

Article original

## Polymorphismes du gène *RELN* et susceptibilité à l'épilepsie et à la schizophrénie : Etude clinique et génétique d'une famille algérienne

*RELN* gene polymorphisms and susceptibility to epilepsy and schizophrenia: Clinical and genetic study of an Algerian family

Amina Chentouf<sup>1,2</sup>, Mohand Laid Oubaiche<sup>1,2</sup>, Aicha Dahdouh<sup>2,3</sup>, Annick Salzmänn<sup>4</sup>, Michel Guipponi<sup>4</sup>, Stylianos Antonarakis<sup>4</sup>, Malika Chaouch<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Service de Neurologie, CHU d'Oran

<sup>2</sup> Faculté de Médecine d'Oran

<sup>3</sup> Service de Psychiatrie, EHS Sidi Chami, Oran

<sup>4</sup> Laboratoire de Médecine Génétique et Développement, Université de Genève

<sup>5</sup> Faculté de Médecine d'Alger

### MOTS CLÉS

Reelin, *RELN*, polymorphisme, épilepsie, schizophrénie.

### Résumé

**Introduction** - Les données cliniques, épidémiologiques et neuropathologiques disponibles suggèrent une forte association entre l'épilepsie et la schizophrénie. Cette association sous-entend une vulnérabilité génétique commune à ces deux affections. L'objectif de cette étude est de rechercher des variants génétiques de susceptibilité à l'épilepsie et à la schizophrénie chez une famille algérienne.

**Matériels et méthodes** - Tous les membres disponibles de la famille codée EPI-ORASIA ont été évalués cliniquement et par des électroencéphalographies. Une analyse génétique par séquençage de l'exome entier a été réalisée après extraction de l'ADN.

**Résultats** - Cette famille compte deux frères atteints d'épilepsie du lobe temporal, avec schizophrénie chez l'un, et trouble dépressif récurrent sur personnalité de type borderline chez l'autre. Le séquençage exonique a identifié un variant du gène *RELN* (rs55689103) à l'état homozygote chez l'individu avec schizophrénie, et à l'état hétérozygote chez son frère.

**Conclusion** - Le polymorphisme rs55689103 pourrait être impliqué dans le phénotype schizophrénique dans cette famille, mais pas dans le phénotype épileptique. Le dosage sérique de la protéine Reelin ainsi que l'étude du niveau de méthylation du promoteur du gène *RELN* constituent des éléments clés pour l'interprétation des résultats de cette étude.

## KEY WORDS

Reelin, *RELN*, polymorphism, epilepsy, schizophrenia.

## Abstract

**Introduction** - Several studies have shown a strong relationship between schizophrenia and epilepsy. This association implies a common genetic susceptibility for both conditions. This study aims to identify genetic variants of susceptibility to epilepsy and schizophrenia in an Algerian family.

**Patients and methods** - All available members of this family underwent clinical and electroencephalographic evaluation. Genetic analysis by whole exome sequencing was performed after DNA extraction.

**Results** - In this study, we report a family with two brothers having temporal lobe epilepsy associated to schizophrenia in one, and to recurrent depressive disorder in the other. Exome sequencing identified homozygous single nucleotide variant in the *RELN* gene (rs55689103) in patient with schizophrenia. His brother was heterozygous for the same variant.

**Conclusion** - The polymorphism rs55689103 could be involved in schizophrenic phenotype in this family, but not in epilepsy phenotype. Further investigations of blood Reelin level and *RELN* promoter methylation are key components to interpreting the results of this study.

## Introduction

La schizophrénie [OMIM : 181500] est une pathologie psychiatrique sévère, affectant plus de 1% de la population mondiale [1]. Elle est caractérisée par des hallucinations, un délire, des affects plats ou inappropriés et une détérioration cognitive. La composante génétique de ce trouble est connue depuis le début de ce siècle avec une héritabilité estimée à 80-85% [2]. L'hypothèse actuellement retenue est celle d'un modèle polygénique et multifactoriel [3]. A ce jour, aucun gène n'a été formellement identifié comme facteur causal. Cependant, certains gènes sont considérés comme des candidats intéressants [4].

L'association de la schizophrénie à l'épilepsie a été démontrée par plusieurs études [5, 6]. Ainsi, dans une étude prospective portant sur 87 enfants suivis pendant 10 ans pour épilepsie du lobe temporal (ELT), 10% ont développé une schizophrénie [7]. Une étude plus récente a démontré une relation bidirectionnelle entre l'épilepsie et la schizophrénie avec une incidence plus élevée de l'épilepsie dans le groupe de patients schizophrènes par rapport aux sujets non schizophrènes (6,99 vs 1,19/1000), et une incidence plus élevée de la schizophrénie dans la cohorte des épileptiques par rapport aux non épileptiques (3,53 vs 0,46/1000) [8]. Cette association sous-entend une vulnérabilité génétique commune à ces deux affections. En effet, il a été démontré que le gène *Leucine-rich glioma inactivated 1 (LG11)* localisé en 10q23.33, codant pour une protéine de 63818 Da, impliqué dans le développement neuronal, est associé à l'épilepsie autosomique dominante du lobe temporal avec aura auditive et à la schizophrénie [9]. Par ailleurs, le gène *Contactin-associated protein-like 2 (CNTNAP2)* localisé en 7q35-q36 et codant pour

une protéine de 148167 Da, est considéré comme un potentiel gène candidat pour l'épilepsie, la schizophrénie et le déclin cognitif dans la population caucasienne [10]. Enfin, le gène *Reelin (RELN)* localisé en 7q22.1, qui code pour une glycoprotéine extracellulaire de 388.388 Da, jouant un rôle primordial dans le développement neuronal a aussi été incriminé dans la pathogénèse de la schizophrénie et de l'épilepsie. Ce gène code pour la Reelin, une gigantesque glycoprotéine impliquée dans la migration neuronale et dans différentes fonctions du développement cérébral [11]. Cette protéine est exprimée essentiellement par les interneurons GABAergiques de l'hippocampe et par les neurones glutamatergiques du cervelet [12]. De plus, la protéine Reelin joue un rôle important dans la croissance dendritique, dans la plasticité synaptique et dans la régulation des récepteurs N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA) [13]. Les troubles du métabolisme de la Reelin se traduisent par un défaut de lamination corticale [14] ou une lissencéphalie [15]. Ainsi, les mutations du gène *RELN* pourraient être impliquées dans la pathogénèse de troubles neuropsychiatriques tels que la maladie d'Alzheimer, la démence fronto-temporale, les troubles du spectre autistique, les troubles bipolaires, certains syndromes épileptiques et la schizophrénie [16, 17]. L'objectif de cette étude est de décrire le phénotype neuropsychiatrique et d'identifier des variants génétiques de vulnérabilité à l'épilepsie et à la schizophrénie chez une famille algérienne.

## Matériels et Méthodes

### 1. Evaluation clinique

La famille codée EPI-ORA-SIA a été recrutée par le biais

de la consultation spécialisée d'épileptologie au service de Neurologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Oran. Tous les membres disponibles et consentants ont fait l'objet d'une évaluation neurologique et psychiatrique par la version française de la DIGS (Diagnostic Interview for Genetic Studies) [18] et la version arabe du NDDI-E (The Neurological Disorders Depression Inventory for epilepsy) [19]. Par la suite, des enregistrements électroencéphalographiques (EEG) et des imageries cérébrales par résonance magnétique (IRM) ont été réalisés chez tous les participants.

## 2. Extraction de l'ADN

L'ADN génomique a été extrait à partir des leucocytes «Invitrogen». La pureté de l'ADN a été vérifiée par la méthode de spectrophotométrie basée sur la capacité de l'ADN à absorber des rayonnements UV (Nanodrop, Labtech). La concentration des ADN a été déterminée par la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 260nm «nanomètres». Un second dosage a été effectué à 280nm afin de rechercher une éventuelle contamination par les protéines ou par les sels lors de l'extraction.

## 3. Analyses par séquençage exomique

Le séquençage a été réalisé au Laboratoire de Médecine Génétique et Développement de l'Université de Genève «Illumina GAllx / HiSeq 2000» (Illumina, San Diego, CA). Le démultiplexage des exons a été obtenu pour chaque échantillon en utilisant le logiciel CASAVA v1.8.2, et traité par pipeline «in-house» du Centre Vital-IT pour le calcul haute performance de l'Institut Suisse de Bioinformatique 17. L'alignement des reads et la dénomination des variants nucléotidiques simples et des petits indels ont été effectués à l'aide de Burrows-Wheeler Aligner (BWA). Les données ont ensuite été analysées sur la base des séquences du génome humain, en utilisant la base de données du Centre National pour l'Information Biotechnologique (NCBI Build GRCh37/hg19)

## 4. Identification des variants pathogènes

Les variants potentiellement pathogéniques ont été identifiés grâce au logiciel VariantMaster. Les variants détectés chez les individus malades ont été retenus pour des analyses subséquentes avec Samtools et PINDEL, qui ont des scores de qualité supérieurs à 150 et à 600 respectivement. Les variants homozygotes ou hétérozygotes composites chez les individus malades, qui ont été prédits comme délétères «damaging» par au moins deux des trois algorithmes utilisés (SIFT, Polyphen2 et Mutation Taster), n'ont été classés comme récessifs, que si les deux parents étaient porteurs et que le génotype des autres enfants indemnes était différent de celui de leurs frères malades. Tous les variants classés comme récessifs par VariantMaster ont été par la suite visuellement inspectés par le logiciel SAMtools text alignment viewer. Le reste des variants candidats ont été validés par séquençage Sanger (ABI 3730xl DNA Analyzer,

Applied Biosystems).

## Résultats

### 1. Description phénotypique de la famille EPI-ORA-SIA

Dans cette famille, tous les sujets sont d'origine Algérienne (Maghrébine- arabe) sauf l'individu I-2 qui est originaire du Maroc (Ville de Oudjda, frontalière à l'Algérie). Les parents sont sains et ne présentent aucun lien de parenté (Figure 1).

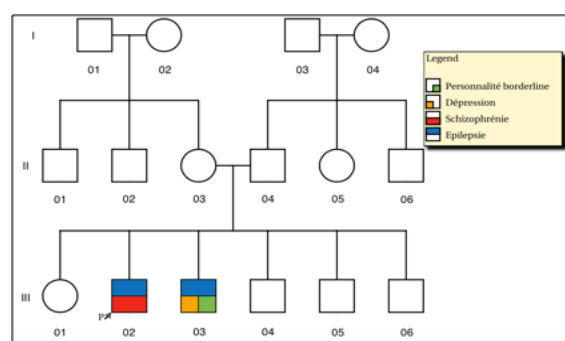
#### Individu III-02

L'individu III-02 est le cas index de cette famille. Il présente une épilepsie du lobe temporal évoluant depuis l'âge de 10 ans. Ses crises se résument à des sensations d'angoisse avec tachycardie et impression de déjà-vu durant moins d'une minute et se répétant une à deux fois par jour. Ces épisodes sont parfois suivis de crises tonico-cloniques généralisées avec morsure de la langue et émission d'urines.

Son examen neurologique est normal et l'EEG confirme le foyer temporal. L'IRM cérébrale avec injection de gadolinium est sans particularités, ne retrouvant ni sclérose hippocampique ni malformation vasculaire. Il est traité par Phénobarbital® 200 mg/j et Carbamazépine® 400 mg/j avec une nette diminution de la fréquence des crises focales. L'évaluation psychiatrique par la DIGS a permis de poser le diagnostic de schizophrénie désorganisée imposant l'instauration de traitement à base d'Olanzapine® 10 mg/jour et Levomepromazine® 25mg/jour, conduisant à une stabilisation partielle des troubles.

#### Individu III-03

L'individu III-03 est suivi en neurologie depuis l'âge de 12 ans pour épilepsie du lobe temporal, ses crises sont faites d'épisodes paroxystiques de dysphasie avec des propos incohérents. Il rapporte également des sensations abdominales «bizarres» durant moins de 3 minutes suivies de généralisation secondaire. Ces crises sont fréquentes se répétant 2 à 4 fois par jour. L'examen neurologique est normal. L'EEG met en évidence un foyer fronto-temporal. L'IRM cérébrale avec injection de gadolinium est sans particularités. Le sujet a été mis sous Lamotrigine® 200 mg/j et Phénobarbital® 200 mg/j, avec diminution de la fréquence des crises. L'évaluation psychiatrique a conclu à un trouble dépressif récurrent sur personnalité de type borderline. Un traitement par anti-



dépresseur (Sertraline® 50mg/jour) et anxiolytique (Prazépam® 10mg/jour) a été entamé avec une réponse favorable.

Tous les autres membres disponibles et consentants de la famille nucléaire ont bénéficié d'un examen neurologique et d'une évaluation psychiatrique qui étaient sans particularités. Leurs enregistrements électroencéphalographiques et leurs IRM cérébrales se sont avérés normaux.

## 2. Résultats du séquençage exomique

Étant donné que les enfants affectés sont issus de parents sains, nous avons évoqué la possibilité d'un modèle récessif en recherchant des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites chez les individus malades.

Un séquençage exonique a été effectué chez les parents (individus II-01 et II-02), les deux enfants malades (individus III-02 et III-03) et deux enfants sains (individus III-01 et III-06). Le tableau 1 résume le nombre de variants identifiés pour chaque individu.

Tableau 1: Variants identifiés lors du séquençage exonique

| Échantillons   | Reads | Cov 8x | SNV non syn | SNV syn |
|----------------|-------|--------|-------------|---------|
| Individu I-01  | 104 M | 97,68% | 10,351      | 11,653  |
| Individu I-02  | 92 M  | 97,53% | 10,179      | 11,744  |
| Individu II-01 | 92 M  | 97,55% | 10,261      | 11,864  |
| Individu II-02 | 182 M | 98,15% | 10,358      | 11,716  |
| Individu II-03 | 94 M  | 97,52% | 10,282      | 11,721  |
| Individu II-06 | 95 M  | 97,57% | 10,246      | 11,743  |

Read = nombre de paires de bases lues lors de l'exome. Cov 8x = le pourcentage de paires de bases lues 8 fois. SNV non synonyme = nombre de variants identifiés provoquant un changement d'acide aminé. SNV synonyme = nombre de variants identifiés ne provoquant pas de changement d'acide aminé.

## 3. Résultats de la recherche de variants génétiques par VariantMaster

Des polymorphismes du gène Centrosomal Protein 350kDa (CP350) ont été identifiés à l'état hétérozygote chez les individus sains de cette famille : rs179983405 et rs35720901. Les deux individus atteints d'épilepsie sont porteurs de mutations

Tableau 2: Variants identifiés par VariantMaster

| Gène   | AA       | Zyg | QS  | SNP137      | EVS    | SIFT | PP2   | I-01 | I-02 | II-01 | II-02 | II-03 | II-06 |
|--------|----------|-----|-----|-------------|--------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| CEP350 | p.E606A  | het | 225 | rs179983405 | 0,000  |      | 0,996 | NF   | het  | het   | het   | het   | NF    |
| CEP350 | p.K2735N | het | 225 | rs35720901  | 0,006  | 0,01 | 0,024 | het  | NF   | NF    | het   | het   | het   |
| EMR3   | p.L379V  | hom | 222 | rs35720901  | 0,017  | 0,01 | 1     | het  | het  | NF    | hom   | hom   | het   |
| RELN   | p.G1280E | hom | 222 | rs55689103  | 0.0115 | 0    | 0,997 | het  | het  | het   | ho    | het   | NF    |

QS : score de qualité, 225 est le score maximum ; AA = le changement d'acide aminé provoqué par la mutation ; A : Alanine ; E : Acide glutamique ; K : Lysine ; L : Leucine ; N : Asparagine ; V : Valine. Zyg = si homozygote ou hétérozygote chez le proband ; Snp137 = si le SNP est déjà répertorié ; EVS = la fréquence du SNP dans population caucasienne (Exome Variant Server database) ; NF : not found ; Het = hétérozygote, Hom = homozygote.

hétérozygotes composites de ce même gène, compatibles avec un mode de transmission autosomique récessif (Tableau 2).

Un autre polymorphisme rs59183049 a été identifié à l'état homozygote chez les deux individus malades et à l'état hétérozygote chez les parents et le frère sain. Ce variant est localisé au niveau du gène EGF-like module-containing, mucin-like hormone receptor 3 (EMR3).

Un dernier variant p.G1280E « rs55689103 » du gène RELN a été identifié à l'état homozygote chez l'individu III-02 avec phénotype schizophrénique, compatible avec un mode de transmission autosomique récessif. Ce polymorphisme dont la fréquence allélique est de 0,01021, entraîne la substitution d'une Glycine par l'acide glutamique en position 1280 du gène RELN (Tableau 2).

La figure 2 illustre la séquence du gène RELN où l'on peut voir le génotype de chaque individu de la famille. Seul le patient III-02 est porteur de la mutation (homozygote T).

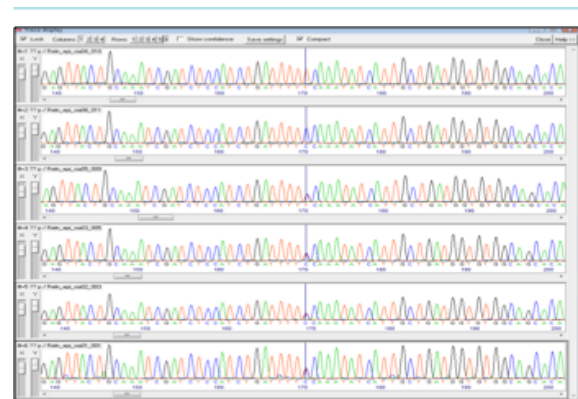


Figure 2: Chromatogramme de la séquence du gène RELN chez les membres de la famille EPI-ORA-SIA

## Discussion

### 1. Discussion des modes de transmission

Dans cette famille, deux modèles sont à considérer :

- Dans le premier modèle où l'on ne tient compte que du phénotype épileptique, la transmission est autosomique récessive

étant donné que les individus atteints sont issus de parents sains. En effet, dans ce modèle, les parents sont hétérozygotes pour les polymorphismes des gènes EGF-like module-containing, mucin-like hormone receptor 3 (*EMR3*) et centrosomal protein 350kDa (*CEP350*) ; variants qu'ils ont transmis à leurs enfants sains hétérozygotes et aux enfants malades (III-2 et III-03). Ces derniers sont homozygotes pour le polymorphisme *EMR3* et hétérozygotes composites pour les variant *CEP350*, ce qui revient au même résultat qu'un variant homozygote. Toutefois, nous ne pouvons pas exclure une transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète de la maladie.

- Dans le deuxième modèle où l'on ne tient compte que du phénotype « schizophrénie », l'individu III-02 est homozygote pour le polymorphisme du gène *RELN* et III-03 est hétérozygote, au même titre que les parents et la sœur saine (individus II-01 et II-02 et III-01). Dans ce contexte, nous considérons que seule la schizophrénie est le phénotype lié à ce gène et on fait donc abstraction du phénotype épileptique.

## 2. Discussion des résultats du séquençage d'exons

### Polymorphismes du gène *CEP350*

Le gène *CEP350* est situé sur le chromosome 1q25. Il mesure 160.108 pb, comporte 40 exons et code pour une protéine centrosomale de 350 kDa. Cette protéine dotée d'un domaine CAP-Gly, typiquement retrouvé dans les protéines associées au cytosquelette, est impliquée dans la régulation des récepteurs hormonaux localisés dans le noyau [20]. Les deux variants identifiés rs179983405 et rs35720901 sont rares, leur fréquence allélique est de l'ordre de 0,00003974 pour le premier et de 0,001834 pour le second. De plus, ils sont prédits pour être pathogènes « damaging » par les logiciels SIFT et Polyphen2.

A ce jour, aucun phénotype, maladie ou trait n'est connu pour être directement associé à ce gène. Par conséquent, il est difficile de confirmer son implication dans le phénotype de cette famille, d'autant plus que les individus sains (III-04 et III-05) n'ont pas été génotypés pour les deux variants et l'on ne peut donc savoir s'ils présentent le même génotype que les individus malades.

### Polymorphisme du gène *EMR3*

Le gène *EMR3*, encore appelé adhesion G protein-coupled receptor E3 (*ADGRE3*) est situé sur le chromosome 19p13.1. Il mesure 55.633 pb et comporte 16 exons [21]. Il code pour une protéine transmembranaire exprimée essentiellement par les cellules immunitaires, jouant un rôle dans les réponses immunes et inflammatoires. Cette protéine agit aussi comme régulateur de la pression artérielle. A ce jour, il n'a jamais été rapporté de troubles neuropsychiatriques associés au gène *EMR3*. Chez nos patients, le variant retrouvé « rs59183049 » entraînant la substitution d'une Lysine en Alanine en position 379 à l'origine d'une mutation faux-sens, est connu et a déjà été répertorié dans la base de données Exac, qui rapporte aussi des homozygotes sains pour ce variant avec une fréquence allélique de 0,013, ce qui écarte l'hypothèse de sa pathogé-

nicité.

### Polymorphisme du gène *RELN*

Le gène *RELN* ([OMIM] 600514) est situé sur le bras long du chromosome 7q22.1. Il mesure 517.733 pb, comprend 65 exons et s'exprime essentiellement dans le cerveau. Il a été identifié en 1995 par clonage positionnel [14]. Il code pour la Reelin, une gigantesque protéine extracellulaire de 3460 acides aminés, qui joue un rôle primordial dans le développement neuronal chez l'embryon mais aussi en post-natal [11]. En effet, la Reelin produite par certains neurones du système nerveux central comme les cellules de Cajal-Retzius, agit sur les cellules de la plaque corticale en activant une cascade de phosphorylations, ce qui permet à ces cellules de s'ordonner correctement pour former le modèle architectonique radiaire typique de la plaque corticale précurseur du cortex normal [22-24].

Reeler est une mutation autosomique récessive de la souris qui affecte le développement embryonnaire du cerveau. Elle provoque des anomalies de l'organisation cytoarchitectonique de nombreuses régions cérébrales, parmi lesquelles le néocortex, l'hippocampe et le cervelet [25, 26]. Ces anomalies, qui touchent spécifiquement la phase terminale de la mise en place des neurones au cours du développement, sont utilisées depuis longtemps comme modèle d'étude du développement cérébral [27].

Il est actuellement admis que les troubles du métabolisme de la protéine Reelin sont impliqués dans certaines affections neuropsychiatriques telles que la schizophrénie, le trouble bipolaire, l'autisme, la dépression majeure, la maladie d'Alzheimer et les défauts de migration associés à l'épilepsie du lobe temporal [16, 28-30]. Ainsi, une étude Hongroise récente a révélé une association génétique entre deux polymorphismes (rs528528 et rs607755) du gène *RELN* et la maladie d'Alzheimer [31]. Par ailleurs, des études post mortem menées en Amérique du Nord sur des patients atteints de schizophrénie, de troubles bipolaires ou encore d'autisme, ont révélé une diminution de l'expression de la protéine Reelin dans le cortex frontal de ces individus [32-34]. De plus, les souris hétérozygotes pour la mutation *RELN* expriment des troubles du comportement et une diminution de la densité dendritique dans le lobe frontal, compatibles avec un tableau de schizophrénie ou d'autisme [35, 36].

Depuis une quinzaine d'années, les études de liaison et d'association ainsi que la recherche des endophénotypes dans la schizophrénie se sont considérablement développées [37, 38]. Ainsi, une étude de liaison a révélé un locus de susceptibilité sur le chromosome 7q21-32 hébergeant le gène *RELN*, et a détecté une association entre des polymorphismes de ce gène et de multiples endophénotypes neuropsychologique tels que la mémoire verbale ( $P=0,000003$ ), la mémoire visuelle de travail ( $P=0,002$ ), et les fonctions exécutives ( $P=0,002$ ) [39]. Par ailleurs, le polymorphisme Val997Leu a été associé à des anomalies ventriculaires chez les patients schizophrènes [40]. Plus intéressant encore, une importante étude d'association pangénomique incluant un large échantillon (2934 cas et 7172



témoins) provenant de cinq populations différentes (Juive Ashkénaze, Chinoise, Irlandaise, Britannique et Américaine) a mis en évidence une association significative entre le polymorphisme rs7341475 du gène *RELN* et la schizophrénie chez les femmes [41]. Une autre étude plus récente a rapporté une association du polymorphisme rs362719 du gène *RELN* à la schizophrénie chez les femmes Chinoises, suggérant l'implication d'hormones sexuelles [42]. En effet, des études chez le rat ont montré que la progestérone régulait fortement l'expression de la protéine Reelin dans le système nerveux [43].

Des variations du nombre de copies d'ADN (CNV) du gène *RELN* ont également été incriminées dans la lissencéphalie autosomique récessive avec hypoplasie cérébelleuse [44]. En effet, Hong et al ont identifié deux familles consanguines avec des réarrangements chromosomiques impliquant le gène *RELN*. Dans la première famille originaire d'Arabie Saoudite, l'analyse par RT-PCR a révélé une délétion de l'exon 36, alors que dans le deuxième pedigree d'origine britannique, une délétion de l'exon 42 a été identifiée [44]. Les individus porteurs de ces CNV présentaient une ataxie cérébelleuse, un lymphoedème congénital, un retard du développement psychomoteur et une épilepsie. Ces variants étaient responsables d'un taux bas, voire indétectable de protéine Reelin dans le sang. Quelques années plus tard, Chang et al ont décrit le même phénotype dans une famille originaire de Turquie, dans laquelle plusieurs membres étaient porteurs d'une inversion chromosomique au locus du gène *RELN* [45].

En 2007, Zaki et al ont rapporté deux frères d'origine égyptienne issus d'un mariage consanguin, au phénotype de lissencéphalie corticale avec hypoplasie cérébelleuse, épilepsie sévère et déficience intellectuelle. L'analyse du caryotype a identifié une translocation réciproque t(7;12)(q22;p13) à l'état homozygote, chez les deux enfants. Des investigations plus poussées ont confirmé l'altération du gène *RELN* en 7q22.1 et des niveaux indétectables de la protéine [46].

Plus récemment encore, Dazzo et al. ont identifié sept mutations faux-sens dans le gène *RELN* dans une cohorte de sept familles non apparentées d'origine italienne avec épilepsie du lobe temporal. Les individus porteurs des polymorphismes p.Asp763Gly, p.His798Asn, p.Gly2783Cys, et p.Glu3176Lys avaient un taux sérique de Reelin très réduit (jusqu'à 50%) par rapport aux témoins, suggérant une perte de fonction [22].

Dans notre famille, le variant rs55689103 n'a été retrouvé à l'état homozygote que chez l'individu II-02 au phénotype de schizophrénie et ELT, dont l'imagerie cérébrale est normale, ne retrouvant notamment pas d'anomalies du développement cortical. De plus, cet individu ne présente ni retard mental ni ataxie cérébelleuse. Ceci suggère que ce polymorphisme n'est pas impliqué dans le phénotype épileptique, vu qu'il n'a pas été identifié chez le frère II-03 qui souffre d'une ELT avec syndrome dépressif majeur.

Par contre, pour le phénotype « schizophrénie », ce variant pourrait être à l'origine d'un défaut d'expression de la proté-

ine Reelin responsable du tableau psychiatrique. Cependant, nous n'avons pas effectué le dosage plasmatique de la protéine Reelin, et nous ne pouvons donc incriminer ce variant de façon formelle dans la survenue de schizophrénie chez notre patient. De plus, la fréquence allélique de notre variant rs55689103 est estimée à 0,01021 par la banque de données ExAc qui rapporte dix individus homozygotes pour ce même variant. En outre, lorsque la variation est déjà connue et que sa fréquence dans la population générale est supérieure à 1%, il y a peu de chances pour qu'elle soit incriminée dans la survenue de la maladie. Cependant, il est à noter que cette base de données rapporte les résultats de populations européennes, asiatiques et latino-africaines qui ne sont pas représentatives de la population Algérienne ou Maghrébine.

En dépit de l'absence de preuves génétiques convaincantes quant à l'implication de ce polymorphisme dans le phénotype épileptique et psychiatrique de cette famille, nous ne pouvons pas exclure le gène *RELN* au niveau épigénétique. En effet, la région du promoteur du gène *RELN* est riche en îlots CpG couvrant plus de 2.000 pb et est par conséquent, susceptible d'être modifiée par les DNA méthyltransférases (DNMTs) dans des conditions physiologiques et pathologiques [27]. Ainsi, en analysant l'état de méthylation du promoteur du gène *RELN* chez 13 patients avec ELT et 3 témoins sains, Kobow et al. ont constaté une augmentation significative du niveau de méthylation de ce promoteur chez les cas par rapport aux témoins ( $p=0,0249$ ) [47]. Par ailleurs, des études sur les mécanismes de régulation de la Reelin chez l'Homme ont également été réalisées dans le cadre de la schizophrénie, révélant une réduction significative des niveaux d'ARN messager par hyperméthylation du promoteur du gène *RELN* [48]. Nous évoquons donc la possibilité que des mécanismes épigénétiques tels que la méthylation de l'ADN et/ou la désacétylation des histones, pourraient être impliqués dans le phénotype de cette famille, aboutissant à une répression transcriptionnelle, réduisant le gène au silence [49]. Il serait donc intéressant d'étudier le niveau de méthylation du promoteur du gène *RELN* afin de confirmer cette hypothèse, et d'adapter le traitement le cas échéant. En effet, l'impact des altérations épigénétiques sur le développement de maladies neurologiques a suscité l'élaboration de nouvelles cibles thérapeutiques et a abouti au développement d'inhibiteurs des DNMTs et des histones désacétylases (HDACs). Ces agents sont destinés à inverser le silençage épigénétique pathologique, favorisant ainsi la réactivation des gènes et leur expression [50]. C'est ainsi que l'influence du Valproate de sodium® sur les processus épigénétiques fut découverte en 2001 par Phiel et al., qui ont démontré que cet antiépileptique agissait comme inhibiteur des HDACs et inducteur de la déméthylation de l'ADN [51]. De plus, il est actuellement clairement établi que cet antiépileptique diminue la méthylation du promoteur du gène *RELN* in vitro [52].

### Limites de l'étude

Dans cette étude, nous n'avons pas pu identifier de façon formelle la ou les mutations causales des phénotypes épileptique et schizophrénique pour plusieurs raisons. D'abord, pour des

raisons financières, les éléments génomiques fonctionnels autres que les gènes codant les protéines n'ont pas été explorés. Ainsi, le dosage sérique de la protéine Reelin et l'étude du niveau de méthylation du promoteur du gène *RELN* constituent des éléments clés pour l'interprétation des résultats de cette étude. D'autre part, nos hypothèses sur les modes de transmission de l'épilepsie et de la schizophrénie pourraient être incorrectes et les individus affectés de cette famille pourraient souffrir de désordres génétiques distincts.

## Conclusion

Notre étude représente le premier travail de recherche ayant tenté d'explorer l'association entre le polymorphisme du gène *RELN* rs55689103, l'épilepsie du lobe temporal et la schizophrénie dans une famille algérienne. Le polymorphisme rs55689103 pourrait être impliqué dans le phénotype schizophrénique dans cette famille, mais pas dans le phénotype épileptique. Le dosage sérique de la protéine Reelin ainsi que l'étude du niveau de méthylation du promoteur du gène *RELN* constituent des éléments clés pour l'interprétation des résultats de cette étude. En perspectives, nous envisageons de poursuivre ce travail pour explorer les éléments génomiques fonctionnels autres que les polymorphismes. Nous projetons également de dépister le polymorphisme rs55689103 du gène *RELN* dans une population d'épileptiques, de schizophrènes, et de sujets témoins d'origine Algérienne, afin de déterminer sa fréquence allélique dans notre population.

## Conflits d'intérêts

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

## Références bibliographiques

- [1] Ross, C.A., R.L. Margolis, S.A. Reading, M. Pletnikov, and J.T. Coyle, Neurobiology of schizophrenia. *Neuron*, 2006. 52(1): p. 139-53.
- [2] Cardno, A.G. and Gottesman, II, Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet*, 2000. 97(1): p. 12-7.
- [3] Guermouche, A.D., M. Taleb, L. Blecha, and A. Benyamina, Genetics and psychotic disorders: A fresh look at consanguinity. *Eur J Med Genet*, 2015.
- [4] Farrell, M.S., T. Werge, P. Sklar, M.J. Owen, R.A. Ophoff, M.C. O'Donovan, A. Corvin, S. Cichon, and P.F. Sullivan, Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 2015. 20(5): p. 555-62.
- [5] Fruchter, E., O. Kapara, A. Reichenberg, R. Yoffe, O. Fono-Yativ, Y. Kreiss, M. Davidson, and M. Weiser, Longitudinal association between epilepsy and schizophrenia: a population-based study. *Epilepsy Behav*, 2014. 31: p. 291-4.
- [6] Mendez, M.F., R. Grau, R.C. Doss, and J.L. Taylor, Schizophrenia in epilepsy: seizure and psychosis variables. *Neurology*, 1993. 43(6): p. 1073-7.
- [7] Lindsay, J., C. Ounsted, and P. Richards, Long-term outcome in children with temporal lobe seizures. III: Psychiatric aspects in childhood and adult life. *Dev Med Child Neurol*, 1979. 21(5): p. 630-6.
- [8] Chang, Y.T., P.C. Chen, I.J. Tsai, F.C. Sung, Z.N. Chin, H.T. Kuo, C.H. Tsai, and I.C. Chou, Bidirectional relation between schizophrenia and epilepsy: a population-based retrospective cohort study. *Epilepsia*, 2011. 52(11): p. 2036-42.
- [9] Kesim, Y.F., G.A. Uzun, E. Yucesan, F.N. Tuncer, O. Ozdemir, N. Bebek, U. Ozbek, S.A. Iseri, and B. Baykan, Screening LGI1 in a cohort of 26 lateral temporal lobe epilepsy patients with auditory aura from Turkey detects a novel de novo mutation. *Epilepsy Res*, 2016. 120: p. 73-8.
- [10] Rodenas-Cuadrado, P., N. Pietrafusa, T. Francavilla, A. La Neve, P. Striano, and S.C. Vemes, Characterisation of CASPR2 deficiency disorder - a syndrome involving autism, epilepsy and language impairment. *BMC Med Genet*, 2016. 17(1): p. 8.
- [11] Del Rio, J.A., B. Heimrich, V. Borrell, E. Forster, A. Drakew, S. Alcántara, K. Nakajima, T. Miyata, M. Ogawa, K. Mikoshiba, P. Derer, M. Frotscher, and E. Soriano, A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature*, 1997. 385(6611): p. 70-4.
- [12] Pesold, C., F. Impagnatiello, M.G. Pisu, D.P. Uzunov, E. Costa, A. Guidotti, and H.J. Caruncho, Reelin is preferentially expressed in neurons synthesizing gamma-aminobutyric acid in cortex and hippocampus of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(6): p. 3221-6.
- [13] Teixeira, C.M., M.M. Kron, N. Masachs, H. Zhang, D.C. Lagace, A. Martinez, I. Reillo, X. Duan, C. Bosch, L. Pujadas, L. Brunso, H. Song, A.J. Eisch, V. Borrell, B.W. Howell, J.M. Parent, and E. Soriano, Cell-autonomous inactivation of the reelin pathway impairs adult neurogenesis in the hippocampus. *J Neurosci*, 2012. 32(35): p. 12051-65.
- [14] D'Arcangelo, G., G.G. Miao, S.C. Chen, H.D. Soares, J.I. Morgan, and T. Curran, A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler. *Nature*, 1995. 374(6524): p. 719-23.
- [15] Willemsen, M.H., L.E. Vissers, and M. Willemsen, Mutations in DYNC1H1 cause severe intellectual disability with neuronal migration defects. *J Med Genet*, 2012. 49: p. 179-183.
- [16] Imai, H., H. Shoji, M. Ogata, Y. Kagawa, Y. Owada, T. Miyakawa, K. Sakimura, T. Terashima, and Y. Katsuyama, Dorsal Forebrain-Specific Deficiency of Reelin-Dab1 Signal Causes Behavioral Abnormalities Related to Psychiatric Disorders. *Cereb Cortex*, 2016.
- [17] Liu, J.S., Molecular genetics of neuronal migration disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2011. 11(2): p. 171-8.
- [18] Preisig, M., B.T. Fenton, M.L. Matthey, A. Berny, and F. Ferrero, Diagnostic interview for genetic studies (DIGS): inter-rater and test-retest reliability of the French version. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 1999. 249(4): p. 174-9.
- [19] Alkhamees, H.A., C.E. Selai, S.D. Shorvon, and A.M. Kanner, The use of the NDDI-E in Arabic to identify symptoms of depression of moderate or greater severity in people with epilepsy. *Epilepsy Behav*, 2014. 32: p. 55-8.
- [20] Hoppeler-Lebel, A., C. Celati, G. Bellet, M.M. Mogensen, L. Klein-Hitpass, M. Bornens, and A.M. Tassin, Centrosomal CAP350 protein stabilises microtubules associated with the Golgi complex. *J Cell Sci*, 2007. 120(Pt 18): p. 3299-308.
- [21] Stacey, M., H.H. Lin, K.L. Hilyard, S. Gordon, and A.J. McKnight, Human epidermal growth factor (EGF) module-containing mucin-like hormone receptor 3 is a new member of the EGF-TM7 family that recognizes a ligand on human macrophages and activated neutrophils. *J Biol Chem*, 2001. 276(22): p. 18863-70.
- [22] Dazzo, E., M. Fanciulli, E. Serioli, G. Minervini, P. Pulitano, S. Binelli, C. Di Bonaventura, C. Luisi, E. Pasini, S. Striano, P. Striano, G. Coppola, A. Chiavegato, S. Radovic, A. Spadotto, S. Uzzau, A. La Neve, A.T. Giallonardo, O. Mecarelli, S.C. Tosatto, R. Ottman, R. Michelucci, and C. Nobile,

Heterozygous reelin mutations cause autosomal-dominant lateral temporal epilepsy. *Am J Hum Genet*, 2015. 96(6): p. 992-1000.

[23] Chai, X., S. Zhao, L. Fan, W. Zhang, X. Lu, H. Shao, S. Wang, L. Song, A.V. Failla, B. Zobiak, H.G. Mannherz, and M. Frotscher, Reelin and cofilin cooperate during the migration of cortical neurons: A quantitative morphological analysis. *Development*, 2016.

[24] Manoharan, M., S.A. Muhammad, and R. Sowdhamini, Sequence Analysis and Evolutionary Studies of Reelin Proteins. *Bioinform Biol Insights*, 2015. 9: p. 187-93.

[25] Goffinet, A.M., Events governing organization of postmigratory neurons: studies on brain development in normal and reeler mice. *Brain Res*, 1984. 319(3): p. 261-96.

[26] Goffinet, A.M., The reeler gene: a clue to brain development and evolution. *Int J Dev Biol*, 1992. 36(1): p. 101-7.

[27] Negrón-Oyarzo, I., A. Lara-Vasquez, I. Palacios-García, P. Fuentealba, and F. Aboitiz, Schizophrenia and reelin: a model based on prenatal stress to study epigenetics, brain development and behavior. *Biol Res*, 2016. 49(1): p. 16.

[28] Fatemi, S.H., Reelin glycoprotein: structure, biology and roles in health and disease. *Mol Psychiatry*, 2005. 10(3): p. 251-7.

[29] Folsom, T.D. and S.H. Fatemi, The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology*, 2013. 68: p. 122-35.

[30] Pantazopoulos, H. and S. Berretta, In Sickness and in Health: Perineuronal Nets and Synaptic Plasticity in Psychiatric Disorders. *Neural Plast*, 2016. 2016: p. 9847696.

[31] Feher, A., A. Juhasz, M. Pakaski, J. Kalman, and Z. Janka, Genetic analysis of the RELN gene: Gender specific association with Alzheimer's disease. *Psychiatry Res*, 2015. 230(2): p. 716-8.

[32] Fatemi, S.H., A.V. Snow, J.M. Stary, M. Araghi-Niknam, T.J. Reutiman, S. Lee, A.I. Brooks, and D.A. Pearce, Reelin signaling is impaired in autism. *Biol Psychiatry*, 2005. 57(7): p. 777-87.

[33] Guidotti, A., J. Auta, J.M. Davis, V. Di-Giorgi-Gerevini, Y. Dwivedi, D.R. Grayson, F. Impagnatiello, G. Pandey, C. Pesold, R. Sharma, D. Uzunov, and E. Costa, Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry*, 2000. 57(11): p. 1061-9.

[34] Impagnatiello, F., A.R. Guidotti, C. Pesold, Y. Dwivedi, H. Caruncho, M.G. Pisu, D.P. Uzunov, N.R. Smalheiser, J.M. Davis, G.N. Pandey, G.D. Papavas, P. Tuetting, R.P. Sharma, and E. Costa, A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(26): p. 15718-23.

[35] Carboni, G., P. Tuetting, L. Tremolizzo, I. Sugaya, J. Davis, E. Costa, and A. Guidotti, Enhanced dizocilpine efficacy in heterozygous reeler mice relates to GABA turnover downregulation. *Neuropharmacology*, 2004. 46(8): p. 1070-81.

[36] Tuetting, P., E. Costa, Y. Dwivedi, A. Guidotti, F. Impagnatiello, R. Manev, and C. Pesold, The phenotypic characteristics of heterozygous reeler mouse. *Neuroreport*, 1999. 10(6): p. 1329-34.

[37] Owens, E.M., P. Bachman, D.C. Glahn, and C.E. Bearden, Electrophysiological Endophenotypes for Schizophrenia. *Harv Rev Psychiatry*, 2016. 24(2): p. 129-47.

[38] Zheutlin, A.B., R.W. Viehman, R. Fortgang, J. Borg, D.J. Smith, J. Suvisaari, S. Therman, C.M. Hultman, and T.D. Cannon, Cognitive endophenotypes inform genome-wide expression profiling in schizophrenia. *Neuropsychology*, 2016. 30(1): p. 40-52.

[39] Wedenoja, J., A. Loukola, A. Tuulio-Henriksson, T. Paunio, J. Ekelund, K. Silander, T. Varilo, K. Heikkilä, J. Suvisaari, T. Partonen, J. Lonnqvist, and L. Peltonen, Replication of linkage on chromosome 7q22 and association of the regional Reelin gene with working memory in schizophrenia families. *Mol Psychiatry*, 2008. 13(7): p. 673-84.

[40] Gregorio, S.P., P.C. Sallet, K.A. Do, E. Lin, W.F. Gattaz, and E. Dias-Neto, Polymorphisms in genes involved in neurodevelopment may be associated with altered brain morphology in schizophrenia: preliminary evidence. *Psychiatry Res*, 2009. 165(1-2): p. 1-9.

[41] Shifman, S., M. Johannesson, M. Bronstein, S.X. Chen, D.A. Collier, N.J. Craddock, K.S. Kendler, T. Li, M. O'Donovan, F.A. O'Neill, M.J. Owen, D. Walsh, D.R. Weinberger, C. Sun, J. Flint, and A. Darvasi, Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet*, 2008. 4(2): p. e28.

[42] Kuang, W.J., R.F. Sun, Y.S. Zhu, and S.B. Li, A new single-nucleotide mutation (rs362719) of the reelin (RELN) gene associated with schizophrenia in female Chinese Han. *Genet Mol Res*, 2011. 10(3): p. 1650-8.

[43] Roglio, I., R. Bianchi, S. Gotti, S. Scurati, S. Giatti, M. Pesaresi, D. Caruso, G.C. Panzica, and R.C. Melcangi, Neuroprotective effects of dihydroprogesterone and progesterone in an experimental model of nerve crush injury. *Neuroscience*, 2008. 155(3): p. 673-85.

[44] Hong, S.E., Y.Y. Shugart, D.T. Huang, S.A. Shahwan, P.E. Grant, J.O. Hourihane, N.D. Martin, and C.A. Walsh, Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nat Genet*, 2000. 26(1): p. 93-6.

[45] Chang, B.S., F. Duzcan, S. Kim, M. Cinbis, A. Aggarwal, K.A. Apse, O. Ozdel, M. Atmaca, S. Zencir, H. Bagci, and C.A. Walsh, The role of RELN in lissencephaly and neuropsychiatric disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2007. 144B(1): p. 58-63.

[46] Zaki, M., M. Shehab, A.A. El-Aleem, G. Abdel-Salam, H.B. Koeller, Y. Ilkin, M.E. Ross, W.B. Dobyns, and J.G. Gleeson, Identification of a novel recessive RELN mutation using a homozygous balanced reciprocal translocation. *Am J Med Genet A*, 2007. 143A(9): p. 939-44.

[47] Kobow, K., I. Jeske, M. Hildebrandt, J. Hauke, E. Hahnen, R. Buslei, M. Buchfelder, D. Weigel, H. Stefan, B. Kasper, E. Pauli, and I. Blumcke, Increased reelin promoter methylation is associated with granule cell dispersion in human temporal lobe epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009. 68(4): p. 356-64.

[48] Grayson, D.R., X. Jia, Y. Chen, R.P. Sharma, C.P. Mitchell, A. Guidotti, and E. Costa, Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. 102(26): p. 9341-6.

[49] Zhou, Q., E.A. Obana, K.L. Radomski, G. Sukumar, C. Wynder, C.L. Dalgard, and M.L. Doughty, Inhibition of the histone demethylase Kdm5b promotes neurogenesis and derepresses Reln (reelin) in neural stem cells from the adult subventricular zone of mice. *Mol Biol Cell*, 2016. 27(4): p. 627-39.

[50] Hellebrekers, D.M., A.W. Griffioen, and M. van Engeland, Dual targeting of epigenetic therapy in cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2007. 1775(1): p. 76-91.

[51] Phiel, C.J., F. Zhang, E.Y. Huang, M.G. Guenther, M.A. Lazar, and P.S. Klein, Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem*, 2001. 276(39): p. 36734-41.

[52] Grayson, D.R., Y. Chen, E. Costa, E. Dong, A. Guidotti, M. Kundakovic, and R.P. Sharma, The human reelin gene: transcription factors (+), repressors (-) and the methylation switch (+/-) in schizophrenia. *Pharmacol Ther*, 2006. 111(1): p. 272-86.