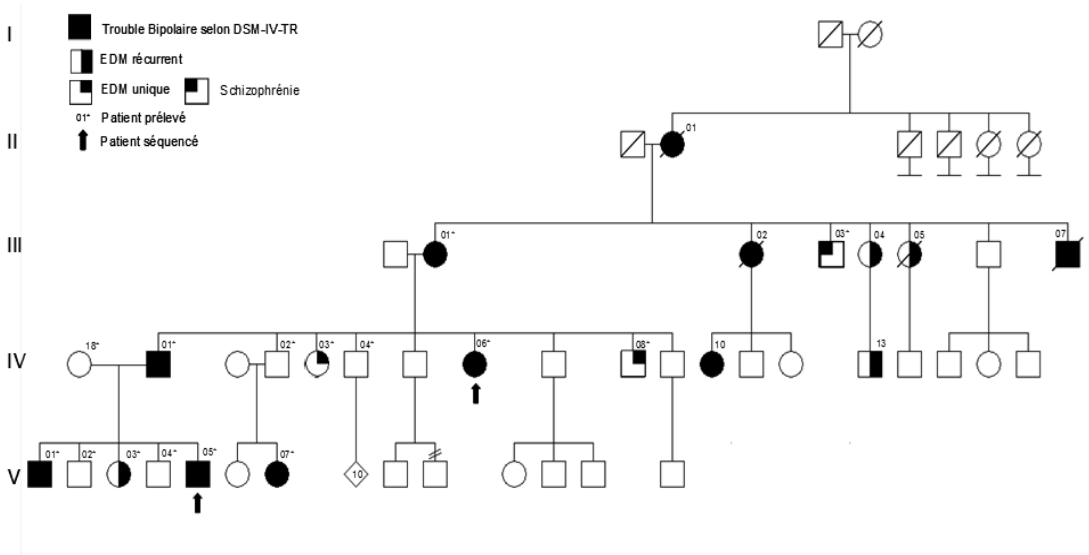


Figure 11. Présentation de la famille ayant participé au séquençage intrafamilial. Les individus séquencés sont les sujets IV 06 et V 05. (153)

Sujet	Diagnostic DSMIV-TR	Sexe	Age (ans)	Age 1er épisode (ans)	Spectre bipolarité	Caractéristiques cliniques	Recueil données
II01	Trouble bipolaire type 2	F	décès à 43 ans par AVP	ND	BP II	EDM récurrents et histoire évocatrice d'hypomanie	Famille
III01*	Trouble bipolaire type 2	F	86	25	BP I 1/2	Episode hypomaniaques et EDM distincts. Un épisode mixtes sous AD	Examen direct
III02	Trouble bipolaire type 1	F	décès à 80	ND	BP I	Suivi psychiatrique depuis jeune adulte. Sous lithium	Dossier
III03*	Schizophrénie	M	82	adolescence	_	Schizophrénie paranoïde avec prévalence de symptômes négatifs actuellment	Examen direct
IV01*	Trouble bipolaire type 2	M	64	26	BP I 1/2	Episodes hypomaniques et EDM distincts	Examen direct
IV03*	EDM	F	60	28	BP IV	EDM unique. Pas de récidive sans traitement. Tempérament cyclothymique	Examen direct
IV06*	Trouble bipolaire type 1	F	54	18	BP I	Episodes de manie délirante distincts	Examen direct
IV08*	EDM	M	48	40	_	EDM unique dans un contexte de deuil. Pas de récidive	Examen direct
IV10	Trouble bipolaire type 1	F	ND	ND	BP I	Hostitalisée. Pas accessible à l'interrogatoire.	Psychiatre traitant
V01*	Trouble bipolaire type 2	M	39	25	BP II	Episodes hypomaniaques et EDM distincts	Examen direct
V03*	EDM récurrents	F	34	17	BP II 1/2	3 EDM résolutifs sous traitement AD seul	Examen direct
V05*	Trouble bipolaire type 1	M	25	14	BP I	Episodes manie et EDM distincts. Comorbidité addictive	Examen direct
V07*	Trouble bipolaire type 1	F	25	17	BP I	Episodes manie délirante et EDM distincts	Examen direct

Tableau 7 : Caractéristiques cliniques de la famille. F : féminin ; M : masculin ; BP : trouble bipolaire ; EDM : épisode dépressif majeur ; AD : antidépresseur ; AVP :Accident de la voie publique (153).

Pour les analyses de confirmation des altérations génétiques quantitatives, nous avons utilisé la technique de QMPSF (*Quantitative Multiplex PCR of short fluorescent fragments*), technique mise au point dans l'unité Inserm U1079 (154). Il s'agit d'une PCR qui quantifie le nombre de copies de la cible étudiée. Elle est basée sur la comparaison de fluorescence obtenue pour la cible d'intérêt entre l'électrophérogramme du sujet et celui d'un témoin sain.

Une première étape consiste à normaliser les différences d'amplification entre les 2 sujets en utilisant un gène contrôle sans différence d'amplification entre le sujet et le témoin. Le principe de cette technique est résumé figure 12.

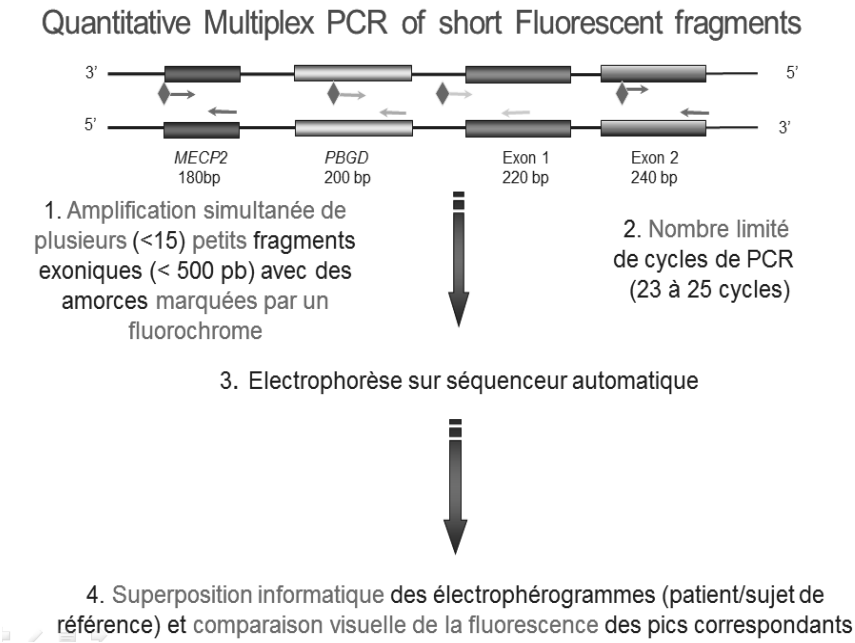


Figure 12. Principe de la QMPSF (154)

Un CNV en commun chez l'individu IV 06 et V 05 a pu être identifié par l'utilisation de CANOES. Ce CNV a pu être confirmé par QMPSF (Figure 13).

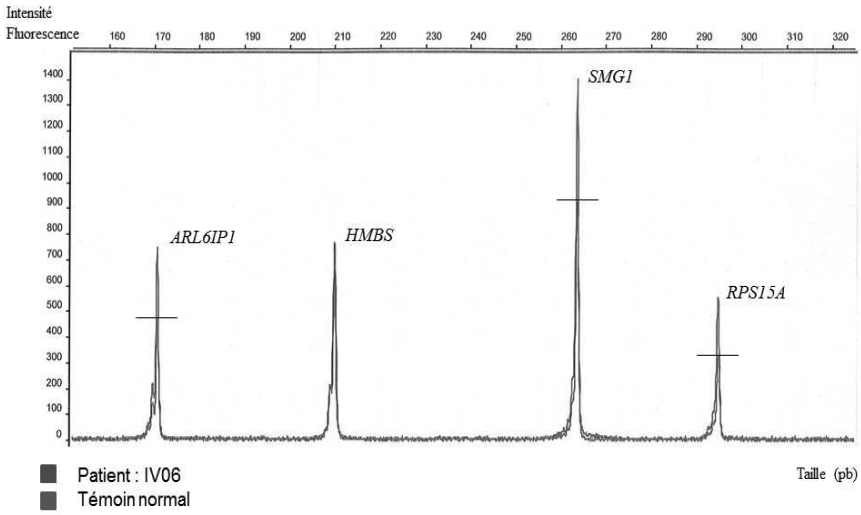


Figure 13. Electrophérogramme obtenu pour le patient IV.06. En comparaison avec le témoin, l'intensité de fluorescence chez le patient est supérieur d'un tiers en moyenne pour 3 gènes : *ARL61P1*, *SMG1* et *RPS15A*.
HMBS est le gène contrôle où sont alignés à la fois le patient et le témoin.

Le CNV retrouvé est une duplication de 30kb située sur le chromosome 16 (chr16:18,794,056-18,823,493), intéressant les gènes *RPS15A* (*Ribosomal Protein S15a*), *ARL6IP1* (*ADP-Ribosylation-Like factor 6-Interacting Protein 1*) ainsi qu'une partie du gène *SMG1* (*Phosphatidylinositol 3-kinase related kinase*).

Ce CNV n'est pas répertorié dans la base de donnée regroupant les CNVs identifiés par les études utilisant les techniques de CGH-array et SNP-array dans DGV (*Database of Genomic Variants*) (155), il s'agit donc d'un CNV rare. Ce CNV n'est pas non plus retrouvé dans notre base de données locale où 936 exomes capturés avec le même kit et séquencés à une profondeur comparable sont disponibles (témoins et patients souffrant de maladie d'Alzheimer à début précoce).

Nous avons ensuite cherché à déterminer si la duplication était partagée au sein de la famille, en la recherchant par QMPSF chez les sujets dont l'ADN était à notre disposition, puis en réalisant une analyse de ségrégation (Figure 14).

La QMPSF a été réalisé par un membre de notre laboratoire (Mme S. David).

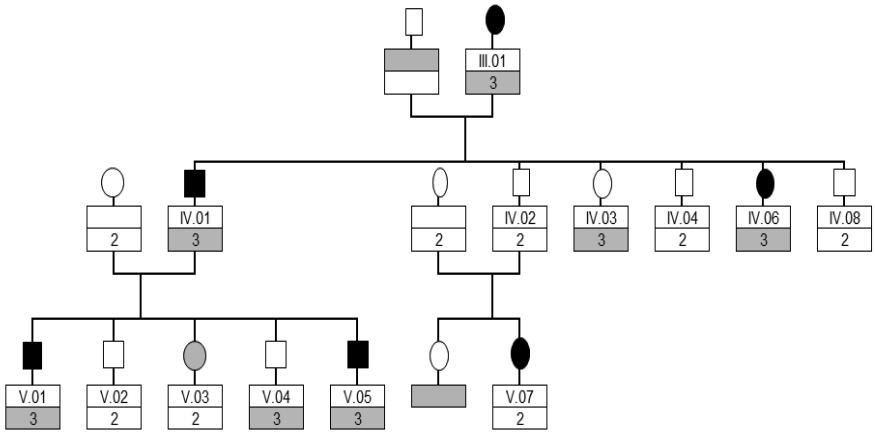


Figure 14. Résultats des analyses de ségrégation. Le nombre de copie des gènes impliqués dans le CNV est indiqué dans l'encadré correspondant à chaque individu.

Dans l'analyse de ségrégation, la duplication était retrouvée chez tous les sujets souffrant d'un trouble bipolaire, à l'exception du sujet V 07 qui n'était pas porteur de ce CNV.

La ségrégation est donc incomplète, et le statut du sujet V 07 pourrait alors être qualifié de phénocopie. Un sujet qualifié de phénocopie présente le phénotype d'intérêt, mais ne présente pas la mutation potentiellement impliquée dans le trouble chez les autres membres de la famille. La présence de cet individu est en défaveur d'un potentiel impact de la mutation dans la survenue du trouble bipolaire retrouvé chez cette famille.

Afin de suggérer que cette patiente est une phénocopie, trois hypothèses sont à explorer :

1) Le phénotype de ce sujet résulterait d'une participation environnementale.

2) Le sujet n'est pas issu de la famille qui présente la mutation.

3) Il existe des phénotypes similaires au sein de la lignée maternelle, suggérent par ce ce sujet une transmission génétique maternelle du trouble..

Pour ce qui ce qui est de la première hypothèse, il est extrêmement peu probable que la survenue du trouble soit en lien avec une composante environnementale, dont la part attribuable à l'environnement représente 40%.

Pour ce qui est de la deuxième hypothèse, nous avons réalisé un test de paternité pour le sujet V 07 qui retrouve que ce sujet est bien issu de la famille présentant le CNV.

Pour ce qui est de la troisième hypothèse, nous avons réalisé une enquête familiale auprès de la mère du sujet V 07. Il s'agissait du seul informant de cette famille, nous n'avons pas pu réaliser un examen direct pour les autres apparentés (Figure 15).

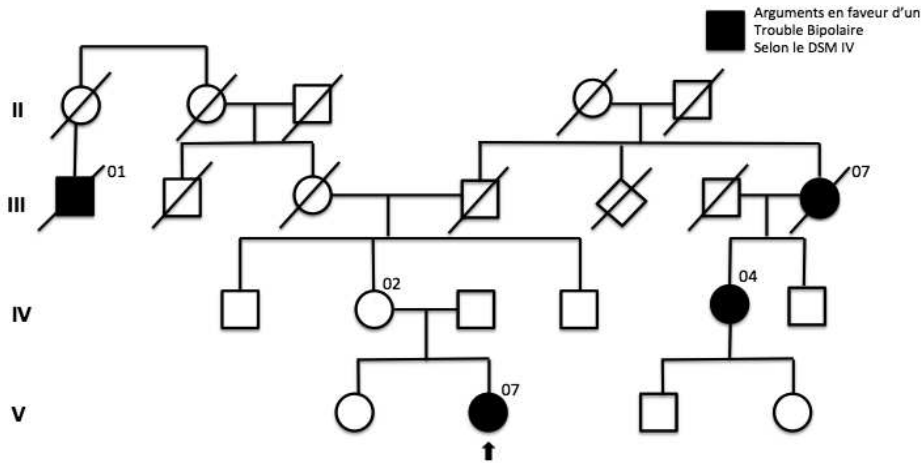


Figure 15. Présentation de la famille maternelle du sujet V07. L'ensemble des informations familiales a été obtenu par le sujet IV02.

D'après les informations obtenues à partir du sujet IV 02, il existe de nombreux arguments en faveur d'une agrégation du trouble dans cette famille :

- Le sujet III 01, non connu par l'informant, est décédé par suicide à l'âge d'environ 20 ans, ce qui constitue un argument fort pour l'existence d'un trouble de l'humeur chez ce sujet.
- Le sujet III 04 était connu de la personne informante. Il s'agit d'un individu ayant présenté des épisodes dépressifs récurrents, et présente une histoire évocatrice d'épisodes d'hypomanie. A la connaissance de l'informant, ce sujet a par ailleurs bénéficié d'un suivi psychiatrique et médicamenteux au long cours. L'existence d'un trouble bipolaire de type II est fortement suspectée chez ce sujet.
- Le sujet IV 04 a présenté un épisode dépressif majeur à l'âge de 24 ans, dans le post-partum immédiat, sans trouble antérieur avant sa première grossesse. L'intensité de cet épisode était sévère, puisqu'il a nécessité un séjour hospitalier en psychiatrie. La survenue d'un épisode dépressif dans le post-partum est fortement évocatrice d'un épisode dépressif s'inscrivant dans le cadre d'un trouble bipolaire.

Ainsi, devant la présence d'arguments en faveur d'une agrégation familiale de troubles bipolaires dans cette lignée, il est envisageable de penser que le phénotype du sujet V 07 pourrait être en lien avec une autre mutation partagée au sein de la lignée maternelle. Le statut

de phénocopie, selon cette hypothèse, n'exclu donc pas le potentiel rôle causal du CNV retrouvé au sein de la lignée paternelle.

Afin de déterminer si ce CNV était récurrent dans le trouble bipolaire, nous avons réalisé une quantification de l'ADN par QMPSF chez les 230 sujets de notre cohorte présentant un trouble bipolaire. Nous n'avons pas retrouvé ce variant quantitatif rare chez d'autres sujets atteint de trouble bipolaire issus de notre base de données.

III.4.C) Modification transcriptionnelle de ARL6IP1

Parmi les gènes identifiés dans cette duplication, nous avons porté notre intérêt sur le gène *ARL6IP1*. En effet, sur ces 3 gènes concernés par la duplication, *ARL6IP1* présente la meilleure plausibilité biologique. Le gène *ARL61P1* code pour une protéine ayant une action au niveau du transporteur neuronal glutamatergique EAAC1 (*Excitatory amino acid transporters 1*) (156). Une délétion du gène *SLC1A1* codant pour le transporteur EAAC1 a pu être documenté par plusieurs études portant sur la schizophrénie (157). De plus une étude portant sur une large famille à identifié la délétion de *SLC1A1* comme partagée chez des sujets bipolaires et chez des sujets présentant un trouble bipolaire de type schizo-affectif (158)

C'est pourquoi nous avons souhaité réaliser une étude de quantification de l'ARNm du gène *ARL6IP1,* dans l'hypothèse d'une augmentation de l'expression de ce gène chez les patients porteurs de duplication.

La quantification des ARNm du gène *ARL6IP1* à été réalisée par RT-QMPSF (*Reverse Transcriptase Quantitative Multiplex PCR of short fluorescent fragments).* Cette technique est difficile à mettre au point du fait d'une plus grande variabilité qualitative et quantitative transcriptionnelle interindividuelle. Afin de palier à ces difficultés de variabilité, il est nécessaire d'obtenir l'ARNm de plusieurs individus porteurs de la duplication, ainsi que plusieurs individus non porteurs, la quantité d'ARNm des porteurs de la duplication étant comparée à celle des témoins intra familiaux et à celle d'autres témoins sains. La procédure d'alignement sur un gène témoin est similaire à celle réalisée lors de la quantification de l'ADN.

Nous avons recontacté la famille en réalisant une nouvelle série de prélèvements périphérique avec le système PAXgene. Ce kit de prélèvement permet la purification des

ARNm intracellulaire du sang humain, avec un additif qui stabilise le profil de transcription des gènes in vivo et réduit la dégradation de l'ARN in vitro.

Nous avons pu obtenir avec ce kit les prélèvements des sujets (IV01, IV03, V05) porteurs de la duplication et les sujets (V03, IV02, IV04, V02) non porteurs de celle-ci (Figure 16).

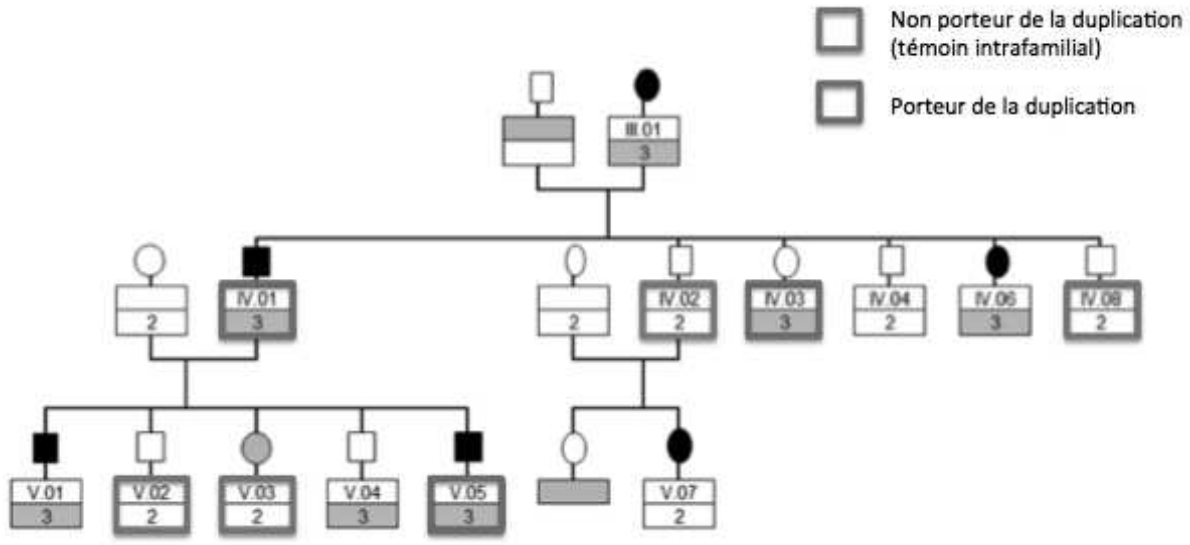


Figure 16. Patients de la famille participants à la quantification de l'ARNm par RT-QMPSF.

La procédure de RT-QMPSF a été réalisée par un membre de notre laboratoire (Mme S. David). Pour cette étude nous avons considérés l'ARNm de 3 sujets porteurs de la duplication, ainsi que 4 témoins intrafamiliaux et 8 autres témoins non familiaux pour contrôler l'alignement de la transcription au niveau du gène. Les résultats obtenus sont illustrés figure 17.

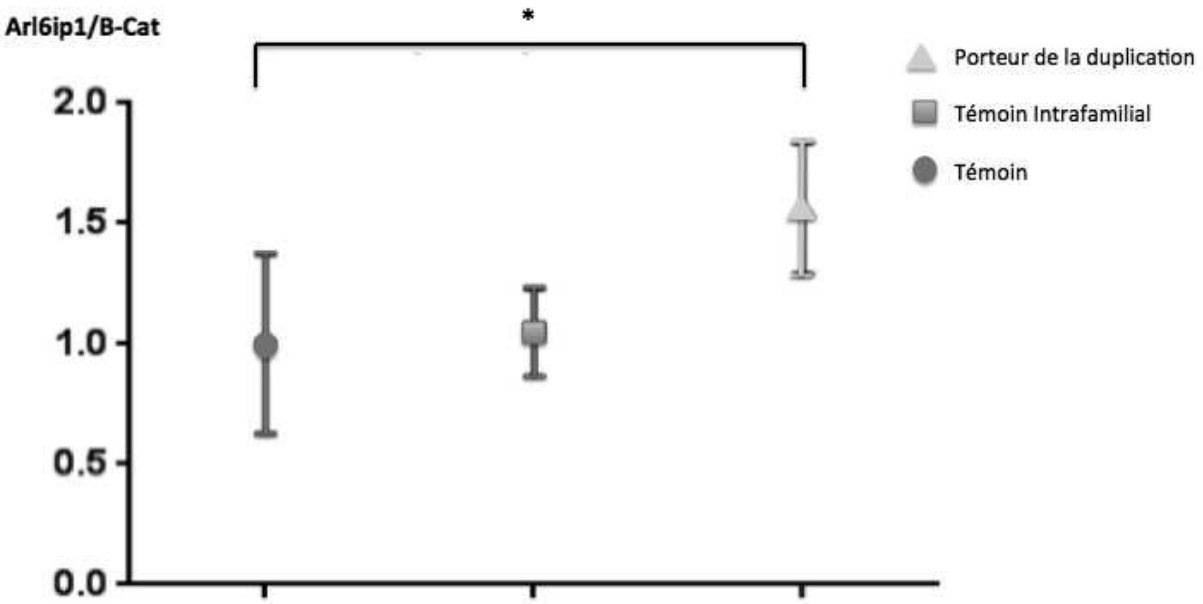


Figure 17 : Résultats de la RT-QMPSF pour le gène *ARL6IP1*. La représentation est celle de la moyenne d'expression obtenue pour *ARL6IP1* rapportée à la moyenne d'expression obtenue pour le gène témoin *B-Cat* (Béta-Caténine) dans chaque groupe. Le test réalisé est celui d'une ANOVA, réalisé entre le groupe porteur de la duplication. * : $p < 0,05$.

L'analyse statistique retrouve une différence significative p=0,0405 pour les niveaux d'expression du gène *ARL6IP1,* chez le groupe portant la duplication en comparaison au groupe de témoin.

Ainsi les résultats sur la quantification de l'ARNm sont en faveur d'une surexpression du gène ARL6IP1 chez les porteurs de la duplication, suggérant un probable impact à l'échelle protéique.

DISCUSSION

Dans le cadre de notre étude cas-témoin de séquençage d'exome en cours, nous proposons différentes stratégies pour augmenter les chances d'identifier des variants rares dans le groupe de sujets bipolaires avec un effectif réduit.

- Afin d'augmenter la puissance de l'étude, nous proposons d'agréger les variants au niveau du gène.

- Nous nous sommes focalisé sur des « cas extrêmes » en n'incluant que des patients avec une histoire familiale de la maladie et un âge de début inférieur ou égal à 22 ans.

Il semble pertinent de se focaliser sur des cas extrêmes pour mettre en avant des variations géniques rares responsables du phénotype avec une forte pénétrance. Néanmoins, du fait de l'architecture polygénique à pénétrance incomplète du trouble bipolaire, il apparaît peu probable que ces mêmes variations soient identifiables à l'échelle des variants rares au sein d'un groupe par rapport à un autre. Pour tenter de contrôler cette difficulté, nous avons sélectionné des cas dont l'agrégation familiale était forte, se rapprochant le plus d'un modèle mendélien de transmission dans lequel quelques variants rares auraient un effet important chez les sujets issus de ces familles. Contrairement à ce qui a été montré dans l'autisme et dans la schizophrénie, dans lesquelles les mutations *de novo* étaient plus fréquemment rapportées chez les patients que dans la population générale, dans le cas de notre étude nous nous attendons à des mutations qui seront transmises, car nous avons fait le choix de les identifier dans des cas familiaux.

- Associer une étude de co-ségrégation à une étude d'association est un moyen de repérer des variants non retrouvés lors de l'étude d'association.

Ainsi, même si notre stratégie de phénotype extrême permet de réduire le nombre de sujets, il n'est pas raisonnable de penser qu'avec 100 sujets par groupe nous serons en mesure d'obtenir un résultat significatif.

L'objectif de cette étude préliminaire est donc de déterminer des gènes d'intérêt dont nous pourrons raisonnablement tester la récurrence au sein du consortium international dans lequel nous sommes impliqués.

D'autre part en utilisant les données d'exome issues d'une stratégie intrafamiliale, un CNV a été identifié en commun entre les deux individus séquencés, et partagés par les membres de la famille avec une co-ségrégation incomplète. Bien que l'individu V 07 affecté d'un trouble bipolaire ne présente pas la mutation, la présence d'arguments pour une agrégation de troubles bipolaires dans la lignée maternelle du sujet n'exclu pas le potentiel rôle causal du CNV retrouvé au sein de la lignée paternelle.

Pour le CNV retrouvé, il s'agit d'une duplication de 30kb situé sur le chromosome 16 intéressant les gènes *RPS15A*, *ARL6IP1* et *SMG1*.

RPS15A (*Ribosomal Protein S15a*) est un gène ubiquitaire, qui code pour un composant de la sous-unité 40S du ribosome.

Le gène *SMG1* (*Phosphatidylinositol 3-kinase related kinase*) code pour une protéine kinase impliquée dans le stress oxydatif et dans l'apoptose induite par le TNF (*Tumor Necrosis Factor*) avec en particulier un rôle dans la transmission synaptique s'effectuant au niveau de la jonction neuromusculaire et des photorécepteurs. Une perte de fonction de SMG1 a pu être identifiée comme associée avec la survenue de tumeurs, non spécifiques du système nerveux.

Nous avons porté un intérêt particulier pour le dernier gène retrouvé dans ce CNV, *ARL6IP1* (*ADP-Ribosylation-Like factor 6-Interacting Protein 1*), pour lequel un rôle au niveau d'un transporteur neuronal glutamatergique EAAC1 (156) a pu être identifié (voir figure 18). *ARL6IP1* permettrait d'augmenter le transport intracellulaire présynaptique, en empêchant la dimérisation d'une autre protéine, l'addicsine. (Figure18)

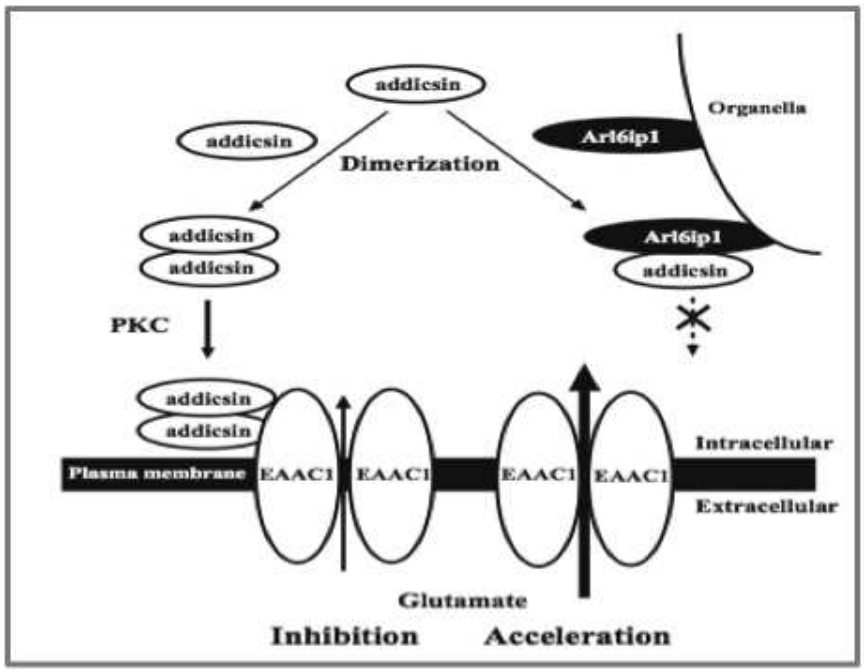


Figure 18. Régulation du transporteur EAAC1 (156)

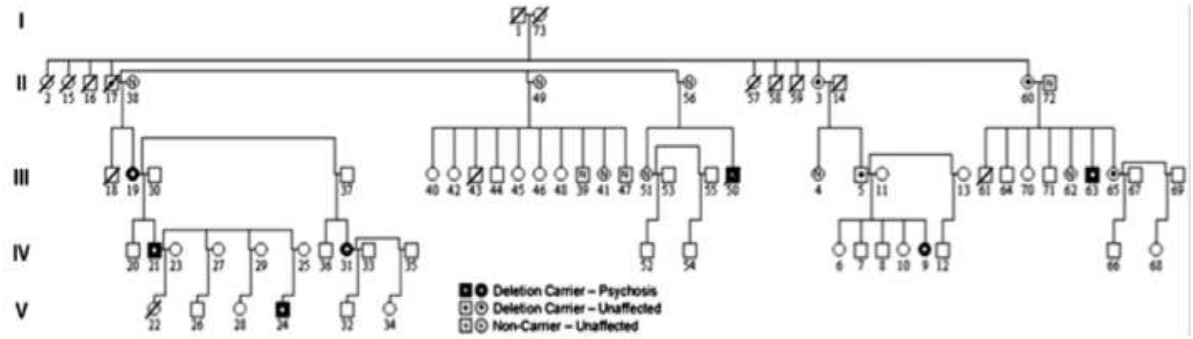
Du point de vu biologique, plusieurs rôles sont documentés pour le transporteur EAAC1:

- Comme les autres transporteurs de cette famille, EAAC1 permettrait de maintenir des concentrations de glutamate extracellulaire basses, en facilitant le transport intracellulaire de celui-ci, et un niveau excitotoxique bas (159). De fait, EAAC1 jouerai un rôle important dans la neuroplasticité médiée par le glutamate (160).
- EAAC1 a également été décrit comme n'ayant pas un rôle majeur dans l'homéostasie du glatamate au niveau synaptique, mais intervenant dans le transport de glutamate en vu de la synthèse de GABA (161).
- Un autre rôle pour EAAC1 comme intervenant dans la synthèse intracellulaire de glutathion, en tant que de transporteur de la cystéine, acide aminé limitant pour la synthèse du glutathion (162) a pu être décrit. Le Glutathion joue un rôle neuroprotecteur dans la lutte contre le stress oxydatif (163).

EAAC1 Du point de vu des données issues de la génétique humaine :

Il existe des données consistantes concernant une délétion du gène codant pour EAAC1, notamment l'association de cette délétion avec la schizophrénie.

- Une hémidélétion de 135 kb emportant le promoteur et l'exon1 du gène *SLC1A1* a pu être identifiée chez un sujet présentant un double diagnostic de schizophrénie et d'épilepsie, parmi un screening de 235 individus partageant le double diagnostic (164).
- Une étude japonaise chez 1920 patients schizophrènes en comparaison à 1920 contrôle retrouvait un CNV de 10 kb localisé dans le premier intron du gène SLC1A1, bien que celui-ci n'ait pas été retrouvé associé significativement (165).
- Priebe a mis en évidence une délétion des 5 premiers exons du gène chez un sujet schizophrène lors d'une étude cas témoin portant sur 1600 cas (166).
- Récemment une large étude cas-témoin (26 529 patients schizophrènes vs 21 450 témoins) a retrouvé des CNVs en position exonique dans ce gène chez 10 cas et 2 témoins, dans différentes sous populations (caucasiens européens et afro américains) (167).
- De manière intéressante, une étude portant sur une large famille, composée de patients schizophrènes et bipolaires a pu identifier une délétion de *SLC1A1* emportant le promoteur et une partie du premier exon du gène. Dans cette grande famille d'une île isolée du Pacifique, la ségrégation de la délétion était partagée avec le phénotype schizophrénique et le phénotype bipolaire de type schizo-affectif (Figure19) (158).



-

Figure 19. Présentation de la famille ou la délétion partielle de SLC1A1 était retrouvée (158) 5 sujets schizophrènes et 2 sujets bipolaires étaient porteur de la délétion

Le rôle de ce transporteur glutamatergique pourrait jouer un rôle majeur dans la shizophrénie et le trouble bipolaire. Ce rôle est conforté par la présence de délétions retrouvées sur différents points de cassure du gène, et dans des populations différentes.

<u>EAA1C du point de vu transcriptionnel</u> :

Une étude s'intéressant au niveau d'expression cérébral de EAA1C, par hybridation in situ à partir d'échantillon de tissu cérébral post mortem retrouve une diminution transcriptionnelle dans les cerveaux de sujets bipolaires, au niveau du striatum (168). Cette diminution n'était pas retrouvée dans le cerveau de sujets schizophrène.

<u>EAAC1 et modèles animaux :</u>

Des études portant sur des modèles de souris SLC1A1-knockout rapportent des anomalies cérébrales morphologiques à type d'élargissement des ventricules, de réduction de

l'hippocampe, et du corps calleux (169). Des modifications comportementales et des anomalies cognitives ont été mises en évidence avec ce modèle (170).

Dans notre étude nous avons identifié dans une famille présentant un trouble bipolaire, une duplication comportant un gène partenaire de EAAC1, jamais identifié dans les études antérieures. Nous avons de plus confirmé qu'il existait une surexpression d'*ARL6IP1* en lien avec la duplication, entraînant une probable modification conformationnelle de la protéine pour laquel *ARL6IP1* code. Une duplication du gène *ARL6IP1* pourrait créer un déséquilibre dans la régulation du transporteur EAAC1, altérer le métabolisme du Glutamate et engendrer ainsi un déséquilibre dans la balance entre les transmissions excitatrices et inhibitrices, renforçant l'hypothèse de la dysfonction glutamatergique dans le trouble bipolaire(171).

En effet nous pourrions supposer 2 mécanismes pour le rôle d'*ARL6IP1* sur EAAC1 identifié dans la physiopathologie du trouble (figure 18) :

- Soit un défaut de transmission de la cystéine limitant la synthèse de glutathion qui engendrerait un stress oxydatif plus important. Cliniquement, un essai thérapeutique randomisé a pu montrer une efficacité par l'utilisation d'un analogue de la cystéine la N-Acétyl-Cystéine dans la dépression bipolaire. Dans le groupe recevant la N-Acetyl-Cystéine en traitement adjuvant à la thymorégulation efficace, une amélioration significative était obtenue au bout de 20 semaines de traitement, et dès la 8ème semaine, le traitement était efficace sur les échelles de fonctionnement global. De plus, ce traitement n'a pas induit de virage de l'humeur pendant l'essai (172).

- Soit par une modification de la transmission glutamatergique . L'hypothèse d'une diminution de la transmission glutamatergique associée à un excès de transmission dopaminergique sont les 2 mécanismes les plus décrits dans la physiopathologie des symptomes psychotiques. Cette hypothèse est basée sur la constatation que le blocage notament des récepteurs NMDA *(N-methyl-D-aspartate)* du glutamate entraine une augmentation de la libération de dopamine et une augmentation de l'expression des récepteurs D3 de la dopamine (173). Dans les troubles de l'humeur, le trouble bipolaire est le prototype du trouble associé à des symptomes psychotiques et est le trouble mental qui répond le mieux aux antipsychotiques, qui sont des antagonistes des récepteurs D2-D3 de la dopamine. La duplication de ARL6IP1 qui pourrait entrainer une diminution de la transmission

glutamatergique qui en retour augmenterait la transmission dopaminergique et serait donc responsable de l'émergence des symptomes maniaques et psychotiques (figure 20).

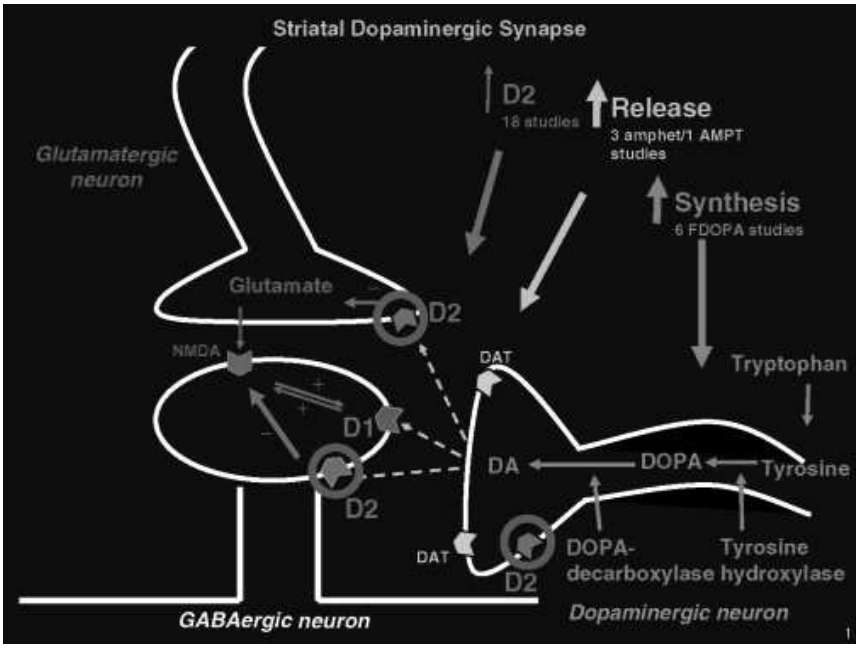


Figure 20 : Synapse striatale dopaminergique (174). Relations entre les voies dopaminergiques et glutamatergiques.

Ainsi, il est très probable que la dupication retrouvée puisse influencer la survenue du trouble bipolaire par un désordre de la transmission glutamatergique.

Pour confirmer ce rôle, il faudrait envisager une étude sur les interactions entre EAA1C et la protéine surexprimée d'*ARL6IP1* à l'échelle cellulaire.

CONCLUSION

Le trouble bipolaire est une pathologie à hérédité complexe dont la part attribuable à la génétique est majoritaire.

L'arrivée du séquençage de nouvelle génération offre des perspectives inégalées dans l'identification de gènes de susceptibilité et dans la délimitation de l'architecture génétique du trouble bipolaire. Néanmoins, pour être en mesure de définir une base étiopathogénique valide, il faut se baser sur des phénotypes d'études homogènes.

Dans ce contexte, nous proposons un design d'étude cas-témoin par séquençage d'exome dans le trouble bipolaire en utilisant des phénotypes dits « extrêmes ». Nous nous limitons dans cette étude au trouble bipolaire de type I associé à un début précoce (définit comme un âge de début du trouble inférieur ou égal à 22 ans) et à une agrégation familiale forte (plus de 3 apparentés affectés). Utiliser des phénotypes extrêmes est une stratégie novatrice dans le trouble bipolaire, qui permet, à l'échelle des variants rares d'être plus en mesure de repérer une association, avec un effectif réduit.

Les résultats pour cette étude sont en cours.

Le séquençage d'exome est une technique sensible, qui depuis peu permet de détecter des variations quantitatives du génome, les CNVs. A partir des données d'exome d'un individu participant à l'étude cas-témoin, nous avons mis en évidence un CNV de petite taille (30kb) et celui-ci coségrégait dans la famille avec le trouble bipolaire, à l'exception d'un sujet.

Ce CNV était une duplication intéressant les gènes *RPS15A* (*Ribosomal Protein S15a*), *ARL6IP1* (*ADP-Ribosylation-Like factor 6-Interacting Protein 1*) ainsi qu'une partie du gène *SMG1* (*Phosphatidylinositol 3-kinase related kinase*). Nous avons porté notre intérêt sur *ARL6IP1*, qui code pour une protéine partenaire du transporteur glutamatergique Une délétion du gène codant pour le transporteur EAA1C a pu être identifié dans la schizophrénie et le trouble bipolaire. Nous avons confirmé à l'échelle transcriptionnelle une surexpression de l'ARNm d'*ARL6IP1* chez les porteurs de cette duplication, suggérant un probable rôle de ce nouveau CNV identifié dans le trouble bipolaire de cette famille, par un déséquilibre de la transmission glutamatergique.

BIBLIOGRAPHIE

(1) American Psychiatric Association. DSM-V. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5ème edition, 2014, Traduction française édition Elsevier Masson, 2015

(2) Hamon M. Dépistage et prise en charge du trouble bipolaire. Recommandations formalisées d'experts, L'Encéphale 2010;36 (Suppl 4):S77-S8

(3) Akiskal HS. The bipolar spectrum : new concepts in classification and diagnosis. In : L Grinspoon. Psychiatry Update. Washington, American Psychiatry Press, vol II 1983 272-292

(4) Ferrari AJ, Baxter AJ, W HA. A systematic review of the global distribution and availability of prevalence for bipolar disorder, J Aff Disord, 2011, 1-3: 1-13

(5) Leboyer M, Kupfer DJ. Bipolar disorder: new perspectives in health care and prevention. J Clin Psychiatry 2010;71:1689–95.

(6) Leboyer et al. Pathogenesis of bipolar disorders: genetic vulnerability and environmental factors, Rev Prat, 2005

(7) Craddock N, Sklar P. Genetics of bipolar disorder, Lancet, 2013; 381: 1654–62

(8) Quetel C. Histoire de la folie, Paris, ed Tallandier, 2009.

(9) Arétée de Cappadoce. Des signes et causes des maladies chroniques, livre premier, traduction française du Dr ML Renaud, 1834, http://asklepios.chez.com/areteus/renaud.htm

(10) Burton R. Anatomie de la mélancolie, traduction Française G Venet, Paris, Edition Gallimard (Folio classique), 2005.

(11) Bourgeois ML. Les troubles bipolaires. Chapitre I : Troubles Maniaco-dépressifs et bipolaires : historique du concept, Crocq MA, Paris, Edition Lavoisier, 2014.

(12) Falret JP. La folie circulaire, Bull Acad Med, 1853, 19 : 382-400.

(13) Pichot P. Tracing the origins of bipolar disorder: from Falret to DSM-IV and ICD-10, J Aff Disord, 2006, 96: 145-148

(14) Kraepelin E, La folie maniaco-dépressive, 1913, traduction française Poyer G, Edition Jérome Million, 1993

(15) Angst J, Marneros A. Bipolarity from ancient to modern times :conception, birth and rebirth,J Aff Disorder, 2001, 67 :3-19

(16) Perris C. A study of bipolar (manic-depressive) and unipolar reccurent depressive psychoses, Acta Psychiatr Scand, 1966, 194 :1-89

(17) Dunner DL, Fleiss JL, Fieve RR. The course of development of mania in patients with recurrent depression, Am J Am J Psychiatry, 1976;133(8):905-8.

(18) American Psychiatric Association. Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, 3ème édition révisée, 1987, Traduction francaise Masson, 1989

(19) American Psychiatric Association. Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, 3ème édition, 1980, Traduction francaise Masson, 1983

(20) American Psychiatric Association. Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, 4ème édition révisée, 2000, Traduction francaise Masson, 2003

(21) Angst A. Problems in the current concepts and definitions of bipolar disorders, World Psychiatry, 2011, 10 :191-192

(22) Bourgeois ML. Qu'est-ce qu'il y a de psychotique dans la (les) psychose(s) ? Ann Med Psychol, 2001, 159 :315-323

(23) Coryell W, Keller M, Endicott J et al. Bipolar II illness : course and outcome over a five-year period, Psychol Med, 1989, 19 :129-141

(24) Judd, Lewis L., Hagop S. Akiskal, Pamela J. Schettler, William Coryell, Jean Endicott, Jack D. Maser, et al. "A Prospective Investigation of the Natural History of the Long-Term Weekly Symptomatic Status of Bipolar II Disorder", Arch of Gen Psy 2003,60: 261–69.

(25) Ghaemi, S. Nassir, James Y. Ko, and Frederick K. Goodwin. "'Cade's Disease' and beyond: Misdiagnosis, Antidepressant Use, and a Proposed Definition for Bipolar Spectrum Disorder." Can J of Psy. Revue Canadienne De Psychiatrie 47, no. 2, 2002: 125–34.

(26) Goodwin FK, Jamison KF. Manic Depressive illness, New York, Oxford University Press, 1990

(27) Alloy, Lauren B., Snežana Urošević, Lyn Y. et al. "Progression along the Bipolar Spectrum: A Longitudinal Study of Predictors of Conversion from Bipolar Spectrum Conditions to Bipolar I and II Disorders." J of Abnormal Psychology 121, no. 1,2012, 16–27.

(28) Polarity of the first episode, clinical characteristics, and course of manic depressive illness: a systematic retrospective investigation of 320 bipolar I patients

(29) Mitchell, Philip B., Guy M. Goodwin, Gordon F. Johnson, and Robert M. A. Hirschfeld. "Diagnostic Guidelines for Bipolar Depression: A Probabilistic Approach." Bipolar Disorders 10, no. 1 Pt 2 (February 2008): 144–52.

(30) Recurrent brief depression revisited

(31) Klerman GL. Atypical affective disorder, In Kaplan et Saddock comprehensive textbook of psychiatry, 3ème Edition, 1983, 19 :1339-1342

(32) Pezawas L, Angst J, Kasper S. Recurrent brief depression revisited. Int Rev Psychiatry. févr 2005;17(1):63-70.

(33) Akiskal KK, Akiskal HS. The theoretical underpinnings of affective temperaments: implications for evolutionary foundations of bipolar disorder and human nature. J Affect Disord. mars 2005;85(1-2):231-9.

(34) Akiskal HS. The emergence of the bipolar spectrum: validation along clinical-epidemiologic and familial-genetic lines. Psychopharmacol Bull. 2007;40(4):99-115.

(35) Akiskal HS, Pinto O. The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV. Psychiatr Clin North Am. sept 1999;22(3):517-34, vii.

4.

(36) Later E, Cowie V. The Genetics of Mental Disorders. Oxford University Press, London,1971.

(37) Fuchs C, Steinberg D, Poyurovsky P. On the Estimation and Comparison of Lifetime Morbid Risks J of Data Science, 2010, 645-664

(38) Dunner DL, Gershon ES, Goodwin FK. Heritable factors in the severity of affective illness. Biol Psychiatry. févr 1976;11(1):31-42.

(39) Song L, Bergen S, Kuja-Halkola R, Larsson H, Lichtenstein P. Bipolar disorder and its relation to major psychiatric disorders: a family-based study in the Swedish, Bipolar population Disorders 2015: 17: 184–193

(40) Maniglio R. The impact of child sexual abuse on the courseof bipolar disorder: a systematic review, Bipol Dis, 2013: 15: 341–358

(41) Etain B, Mathieu F, Leboyer M. Introduction à l'épidémiologie génétique des maladies psychiatriques. EMC – Psychiatrie, 2008:1-7 [Article 37-020-A-10].

(42) McGuffin P, Rijsdijk F, Andrew M, Sham P, Katz R, Cardno A. The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression, Arch Gen Psychiatry, 2003 60(5):497-502.

(43) Lichtenstein P, Yip BH, Björk C, Pawitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, Hultman CM. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families : a population-based study, Lancet, 2009 ;373(9659):234-9

(44) Gelernter J, Cubells JF, Kidd JR, Pakstis AJ, Kidd KK. Population studies of polymorphisms of the serotonin transporter protein gene. Am J Med Genet. 5 févr 1999;88(1):61-6.

(45) Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. Science. 29 nov 1996;274(5292):1527-31.

(46) Cho HJ, Meira-Lima I, Cordeiro Q, Michelon L, Sham P, Vallada H, et al. Population-based and family-based studies on the serotonin transporter gene polymorphisms and bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. Mol Psychiatry. août 2005;10(8):771-81.

(47) Serretti A, Mandelli L. The genetics of bipolar disorder: genome « hot regions, » genes, new potential candidates and future directions. Mol Psychiatry. août 2008;13(8):742-71.

(48) Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409(6822):860-921.

(49) http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/

(50) Gibson G. Rare and common variants: twenty arguments, Nature Reviews Genetics , 2012, 13 : 135-145.

(51) Lee KW, Woon PS, Teo YY, Sim K. Genome wide association studies (GWAS) and copy number variation (CNV) studies of the major psychoses: what have we learnt? Neurosci Biobehav Rev. janv 2012;36(1):556-71.

(52) Shinozaki G, Potash JB. New developments in the genetics of bipolar disorder. Curr Psychiatry Rep. nov 2014;16(11):493.

(53) Wessa M et al. The CACNA1C risk variant for bipolar disorder influences limbic activity. Mol Psychiatry. 2010;15(12):1126–7.

(54) Erk, S., et al., Hippocampal and frontolimbic function as interme- diate phenotype for psychosis: evidence from healthy relatives and a common risk variant in CACNA1C. Biol Psychiatry, 2013.

(55) esli M et al. CACNA1C risk variant and amygdala activity in bipolar disorder, schizophrenia and healthy controls. PLoS ONE. 2013;8(2):e56970.

(56) Durak O et al. Ankyrin-G regulates neurogenesis and Wnt signaling by altering the subcellular localization of beta-catenin. Mol Psychiatry. 2014

(57) Dima D et al. Independent modulation of engagement and connec- tivity of the facial network during affect processing by CACNA1C and ANK3 risk genes for bipolar disorder. JAMA Psychiatry. 2013;70(12):1303–11

(58) Craddock N, Sklar P. Genetics of bipolar disorder. The Lancet. 2013;381(9878):1654-62.

(59) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. Nature. 8 oct 2009;461(7265):747-53.

(60) Shastry BS. Copy number variation and susceptibility to human disorders (Review). Mol Med Rep. avr 2009;2(2):143-7.

(61) Malhotra D, Sebat J. CNVs: harbingers of a rare variant revolution in psychiatric genetics. Cell. 16 mars 2012;148(6):1223-41.

(62) Green EK, Rees E, Walters JTR, Smith K-G, Forty L, Grozeva D, et al. Copy number variation in bipolar disorder. Mol Psychiatry. 6 janv 2015.

(63) Georgieva L, Rees E, Moran JL, Chambert KD, Milanova V, Craddock N, et al. De novo CNVs in bipolar affective disorder and schizophrenia. Hum Mol Genet. 15 déc 2014;23(24):6677-83.

(64) Nurnberger JI, Koller DL, Jung J, Edenberg HJ, Foroud T, Guella I, et al. Identification of pathways for bipolar disorder: a meta-analysis. JAMA Psychiatry. juin 2014;71(6):657-64.

(65) Abdolmaleky HM, Cheng K-H, Faraone SV, Wilcox M, Glatt SJ, Gao F, et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. Hum Mol Genet. 1 nov 2006;15(21):3132-45.

(66) Munkholm K, Vinberg M, Berk M, Kessing LV. State-related alterations of gene expression in bipolar disorder: a systematic review. Bipolar Disord. nov 2012;14(7):684-96.

(67) Soeiro-de-Souza MG, Andreazza AC, Carvalho AF, Machado-Vieira R, Young LT, Moreno RA. Number of manic episodes is associated with elevated DNA oxidation in bipolar I disorder. Int J Neuropsychopharmacol. août 2013;16(7):1505-12.

(68) Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. Nat Rev Genet. janv 2010;11(1):31-46.

(69) Ng PC, Levy S, Huang J, Stockwell TB, Walenz BP, Li K, et al. Genetic variation in an individual human exome. PLoS Genet. 2008;4(8):e1000160.

(70) Lee S, Abecasis GR, Boehnke M, Lin X. Rare-variant association analysis: study designs and statistical tests. Am J Hum Genet. 3 juill 2014; 95(1):5-23.

(71) Kato T. Whole genome/exome sequencing in mood and psychotic disorders. Psychiatry Clin Neurosci. févr 2015;69(2):65-76.

(72) Chen Y-C, Carter H, Parla J, Kramer M, Goes FS, Pirooznia M, et al. A hybrid likelihood model for sequence-based disease association studies. PLoS Genet. 2013;9(1):e1003224.

(73) Barbosa IG, Nogueira CRC, Rocha NP, Queiroz ALL, Vago JP, Tavares LP, et al. Altered intracellular signaling cascades in peripheral blood mononuclear cells from BD patients. J Psychiatr Res. déc 2013;47(12):1949-54.

(74) Kerner B, Rao AR, Christensen B, Dandekar S, Yourshaw M, Nelson SF. Rare Genomic Variants Link Bipolar Disorder with Anxiety Disorders to CREB-Regulated Intracellular Signaling Pathways. Front Psychiatry. 2013;4:154.

(75) Ortega-Martínez S. A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. Front Mol Neurosci. 2015;8:46.

(76) Bezchlibnyk Y, Young LT. The neurobiology of bipolar disorder: focus on signal transduction pathways and the regulation of gene expression. Can J Psychiatry. mars 2002;47(2):135-48.
(77) Fiorentino A, O'Brien NL, Locke DP, McQuillin A, Jarram A, Anjorin A, et al. Analysis of ANK3 and CACNA1C variants identified in bipolar disorder whole genome sequence data. Bipolar Disord. sept 2014;16(6):583-91.

(78) Kerner B. Toward a Deeper Understanding of the Genetics of Bipolar Disorder. Front Psychiatry. 2015;6:105.

(79) Doherty JL, Owen MJ. Genomic insights into the overlap between psychiatric disorders: implications for research and clinical practice. Genome Med. 2014;6(4):29

(80) Azorin J-M, Kaladjian A, Fakra E. [Current issues on schizoaffective disorder]. Encephale. juin 2005;31(3):359-65.

(81) Kelsoe JR. Arguments for the genetic basis of the bipolar spectrum. J Affect Disord. janv 2003;73(1-2):183-97.

(82) Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Lee SH, Ripke S, Neale BM, Faraone SV, Purcell SM, et al. Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. Nat Genet. sept 2013;45(9):984-94.

(83) Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ. Genes for Schizophrenia and Bipolar Disorder? Implications for Psychiatric Nosology. Schizophr Bull. janv 2006;32(1):9-16.

(84) Gottesman II, Gould TD. The Endophenotype Concept in Psychiatry: Etymology and Strategic Intentions. AJP. avril 2003;160(4):636-45.

(85) Lenox RH, Gould TD, Manji HK. Endophenotypes in bipolar disorder†. Am J Med Genet. mai 2002;114(4):391-406.

(86) Cermolacce M, Micoulaud J-A, Naudin J, Vion-Dury J. [Electrophysiology and schizophrenic vulnerability: the P300 component as endophenotype candidate?]. Encephale. oct 2011;37(5):353-60.

(87) Blackwood DH, Fordyce A, Walker MT, St Clair DM, Porteous DJ, Muir WJ. Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. Am J Hum Genet. août 2001;69(2):428-33.

(88) Shaikh M, Hall M-H, Schulze K, Dutt A, Li K, Williams I, et al. Effect of DISC1 on the P300 Waveform in Psychosis. Schizophr Bull. janv 2013;39(1):161-7.

(89) Morvan Y, Tibaoui F, Bourdel M-C, Lôo H, Akiskal KK, Akiskal HS, et al. Confirmation of the factorial structure of temperamental autoquestionnaire TEMPS-A in non-clinical young adults and relation to current state of anxiety, depression and to schizotypal traits. J Affect Disord. juin 2011;131(1-3):37-44.

(90) Greenwood TA, Akiskal HS, Akiskal KK, Bipolar Genome Study, Kelsoe JR. Genome-wide association study of temperament in bipolar disorder reveals significant associations with three novel Loci. Biol Psychiatry. 15 août 2012;72(4):303-10.

(91) Leboyer M, Bellivier F, Nosten-Bertrand M, Jouvent R, Pauls D, Mallet J. Psychiatric genetics: search for phenotypes. Trends Neurosci. mars 1998;21(3):102-5.

(92) Manchia M, Adli M, Akula N, Ardau R, Aubry J-M, Backlund L, et al. Assessment of Response to Lithium Maintenance Treatment in Bipolar Disorder: A Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen) Report. PLoS One [Internet]. 19 juin 2013 [cité 11 oct 2015];8(6).

(93) Rybakowski JK. Response to Lithium in Bipolar Disorder: Clinical and Genetic Findings. ACS Chem Neurosci. 13 mars 2014;5(6):413-21.

(94) Can A, Schulze TG, Gould TD. Molecular actions and clinical pharmacogenetics of lithium therapy. Pharmacol Biochem Behav. août 2014;123:3-16.

(95) Chen C-H, Lee C-S, Lee M-TM, Ouyang W-C, Chen C-C, Chong M-Y, et al. Variant GADL1 and response to lithium therapy in bipolar I disorder. N Engl J Med. 9 janv 2014;370(2):119-28.

(96) Lee C-S, Cheng AT-A. Variant GADL1 and response to lithium in bipolar I disorder. N Engl J Med. 8 mai 2014;370(19):1859-60.

(97) Cruceanu C, Ambalavanan A, Spiegelman D, Gauthier J, Lafrenière RG, Dion PA, et al. Family-based exome-sequencing approach identifies rare susceptibility variants for lithium-responsive bipolar disorder. Genome. oct 2013;56(10):634-40.

(98) Schulze TG, Hedeker D, Zandi P, Rietschel M, McMahon FJ. What is familial about familial bipolar disorder? Resemblance among relatives across a broad spectrum of phenotypic characteristics. Arch Gen Psychiatry. déc 2006;63(12):1368-76.

(99) Willour VL, Seifuddin F, Mahon PB, Jancic D, Pirooznia M, Steele J, et al. A genome-wide association study of attempted suicide. Mol Psychiatry. avr 2012;17(4):433-44.

(100) Perlis RH, Dennehy EB, Miklowitz DJ, Delbello MP, Ostacher M, Calabrese JR, et al. Retrospective age at onset of bipolar disorder and outcome during two-year follow-up: results from the STEP-BD study, Bipolar Disord, 2009;11:391–400.

(101) James NM. Early- and late-onset bipolar affective disorder. A genetic study, Archives of General Psychiatry. 1977;34(6):715–717.

(102) Goldstein BI, Bukstein OG. Comorbid substance use disorders among youth with bipolar disorder: opportunities for early identification and prevention. J Clin Psychiatry 2010;71:348–58.

(103) Perlis RH, Miyahara S, Marangell LB, et coll. Long-term implications of early onset inbipolar disorder: data from the first 1000 participants in the systematic treatment enhancement program for bipolar disorder (STEP-BD), Biological Psychiatry, 2004

(104) Schürhoff F, Bellivier F, Jouvent R, et coll. Early and late onset bipolar disorders: twodifferent forms of manic-depressive illness?, J Aff Dis, 2000 58(3):215-21

(105) Chang KD. Course and impact of bipolar disorder in young patients. The Journal of Clinical Psychiatry. 2010;71(2):05

(106) Suominen K, Mantere O, Valtonen H, Arvilommi P, Leppämäki S, Paunio T. Early age at onset of bipolar disorder is associated with more severe clinical features but delayed treatment seeking, Bipolar Disord, 2007;9:698–705.

(107) Kupfer DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder, JAMA, 2005 293(20):2528-30

(108) Geller B, Tillman R, Craney JL, Bolhofner K. Four-year prospective outcome and natural history of mania in children with a prepubertal and early adolescent bipolar disorder phenotype. Arch Gen Psychiatry 2004;61:459–67

(109) Kennedy K, Cullen K, De Young G, Klimes-Dougan B. The genetics of early-onset bipolar disorder: A systematic review, J Aff Dis, 2015 ;184 :1–12

(110) Celeux G, Diebolt J. The EM and the SEM algorithms for mixtures: statistical and numerical aspects. Cahiers CERO, 1990 ;32:135-151

(111) Ortiz, A, Bradler K, Slaney C, Garnham J, Ruzickova M, O'Donovan C, Hajek T, Alda M. An admixture analysis of the age at index episodes in bipolar disorder, Psy Res, 2011;188, 34–39

(112) Kennedy N, Everitt B, Boydell J, Van Os J, Jones PB, Murray RM. Incidence and distribution of first-episode mania by age: results from a 35-year study, Psychol Med, 2005 ;35, 855–863

(113) Geoffroy PA, Etain B, Jamain S, Bellivier F, Leboyer M.Early onset bipolar disorder: validation from admixture analyses and biomarkers Can J Psychiatry, 2013 ;58(4):240-8

(114) Grigoroiu-Serbanescu M, Rietschel M, Hauser J , Czerski P, Herms C, & Al. Commingling analysis of age-of-onset in bipolar I disorder and the morbid risk for major

psychoses in first degree relatives of bipolar I probands, J Aff Disord, 2014; (168) :197–204.

(115) Rosenblat D, Cha D, Mansur R, McIntyre R. Inflamed moods: A review of the interactions between inflammation and mood disorders, Progress in Neuro-Psychopharm & Biol Psy, 2014 ;53 : 23–34

(116) Goldstein BI, Collinger KA, Lotrich F. Preliminary findings regarding proinflammatory markers and brain-derived neurotrophic factor among adolescents with bipolar spectrum disorders. J of Child and Adol Psychopharm, 2011;21(5):479–484.

(117) Padmos RC, Hillegers MHJ, Knijff EM. A discriminating messenger RNA signature for bipolar disorder formed by an aberrant expression of inflammatory genes in monocytes, Arch of Gen Psy, 2008;65(4):395–407

(118) Lopez J, Hoffmann R, Armitage R. Reduced sleep spindle activity in early-onset and elevated risk for depression, J of the Am Academy of Child and Adol Psy, 2010 ;49(9):934–943.

(119) Staton D. The impairment of pediatric bipolar sleep: hypotheses regarding a core defect and phenotype-specific sleep disturbances, J of Aff Dis, 2008;108(3):199–206.

(120) Harvey AG. Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation, Am J Psy, 2008 ;165(7):820–829.

(121) Pillai JJ, Friedman L, Stuve TA, & Al. Increased presence of white matter hyperintensities in adolescent patients with bipolar disorder, Psy Research. 2002 ;114(1):51–56

(122) Breeze JL, Hesdorffer DC, Hong X, & Al. Clinical significance of brain white matter hyperintensities in young adults with psychiatric illness, Harv Review of Psy 2003 ;11(5):269–283

(123) Blumberg HP, Kaufman J, Martin A, & Al. Amygdala and hippocampal volumes in adolescents and adults with bipolar disorder, Arch Gen Psy. 2003 ;60(12):1201–1208

(124) Chen HH, Nicoletti MA, Hatch JP, & Al. Abnormal left superior temporal gyrus

volumes in children and adolescents with bipolar disorder: a magnetic resonance imaging study, Neurosc Lett, 2004 ;363(1):65–68

(125) Penttilä J, Cachia A, Martinot J-L, & Al. Cortical folding difference between patients with early-onset and patients with intermediate-onset bipolar disorder, Bipolar Dis ; 2009;11(4):361–370

(126) Kentgen LM, Tenke CE, Pine DS, & Al. Electroencephalographic asymmetries in adolescents with major depression: influence of comorbidity with anxiety disorders, J Abnorm Psychol, 2000;109(4):797–802

(127) Lera-Miguel S, Andrés-Perpiñá S, Calvo R, & Al. Early-onset bipolar disorder: how about visual-spatial skills and executive functions? Eur Arch Psy and Clin Neurosc, 2011 ;261(3):195–203

(128) Brotman MA, Guyer AE, Lawson ES, & Al, Facial emotion labeling deficits in children and adolescents at risk for bipolar disorder, Am J Psy, 2008 ;165(3):385–389

(129) Guth C, Jones P, Murray R. Familial psychiatric illness and obstetric complications in early-onset affective disorder. A case-control study, Brit J Psy, 1993 ;163 :492–498

(130)) Tang J, Xiao L, Shu C, Wang G, Liu Z, Wang X, Bai X. Association of the brain-derived neurotrophic factor gene and bipolar disorder with early age of onset in mainland China, Neurosci Lett, 2008 ;433:98–102

(131) Mitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Slopien A, Czerski PM, Leszczynska-Rodziewicz A, Kapelski P, Hauser J. Dopamine receptor D1 gene -48A/ G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a polish population, Neuropsychobiol 2006 ;53:46–50

(132) Massat I, Kocabas NA, Crisafulli C, Chiesa A, Calati R, Linotte S, Mendlewicz J. COMT and age at onset in mood disorders: a replication and extension study, Neurosci Lett 2011 ;498 (3):218–221

(133) Ospina-Duque J, Duque C, Carvajal-Carmona L, Ortiz-Barrientos D, Soto I, Pineda N.

An association study of bipolar mood disorder (type I) with the 5-HTTLPR serotonin transporter polymorphism in a human population isolate from Colombia. Neurosci Lett 2000;292:199–202.

(134) Grigoroiu-Serbanescu M, Diaconu CC, Herms S, Bleotu C, Vollmer J, Mühleisen TW, Cichon, S. Investigation of the tryptophan hydroxylase 2 gene in bipolar I disorder in the Romanian population, Psy Genet, 2008 ;18:240–247

(135) Benedetti F, Bernasconi A, Lorenzi C, Pontiggia A, Serretti A, Colombo C, Smeraldi E. A single nucleotide polymorphism in glycogen synthase kinase 3-à promoter gene influences onset of illness in patients affected by bipolar disorder, Neurosci. Lett, 2004 ; 355 :37–40

(136) Jamain S, Cichon S, Etain B, Mühleisen TW, Georgi A, Zidane N, Leboyer M. Common and rare variant analysis in early-onset bipolar disorder vulnerability, Plos One, 2014.

(137) Mahon PB, Pirooznia M, Goes, FS & Al. Genome-wide association analysis of age at onset and psychotic symptoms in bipolar disorder, Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2011;156B(3):370-8

(138) Zhang D, Cheng L, Qian Y & Al. Singleton deletions throughout the genome increase risk of bipolar disorder, Mol Psy, 2009 ;14(4):376-80

(139) Priebe L, Degenhardt F, Herms S, Haenisch B, Mattheisen M, Nieratschker V, Mühleisen TW. Genome-wide survey implicates the influence of copy number variants (CNVs) in the development of early-onset bipolar disorder, Mol Psy, 2012 ;17:421–432

(140) Pottier C, Hannequin D, Coutant S, Rovelet-Lecrux A, Wallon D, Rousseau S, et al. High frequency of potentially pathogenic SORL1 mutations in autosomal dominant early-onset Alzheimer disease. Mol Psychiatry. sept 2012;17(9):875-9.

(141) Strauss KA, Markx S, Georgi B, Paul SM, Jinks RN, Hoshi T, et al. A population-based study of KCNH7 p.Arg394His and bipolar spectrum disorder. Hum Mol Genet. 1 déc 2014;23(23):6395-406.

(142) Georgi B, Craig D, Kember RL, Liu W, Lindquist I, Nasser S, et al. Genomic View of Bipolar Disorder Revealed by Whole Genome Sequencing in a Genetic Isolate. PLoS Genet mars 2014 :10(3).

(143) Ament SA, Szelinger S, Glusman G, Ashworth J, Hou L, Akula N, et al. Rare variants in neuronal excitability genes influence risk for bipolar disorder. Proc Natl Acad Sci USA. 17 mars 2015;112(11):3576-81.

(144) PGC consortium, http://www.med.unc.edu/pgc/

(145) Barnett IJ, Lee S, Lin X. Detecting Rare Variant Effects Using Extreme Phenotype Sampling in Sequencing Association Studies. Genet Epidemiol. févr 2013;37(2):142-51.

(146) Hu S, Zhong Y, Hao Y, Luo M, Zhou Y, Guo H, et al. Novel rare alleles of ABCA1 are exclusively associated with extreme high-density lipoprotein-cholesterol levels among the Han Chinese. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 1 oct 2009;47(10):1239-45.

(147) Rovelet-Lecrux A, Legallic S, Wallon D, et al. A genome-wide study reveals rare CNVs exclusive to extreme phenotypes of Alzheimer disease. European Journal of Human Genetics. 2012;20(6):613-617

(148) Centre National de Génotypage: http://www.cng.fr/fr/

(149) Nurnberger & al, Diagnostic Interview for Genetic Studies Rationale, Unique Features, and Training, Arch Gen Psy, 1994 ; 51(11):849-59.

(150) ADE, Affective Disorder Evaluation, Traduction et validation de l'Affective Disorder Evaluation, Christophe Delmas (2010)

(151) Fromer M, Moran JL, Chambert K, Banks E, Bergen SE, Ruderfer DM, et al. Discovery and statistical genotyping of copy-number variation from whole-exome sequencing depth. Am J Hum Genet. 5 oct 2012;91(4):597-607.

(152) Conifer : http://conifer.sourceforge.net/

(153) Cuenca M. Recherche de variations pathogéniques dans le trouble bipolaire par séquençage d'exome, thèse pour le doctorat de médecine, Rouen, faculté mixte de médecine et de pharmacie. (2013).

(154) Charbonnier, F. et al. Detection of exon deletions and duplications of the mismatch repair genes in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families using multiplex polymerase chain reaction of short fluorescent fragments. Cancer Res. 60, 2760–2763 (2000).

(155) DGV : http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home

(156) Aoyama, K. & Nakaki, T. Neuroprotective properties of the excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1). Amino Acids 45, 133–142 (2013).

(157) Afshari P, Myles-Worsley M, Cohen OS, Tiobech J, Faraone SV, Byerley W, et al. Characterization of a novel mutation in SLC1A1 associated with schizophrenia. Mol Neuropsychiatry. 2015;1(3):125-44.

(158) Myles-Worsley M, Tiobech J, Browning SR, Korn J, Goodman S, Gentile K, et al. Deletion at the SLC1A1 glutamate transporter gene co-segregates with schizophrenia and bipolar schizoaffective disorder in a 5-generation family. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. mars 2013;162B(2):87-95.

(159) Kanai Y, Bhide PG, DiFiglia M, Hediger MA: Neuronal high-affinity glutamate transport in the rat central nervous system. Neuroreport 1995;6:2357–2362.

(160) Scimemi A, Tian H, Diamond JS: Neuronal transporters regulate glutamate clearance, NMDA receptor activation, and synaptic plasticity in the hippocampus. J Neurosci 2009;29:14581–14595.

(161) Sepkuty, J. P. et al. A neuronal glutamate transporter contributes to neurotransmitter GABA synthesis and epilepsy. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 22, 6372–6379 (2002).

(162) Aoyama K, Suh SW, Hamby AM, Liu J, Chan WY, Chen Y, Swanson RA: Neuronal

gluta- thione deficiency and age-dependent neuro- degeneration in the EAAC1 deficient mouse. Nat Neurosci 2006;9:119–126

(163) Robert SM, Ogunrinu-Babarinde T, Holt KT, Sontheimer H: Role of glutamate transporters in redox homeostasis of the brain. Neuro- chem Int 2014;73:181–191.

(164) Stewart LR, Hall AL, Kang SH, Shaw CA, Beaudet AL: High frequency of known copy number abnormalities and maternal duplica- tion 15q11-q13 in patients with combined schizophrenia and epilepsy. BMC Med Genet 2011;12:154.

(165) Horiuchi Y, Iida S, Koga M, Ishiguro H, Iijima Y, Inada T, Watanabe Y, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Kunugi H, Tochigi M, Ito- kawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T: Associa- tion of SNPs linked to increased expression of SLC1A1 with schizophrenia. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2012;159B: 30–37.

(166) Priebe L, Degenhardt F, Strohmaier J, Breuer R, Herms S, Witt SH, Hoffmann P, Kulbida R, Mattheisen M, Moebus S, Meyer-Lindenberg A, Walter H, Mössner R, Nenadic I, Sauer H, Rujescu D, Maier W, Rietschel M, Nöthen MM, Cichon S: Copy number variants in Ger- man patients with schizophrenia. PLoS One 2013;8:e64035.

(167) Rees E, Walters JT, Chambert KD, O'Dushlaine C, et al: CNV analysis in a large schizophrenia sample implicates deletions at 16p12.1 and SLC1A1 and duplications at 1p36.33 and CGNL1. Hum Mol Genet 2014; 23:1669–1676.

(168) McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH: Striatal excitatory amino acid transporter transcript expression in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. Neuro- psychopharmacology 2002;26:368–375.

(169) Aoyama K, Suh SW, Hamby AM, Liu J, Chan WY, Chen Y, Swanson RA: Neuronal gluta- thione deficiency and age-dependent neurodegeneration in the EAAC1 deficient mouse. Nat Neurosci 2006;9:119–126

(170) Lee S, Park SH, Zuo Z: Effects of isoflurane on learning and memory functions of wild-type and glutamate transporter type 3 knockout mice. J Pharm Pharmacol 2012;64:302–307.

(171) Chen G, Henter ID, Manji HK. Presynaptic Glutamatergic Dysfunction in Bipolar Disorder. Biological psychiatry. 2010;67(11):1007-1009.

(172) Berk M, Copolov DL, Dean O, et al. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder :a double-blind randomized placebo-controlled trial. Biol Psychiatry. 2008;64:468–475.

(173) Javitt DC. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. Int Rev Neurobiol. 2007;78:69-108.

(174) Guillin O, Abi-Dargham A, Laruelle M. Neurobiology of dopanie in schizophrenia. International Review of Neurobiology, 2007,Vol 78 :1–39.

ANNEXES

Annexe 1 : Caractéristiques du DSM V pour le trouble bipolaire de type I

Trouble Bipolaire de type I
Caractérisé par : 1- A répondu aux critères d'au moins un épisode maniaque (Critère A-D d'un épisode maniaque) 2- La survenue de l'épisode ou des épisodes maniaques ou dépressifs n'est pas mieux expliquée par un trouble schizotypique, une schizophrénie, un trouble schizophréniforme, un trouble délirant ou un autre trouble psychotique spécifié ou non spécifié.
A. Une période nettement délimitée durant laquelle l'humeur est élevée, expansive ou irritable de façon anormale et persistante, avec une augmentation anormale et persistante de l'activité orientée vers un but ou de l'énergie, persistant la plus part du temps, presque tous les jours, pendant au moins une semaine (ou toute autre durée si une hospitalisation est nécessaire).
B. Au cours de cette période de perturbation de l'humeur et d'augmentation de l'énergie ou de l'activité, au moins 3 des symptômes suivants (4 si l'humeur est seulement irritable) sont présents avec une intensité significative et représentent un changement notable par rapport au comportement habituel : 1- augmentation de l'estime de soi ou idées de grandeur 2- réduction du besoin de sommeil 3- plus grande communicabilité que d'habitude ou désir constant de parler 4- fuite des idées ou sensation subjective que les pensées défilent 5- distractibilité rapportée ou observée 6- augmentation de l'activité orientée vers un but (social, professionnel, scolaire ou sexuel) ou agitation psychomotrice (c'est à dire activité sans objectif, non orientée vers un but) 7- engagement excessif dans des activités à potentiel élevé de conséquences dommageables
B. La perturbation de l'humeur est suffisamment grave pour entrainer une altération marquée du fonctionnement professionnel ou des activités sociales, ou pour nécessiter

une hospitalisation afin de prévenir les conséquences dommageables pour le sujet ou autrui, ou bien il existe des caractéristiques psychotiques.
C. L'épisode n'est pas imputable aux effets physiologiques d'une substance ou a une autre affection médicale.
NB : un épisode maniaque complet qui apparait au cours d'un traitement antidépresseur (par ex médicaments ou sismothérapie) mais qui persiste et rempli les critères complets d'un épisode au delà d'un simple effet physiologique de ce traitement doit être considéré comme un épisode maniaque et conduire, par conséquent, à un diagnostic de trouble bipolaire de type I.
Spécifier : le type de l'épisode en cours (ou du plus récent) ainsi que sa sévérité actuelle, la présence ou non de symptômes psychotiques (si épisode en cours) et si il est ou pas en rémission.
Spécifier : si il est associé à diverses caractéristiques avec les dominations suivantes : - Avec détresse anxieuse - Avec caractéristique mixtes - Avec cycles rapides - Avec caractéristiques mélancoliques - Avec caractéristiques atypiques - Avec caractéristiques psychotiques congruentes a l'humeur - Avec caractéristiques psychotiques non congruentes a l'humeur - Avec catatonie - Avec début lors du post-partum - Avec caractère saisonnier

Annexe 2 : Caractéristiques du DSM V pour le trouble bipolaire de type II, la dépression et l'hypomanie

Trouble Bipolaire de type II
Caractérisé par : 1- Les critères suivants d'un épisode hypomanique actuel ou passé 2- et les critères suivants d'un épisode dépressif caractérisé actuel ou passé
Episode hypomaniaque
A. Une période nettement délimitée durant laquelle l'humeur est élevée, expansive ou irritable de façon anormale et persistante, avec une augmentation anormale et persistante de l'activité orientée vers un but ou de l'énergie, persistant la plus part du temps, presque tous les jours, pendant au moins 4 jours consécutifs.
B. Au cours de cette période de perturbation de l'humeur et d'augmentation de l'énergie ou de l'activité, au moins 3 des symptômes suivants (4 si l'humeur est seulement irritable) sont présents avec une intensité significative et représentent un changement notable par rapport au comportement habituel : 1- Augmentation de l'estime de soi ou idées de grandeur 2- Réduction du besoin de sommeil 3- Plus grande communicabilité que d'habitude ou désir constant de parler 4- Fuite des idées ou sensation subjective que les pensées défilent 5- Distractibilité rapportée ou observée 6- Augmentation de l'activité orientée vers un but (social, professionnel, scolaire ou sexuel) ou agitation psychomotrice (c'est à dire activité sans objectif, non orientée vers un but) 7- Engagement excessif dans des activités à potentiel élevé de conséquences dommageables
C. L'épisode s'accompagne de modifications indiscutables du fonctionnement, qui diffère de celui du sujet hors période symptomatique.
D. La perturbation de l'humeur et la modification du fonctionnement sont manifestes pour les autres.

E. La sévérité de l'épisode n'est pas suffisante pour entraîner une altération marquée du fonctionnement professionnel ou social, ou pour nécessiter une hospitalisation. S'il existe des caractéristiques psychotiques, l'épisode est, par définition, maniaque.

F. L'épisode n'est pas imputable aux effets physiologiques d'une substance.

NB : un épisode hypomaniaque complet qui apparait au cours d'un traitement antidépresseur (par ex médicaments ou sismothérapie) mais qui persiste et rempli les critères complets d'un épisode au delà d'un simple effet physiologique de ce traitement doit être considéré et traité comme un épisode hypomaniaque. Toutefois, la prudence s'impose car un ou deux symptômes (en particulier l'augmentation de l'irritabilité, de la nervosité, ou de l'agitation après le prise d'un antidépresseur) ne sont pas suffisants pour le diagnostic d'épisode hypomaniaque, et ne sont pas obligatoirement indicatfs d'une diathèse bipolaire.

Episode dépressif

A. Au moins 5 des symptômes suivants sont présents pendant une même période d'une durée de 2 semaines et représentent un changement par rapport au fonctionnement antérieur ; au moins un des symptôme est soit (1) une humeur dépressive, soit (2) une perte d'intérêt ou de plaisir.

NB : ne pas inclure des symptômes manifestement imputables à une affection médicale.

1- Humeur dépressive présente quasiment toute la journée, presque tous les jours, signalée par la personne ou observée par les autres (NB : éventuellement irritabilité chez l'enfant et l'adolescent).
2- Diminution marquée de l'intérêt ou du plaisir pour toutes ou presque toutes les activités quasiment toute la journée, presque tous les jours.
3- Perte ou gain de poids significatif en l'absence de régime ou diminution ou augmentation de l'appétit presque tous les jours.
4- Insomnie ou hypersomnie presque tous les jours.
5- Agitation ou ralentissement psychomoteurs presque tous les jours.
6- Fatigue ou perte d'énergie presque tous les jours.
7- Sentiment de dévalorisation ou de culpabilité excessive ou inappropriée (qui peut être délirante) presque tous les jours.
8- Diminution de l'aptitude à penser ou à se concentrer ou indécision presque tous les jours.

9- Pensées de mort récurrentes (pas seulement la peur de mourir), idées suicidaires récurrentes sans plan précis, tentative de suicide ou plan précis pour se suicider.
B. Les symptômes induisent une détresse cliniquement significative ou une altération du fonctionnement social, professionnel ou dans d'autres domaines importants.
C. Les symptômes ne sont pas imputables aux effets physiologiques directs d'une substance ou d'une autre affection médicale.
NB : Les critères A à C définissent un épisode dépressif caractérisé.
NB : Les réponses à une perte significative (ex : deuil, ruine, pertes au cours d'une catastrophe naturelle, maladie grave ou handicap) peuvent comprendre des sentiments de tristesse intense, des ruminations à propos de la perte, une insomnie, un manque d'appétit une perte de poids, symptômes inclus dans me critère A et évoquant un épisode dépressif. Bien que ces symptômes peuvent être compréhensibles ou jugés appropriés en regard de la perte, la présence d'un épisode dépressif caractérisé, en plus de la réponse normale à une perte importante, doit être considéré attentivement. Cette décision fait appel au jugement clinique qui tiendra compte des antécédents de la personne et des normes culturelles de l'expression de la souffrance dans un contexte de perte.
Trouble bipolaire de type II
A. Les critères sont remplis pour au moins un épisode hypomaniaque et au moins pour un épisode dépressif caractérisé.
B. Il n'y a jamais eu d'épisode maniaque
C. L'apparition de(s) l'épisode(s) hypomaniaque(s) et de(s) l'épisode(s) dépressif(s) n'est pas mieux expliquée par un trouble schizoaffectif, une schizophrénie, un trouble schizophréniforme, un trouble délirant ou un autre trouble spécifié ou non spécifié du spectre de la schizophrénie et autres troubles psychotiques.
D. Les symptômes de dépression ou l'imprévisibilité causées par l'alternance fréquente entre des périodes de dépression et d'hypomanie entraînent une souffrance importante ou une altération du fonctionnement social, professionnel ou dans d'autres domaines importants.
Spécifier : **Si** l'épisode actuel ou le plus récent est hypomanique ou dépressif **Si** avec : - caractéristiques anxieuses

- caractéristiques mixtes
- des cycles rapides
- caractéristiques psychotiques congruentes à l'humeur
- caractéristiques psychotiques non congruentes à l'humeur
- catatonie
- début dans le péri partum
- caractère saisonnier

Si : en rémission complète ou partielle.

La sévérité : léger, moyen, sévère.

Annexe 3 : Caractéristiques du DSM V pour la Cyclothymie

La Cyclothymie
A. Existence pendant au moins 2 ans (au moins 1 an chez les enfants et les adolescents) de nombreuses périodes pendants lesquelles des symptômes hypomaniaques sont présents sans que soient réunis les critères d'un épisode hypomaniaque et de nombreuses périodes pendants lesquelles des symptômes dépressifs sont présents sans que soient réunis les critères d'un épisode dépressif caractérisé.
B. Durant la période de 2 ans décrite ci dessus (1 an chez les enfants et les adolescents), les périodes hypomaniaques et dépressives ont été présentes pendant au moins la moitié du temps et la personne n'a pas connue de période de plus de 2 mois consécutifs sans symptômes.
C. Les critères pour un épisode dépressif caractérisé, maniaque ou hypomaniaque n'ont jamais été réunis.
D. Les symptômes du critère A ne sont pas mieux expliqués par un trouble schizoaffectif, une schizophrénie, un trouble schizophréniforme, un trouble délirant ou un autre trouble spécifié ou non spécifié du spectre de la schizophrénie et autres troubles psychotiques.
E. Les symptômes ne sont pas imputables aux effets physiologiques directs d'une substance ou d'une autre affection médicale.
F. Les symptômes entraînent une détresse cliniquement significative ou une altération du fonctionnement social, professionnel ou dans d'autres domaines importants.
Spécifier si : Avec détresse anxieuse.