

REPUBLIQUE ALGRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

-جامعة أبو بكر بلقايد-تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID –TLEMSEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences biologiques

Option

« *Biologie Moléculaire et Cellulaire* »

Présenté par :

Bendiab Ahlem

Ghorfati Nadia

Thème :

Le polymorphisme du gène du canal calcique de type L est-il associé à la schizophrénie dans la wilaya de Tlemcen ?

Soutenu le, 29/ 06/2025 devant le jury composé de :

Présidente : Pr Dali Youcef Majda

Examinatrice : Dr Benmansour Meriem

Encadrante : Pr Medjati Nouria

Invitée : Dr Chebieb Ikram

Année universitaire : 2024/2025



Dédicace

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, pour Ses bienfaits, Sa grâce et Sa guidance, sans lesquels je n'aurais jamais atteint ce que je suis aujourd'hui.

À mes chers parents,

Vous êtes la source de l'amour, le berceau de la tendresse, et la raison de mon existence après Dieu.

Vous m'avez appris la signification du sacrifice, et vous m'avez élevé(e) sur des valeurs et des principes solides.

Aucune parole ne saurait exprimer toute ma gratitude envers vos grands cœurs, et une vie entière ne suffirait pas à vous rendre ce que vous m'avez donné.

Je prie Dieu de vous préserver, de prolonger vos jours, et de me permettre de toujours bénéficier de votre affection et de votre satisfaction.

À mes chères sœurs,

Vous êtes la lumière qui éclaire mon chemin, le soutien dont je suis fier/fière dans ma vie.

Votre amour habite mon cœur, et votre présence est une bénédiction pour laquelle je rends grâce chaque jour.

Recevez tout mon amour et ma gratitude,

Vous êtes et resterez toujours dans mon cœur, mes pensées et mes prières.

À mon amie, Guers Fatima Zohra,

Parfois, certains cœurs arrivent au moment parfait, comme un cadeau tombé du ciel.

Je t'ai connue par hasard, mais ta présence n'a jamais été un simple passage.

Tu as été une sœur, un soutien, un sourire sincère et une main tendue dans les moments difficiles.

Tu m'as soutenue sans même que je ne le demande, et tu es restée à mes côtés avec sincérité et amour.

Merci pour ta présence, pour ton âme pure, et pour ton grand cœur qui ne connaît que le don.

Je souhaite que notre amitié demeure florissante, peu importe le temps qui passe.

À ma collègue, Bendiab Ahlem,

Préparer ce mémoire a été une expérience bien plus belle grâce à ta présence à mes côtés.

Nous avons partagé fatigue, stress, rires, ainsi que les petites et grandes réussites.

Tu as toujours été un soutien et une voix apaisante dans les moments d'anxiété.

Merci pour ta belle âme, ta loyauté, et tous ces moments inoubliables.

Que Dieu protège notre amitié et te guide vers la réussite à chaque étape de ta vie.

"J'adresse mes plus sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce mémoire, par leur soutien, leurs conseils ou leurs encouragements. À vous tous, ma gratitude et mon estime."

Ghorfati Nadia



Dédicace

Je commence par rendre grâce à DIEU, pour m'avoir donné le courage et la volonté de Poursuivre mes études, et arriver à ce stade.

A ma mère et mon père,

Qui m'a toujours soutenu, guidé et aimé sans condition. Votre foi en moi a été ma plus grande force. Merci pour votre patience, vos encouragements et vos prières.

Je tiens à exprimer les plus belles expressions de gratitude et de reconnaissance à ma merveilleuse famille qui s'est tenue à mes côtés durant toutes ces années passées. Si je dis « merci », cela ne suffira jamais à exprimer ma gratitude envers vous.

Chaque situation me confirme que ma famille est mon armée, et que la famille est l'aile qui Me protège, l'ombre qui m'accompagne et la terre ferme sur laquelle je me tiens. Ô Allah, je te demande de garder ma famille avec moi jusqu'au dernier jour de ma vie.

A mes adorables frères etsœurs,

Merci pour votre complicité, votre présence rassurante et vos mots réconfortants dans les moments difficiles. Vous êtes ma fierté et mon inspiration.

A ma sœur BENDIAB Hanane,

Merci d'avoir été à mes côtés dans les moments de maladie, de difficulté et d'épreuves. Ton soutien, ta présence et tes encouragements m'ont donné la force d'avancer quand tout semblait incertain.

Merci pour tous ces instants partagés : les fous rires, les larmes, les silences rassurants, et cette tendresse discrète qui a toujours su me réconforter.

Tu as su, sans jamais faillir, me pousser à continuer, à croire en moi, et à ne jamais abandonner. Je remercie Dieu pour le cadeau qu'est ton présence dans ma vie.

Je te souhaite, du fond du cœur, tout le succès, le bonheur, la paix et la lumière que tu mérites.

A ma collègue GHORFATI Nadia,

Ta présence discrète mais précieuse, ton soutien fidèle dans les épreuves comme dans les réussites, et ta générosité de cœur ont profondément marqué ce chemin. Tu as su être une lumière dans mes moments d'incertitude, et une force dans mes moments de doute. Merci pour ta loyauté, ton écoute, et ton amitié sincère. Je remercie Dieu pour le cadeau qu'est ton amitié dans ma vie.

Bendiab Ahlem

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué et nous ont soutenus dans l'accomplissement de ce travail.

*Nous exprimons notre profonde gratitude au professeur **HAREK Yahia**, pour nous avoir accueillis dans le laboratoire de Chimie Analytique et Electrochimie, durant la période de préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions tout particulièrement **Mme MEDJATI-DENNOUNI Nouria**, notre encadrante, pour nous avoir proposé ce sujet de recherche, ainsi que pour les efforts, les conseils avisés et l'encadrement précieux qu'elle nous a prodigués tout au long de ce projet.*

Nous vous exprimons notre profonde gratitude pour avoir dirigé ce mémoire, et pour la qualité de votre encadrement. Votre soutien, votre expertise et vos qualités humaines remarquables ont été déterminants dans notre parcours.

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent également à **Mme DALI YUCEF Majda**, pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant le jury de ce mémoire, ses précieux conseils ainsi que pour son implication totale dans notre formation.*

*Notre gratitude va également à **Mme BENMANSOUR Meriem**, pour avoir accepté d'examiner ce travail, et de l'enrichir de ces précieuses remarques ainsi que pour l'exemple de rigueur qu'elle a été pour nous durant notre parcours.*

*Sans oublier **Dr Chebieb Ikram**, que nous remercions chaleureusement pour son soutien, ses conseils avisés et sa bienveillance.*

Résumé :

La schizophrénie (SCZ) est un trouble psychiatrique sévère et multifactoriel, dont l'étiologie implique une interaction complexe entre des facteurs génétiques, neurobiologiques et environnementaux. Le polymorphisme rs1006737 (G>A), situé dans une région intronique du gène CACNA1C, qui code la sous-unité $\alpha 1C$ du canal calcique voltage-dépendant de type L (Cav1.2), a été associé à divers troubles psychiatriques notamment la SCZ, en influençant l'expression du gène et l'activité des circuits neuronaux liés aux émotions et à la mémoire.

Cette étude cas-témoins a porté sur vingt participants recrutés au CHU de Tlemcen, dont dix patients atteints de schizophrénie et dix témoins sains. L'ADN a été extrait du sang périphérique par la méthode de salting out, puis sa pureté, sa concentration et sa qualité ont été vérifiées. Le génotypage du polymorphisme rs10036737 dans le gène CACNA1c a été réalisé par séquençage d'amplicon (AMPseq) suivi d'une analyse bio-informatique pour identifier les variantes génétiques.

Nous avons étudié la fréquence des allèles et des génotypes de ce SNP. Aucune association statistiquement significative n'a été observée entre ce polymorphisme et la SCZ. Toutefois, l'absence du génotype AA chez les patients, et sa présence uniquement chez les témoins (10 %), pourrait indiquer un rôle protecteur potentiel, suggérant l'intérêt de recherches sur des échantillons plus larges ou sur des individus de la même famille.

Mots clés : schizophrénie, rs1006737, CACNA1C, amplicon.

المخلص :

الفصام هو اضطراب نفسي شديد ومتعدد العوامل، تتضمن مسبباته تفاعلاً معقداً بين العوامل الوراثية والعصبية الحيوية والبيئية. تعدد الأشكال الجينية rs1006737 (G>A)، الموجود في منطقة داخلية من جين CACNA1C، قد ارتبط بمختلف الاضطرابات النفسية ومنها الفصام، مما يؤثر على التعبير الجيني ونشاط الدوائر العصبية المتعلقة بالعواطف والذاكرة. في دراستنا الحالة-الشاهدة من مستشفى جامعة تلمسان، ركزنا على عشرين مشاركاً، بما في ذلك عشرة مرضى بالفصام وعشرة ضوابط أصحاء. تم استخراج الحمض النووي من الدم المحيطي باستخدام طريقة التلميح، ثم تم التحقق من نقائه وتركيزه وجودته. تم إجراء تحديد النمط الجيني للبوليمورفزم rs10036737 في جين CACNA1c عن طريق تسلسل الأمبليكون (AMPseq)، تلاه تحليل المعلوماتية الحيوية لتحديد المتغيرات الجينية.

درسنا تردد الأليلات والنمط الجيني للبوليمورفزم rs1006737. لم يُلاحظ أي ارتباط ذو دلالة إحصائية بين هذا التعدد الشكلي والفصام. ومع ذلك، فإن غياب النمط الجيني AA في المرضى، ووجوده فقط في الضوابط (10%)، قد يشير إلى دور وقائي محتمل، مما يستدعي الحاجة إلى أبحاث على عينات أكبر.

Abstract:

Schizophrenia (SCZ) is a severe and multifactorial psychiatric disorder, whose etiology involves a complex interaction between genetic, neurobiological, and environmental factors. The rs1006737 (G>A) polymorphism, located in an intronic region of the CACNA1C gene, which encodes the $\alpha 1C$ subunit of the voltage-gated L-type calcium channel (Cav1.2), has been associated with various psychiatric disorders, particularly SCZ, by influencing gene expression and the activity of neural circuits related to emotions and memory.

This case-control study involved twenty participants recruited at the Tlemcen University Hospital, including ten patients with SCZ and ten healthy controls. DNA was extracted from peripheral blood using the salting out method, and then its purity, concentration, and quality were verified. The genotyping of the rs10036737 polymorphism in the CACNA1c gene was performed using amplicon sequencing (AMPseq), followed by bioinformatics analysis to identify genetic variants. The frequency of alleles and genotypes of the rs1006737 polymorphism was calculated. No statistically significant association was observed between this SNP and SCZ. However, the absence of the AA genotype in patients, and its presence only in controls (10%), could indicate a potential protective role, suggesting the need for research on larger samples or on individuals from the same family.

Keywords : schizophrenia, rs1006737, CACNA1C, amplicon.

Liste des abréviations :

ADGRB1 : Récepteur d'adhésion couplé aux protéines G B1

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMPseq : Séquençage d'amplicons

ARN : Acide Ribonucléique

CACNA1c : gène codant pour la sous unité alpha 1c du canal calcique voltage – dépendant

CaM : Calmoduline

Cav1.1 : Sous unité alpha 1S du canal calcique voltage dépendant de type L

Cav1.2 : Sous unité alpha 1C du canal calcique voltage dépendant de type L

Cav1.3 : Sous unité alpha 1D du canal calcique voltage dépendant de type L

Cav1.4 : sous unité alpha 1F du canal calcique voltage dépendant de type L

CCVD : Canaux calcique voltage – dépendant

CDI : Inactivation Dépendante de calcium

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

COMT : Catéchol -O- méthyltransférase

CREB : Protéines de liaison à l'élément de réponse à l'AMPc

dNTPs : Désoxyribonucléotides triphosphate

DSM-IV : Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux 4 ème édition

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra – acétique

EOS : Schizophrénie à début Précoce

eQTL : Locus de caractère quantitatif d'expression

GABAergique : Acide gamma- aminobutyrique

GAD67 : Glutamate décarboxylase 67

GWAS : Étude d'association pangénomique

LTCC : Canaux Calciques de type L

LTD : Dépression à long terme

LTP : Potentialisation à long terme

NaCl : Chlorure de sodium

NGS : Séquençage de nouvelle Génération

NMDA : N – méthyl -D- aspartate

NRG1 : Neuréguline1

NRXN1 :Neureuxine1

PacBio : Pacific Biosciences

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

SATD1A : Domaine SET contenant 1A

SCZ : Schizophrénie

SNP : Polymorphisme d'un seul Nucléotide

SOX2 : Facteur de transcription sox2

TE : Tampon Tris- EDTA

Tris-Hcl : Tris- hydroxyméthyl

TSNARE1 : Domaine T- SNARE contenant 1

VEOS : Schizophrénie à début très Précoce

YAP1 : Protéine associé à Yes 1

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Caractéristiques générales de la population d'étude. 11
Tableau 2 : Distribution de fréquence allélique et génotypique du gène CACNA1C. 13

Table des matières

Dédicaces.....	i
Remerciement.....	ii
Résumés.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Liste des tableaux.....	v
1.Introduction générale:	1
2. Matériel et méthodes :	
2. Matériel et méthodes :	8
2.1. Population d'étude :	8
2.2. Échantillonnage :	8
2.3. Extraction d'ADN :	8
2.4. Génotypage :	8
3. Résultats :	11
3.1. Les caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude :	11
3.2. La distribution de fréquences génotypiques du gène CACNA1C :	12
4. Discussion :	14
Conclusion et perspectives :	18

Introduction

générale

1. Introduction générale :

Les troubles mentaux sont des affections complexes résultant principalement d'un dysfonctionnement cérébral, affectant divers aspects de la vie d'un individu, tels que l'humeur, le comportement et la communication. Ils peuvent apparaître à tout âge et s'accompagnent souvent de symptômes psychologiques et physiques, ce qui complique à la fois le diagnostic et le traitement. Chaque personne étant confrontée à des troubles spécifiques, une prise en charge personnalisée est nécessaire, et un traitement efficace repose généralement sur une approche collaborative entre les professionnels de la santé **(Rodrigues, 2022)**. Parmi les exemples les plus fréquents figurent les troubles anxieux, la dépression, les troubles bipolaires et la schizophrénie (SCZ), qui peuvent perturber gravement le fonctionnement quotidien **(Tariq, 2022)**.

La schizophrénie est une pathologie psychotique chronique qui perturbe la capacité d'un individu à penser de manière claire et à conserver son équilibre émotionnel, influençant ses pensées, ses émotions et son comportement, ce qui complique les interactions avec autrui et la création de relations stables **(Knox, 2023)**.

La schizophrénie présente une prévalence de 1 % au sein de la population mondiale. L'âge auquel elle se manifeste peut grandement varier et ceci même entre les femmes et les hommes **(Andlin-Sobocki et al, 2005)**. On observe généralement une tranche d'âge de 21 à 25 ans chez les hommes et de 25 à 30 ans chez les femmes **(Zhan et al, 2023)**. La schizophrénie précoce (EOS) est caractérisée par son apparition avant 18 ans, tandis que la schizophrénie très précoce (VEOS) survient avant l'âge de 13 ans. Des études montrent qu'environ 8 % des cas de schizophrénie sont identifiés avant l'âge de 18 ans, avec une apparition fréquente des symptômes durant l'enfance ou l'adolescence **(Corell et al, 2024)**.

Les symptômes associés à ce trouble se divisent en trois catégories principales : positifs, négatifs et cognitifs. Les symptômes positifs incluent des manifestations comme les hallucinations (principalement auditives), où l'individu perçoit des sons ou des voix inexistantes **(Khanna, 2024)**, ainsi que des illusions, telles que des croyances erronées comme la paranoïa ou la grandiosité. **(Maruta et al, 2023)**. On y trouve également la pensée désorganisée, qui se traduit par une incohérence dans le discours et la pensée, rendant la communication difficile **(Striebel, 2024)**. Les symptômes négatifs représentent une perte ou une diminution des capacités normales, comme le retrait émotionnel, où l'individu présente peu d'expressions émotionnelles et un manque d'engagement social **(Zheng et al, 2023)**, l'apathie, marquée par un manque de motivation pour des activités autrefois appréciées **(Khanna, 2024)**.

et les déficits cognitifs, notamment des difficultés d'attention, de mémoire et de fonction exécutive (**Lemonnier, 2001**). Enfin, les symptômes cognitifs, souvent négligés, incluent les troubles de l'attention, de la concentration et de la mémoire à court terme (**Khanna, 2024**). Ce qui perturbe l'apprentissage et les interactions sociales (**Striebel, 2024**). Ces symptômes ont un impact majeur sur la vie quotidienne et la qualité de vie des individus concernés.

L'étiologie de cette pathologie n'est pas parfaitement élucidée. Elle est perçue comme un trouble neurodéveloppemental qui engage des interactions entre divers facteurs génétiques, neurobiologiques, épigénétiques et environnementaux (**Rawani et al, 2024**). Elle implique une altération de plusieurs systèmes de neurotransmission, notamment ceux de la dopamine, du glutamate et du GABA, chacun jouant un rôle distinct mais interconnecté. La dopamine, un neurotransmetteur clé dans la régulation de la motivation, du plaisir et des fonctions cognitives, est au centre de l'hypothèse dopaminergique. Cette dernière propose qu'une libération excessive de dopamine dans les régions sous-corticales, comme le striatum, soit responsable des symptômes positifs tels que les hallucinations et les idées délirantes, tandis qu'une activité réduite dans les régions corticales contribuerait aux troubles cognitifs (**Sigvard et al, 2023**) (**Zhang, 2024**).

Toutefois, cette approche ne suffit pas à expliquer l'ensemble des symptômes. Le glutamate, principal neurotransmetteur excitateur du cerveau, intervient via les récepteurs NMDA, dont l'hypofonction pourrait engendrer des symptômes positifs et négatifs, comme le montrent les effets de la kétamine, un antagoniste de ces récepteurs (**Swanton, 2020**) (**Kokkinou et al, 2020**).

De plus, un dysfonctionnement glutamatergique dans le striatum pourrait contribuer à la suractivation dopaminergique (**Silas et al, 2022**). Le GABA, principal neurotransmetteur inhibiteur, est essentiel à l'équilibre entre excitation et inhibition dans le cerveau. Dans la SCZ, les interneurons GABAergiques à parvalbumine sont altérés, entraînant un déséquilibre exciteur-inhibiteur, une hyperactivité de l'hippocampe et une stimulation excessive de la libération de dopamine dans le mésencéphale (**Uliana et al, 2024**) (**Liu et al, 2021**).

L'interaction complexe entre ces trois systèmes – la modulation de la dopamine par le glutamate, l'influence du glutamate sur le GABA, et la régulation du glutamate par le GABA – constitue un réseau dynamique dont le dérèglement contribue profondément à la physiopathologie de la schizophrénie (**Swanton, 2020**) (**Silas et al, 2022**) (**Liu et al, 2021**).

Les facteurs environnementaux influencent de manière significative le développement de la pathologie. Les principaux facteurs sont les complications prénatales et périnatales, telles que les infections maternelles et la malnutrition, qui peuvent affecter le développement du cerveau. Les traumatismes et le stress, en particulier pendant l'enfance, augmentent également le risque, tout comme les choix de mode de vie et la toxicomanie. Le statut socio-économique joue un rôle, les conditions socio-économiques inférieures étant liées à un stress accru et à un accès limité aux soins de santé. De plus, les influences culturelles et sociales peuvent influencer l'expression de la maladie, mettant en évidence l'interaction complexe entre les facteurs environnementaux et les prédispositions génétiques dans la schizophrénie (**Barraza et al, 2024**).

Cette interaction dynamique trouve une explication mécanistique dans les processus épigénétiques, qui traduisent l'impact de l'environnement sur l'expression génétique sans altérer la séquence de l'ADN. Des mécanismes tels que la méthylation de l'ADN, les modifications des histones et les ARN non codants, régulent l'expression des gènes impliqués dans la neurotransmission, le développement neurologique et les réponses immunitaires. Par exemple, des altérations des schémas de méthylation de l'ADN ont été associées à l'expression de gènes liés à la fonction immunitaire et neuronale (**Smigielski et al, 2020**) (**Tang et al, 2024**). De même, les modifications des protéines histones influencent la structure de la chromatine, modifiant l'accessibilité transcriptionnelle des gènes impliqués dans la pathologie schizophrénique (**Ganesh, 2022**). En outre, une expression différentielle de microARN a été observée, ce qui pourrait réguler l'expression génique associée aux symptômes de la maladie (**Smigielski et al, 2020**) (**Barraza et al, 2024**).

L'aspect hérédité suggère que les personnes ayant des antécédents familiaux de SCZ courent un risque plus élevé de développer eux-mêmes la maladie, soulignant l'importance de la prédisposition génétique dans l'étiologie de la SCZ (**Batra et al, 2024**). On estime ce risque à environ 80% chez les individus ayant des antécédents familiaux, et une concordance de près de 45% chez les jumeaux monozygotes.

Le fondement génétique de la maladie est polygénique, impliquant des variantes rares et nuisibles (héréditaires et de novo) qui amplifient considérablement le risque, ainsi que des variantes fréquentes à effets faibles à modérés.

Les suppressions en 22q11.2 figurent parmi les premières découvertes, tandis que les mutations du gène SETD1A sont impliquées dans la Schizophrénie parmi les variantes le plus

récemment identifiés. Walsh et ses collaborateurs ont démontré que les individus souffrant de schizophrénie présentent des variantes structurales moins fréquentes telles que des délétions et/ou des duplications d'un ou plusieurs gènes comparativement aux sujets témoins. L'analyse de vastes bases de données de séquençage de l'exome et du génome a permis d'identifier des variants rares codants qui présentent un risque important pour la schizophrénie (**Wahbah et al,2021**).

La schizophrénie est aussi associée à des variations génétiques spécifiques. Parmi les gènes identifiés, le COMT est impliqué dans le métabolisme de la dopamine, influençant l'efficacité des traitements antipsychotiques. La GAD67, responsable de la synthèse du GABA, est liée au contrôle inhibiteur neuronal (**Harris, 2023**). La Neureguline-1 (NRG1) joue un rôle crucial dans le développement neuronal et la signalisation synaptique (**Werner et al, 2021**). Des délétions du gène NRXN1 affectent la fonction synaptique, augmentant le risque de schizophrénie. De plus, des gènes tels que SOX2 et YAP1, associés à la ferroptose, sont essentiels dans les réponses immunitaires et les processus métaboliques liés à la schizophrénie (**Lian et al, 2024**). Enfin, des variantes proches des gènes TSNARE1 et ADGRB1 influencent l'expression des protéines synaptiques, suggérant leur implication dans la synaptogenèse et le risque de SCZ (**Wahbah et al, 2021**).

Le contexte d'une étude d'associations pangénomique (GWAS), a identifié le gène CACNA1C comme l'un des principaux gènes de risque impliqués dans divers troubles psychiatriques, tels que la schizophrénie (**Guo et al, 2023**). Le gène CACNA1C (Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 C) code pour la sous-unité alpha 1 du sous type CaV1.2 du canal calcique voltage -dépendant de type L (CCVD). Il est situé sur le bras court du chromosome 12 en position 12p13.33. Sa longueur est d'environ 150 kb (150 000 paires de bases), avec un total de 57exons et 56 introns (**CACNA1C calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C [Homo sapiens (human)]**).

Les canaux calciques de type L (LTCC) comprennent quatre sous-types principaux (Cav1.1, Cav1.2, Cav 1.3, Cav1.4). Ils sont fortement présents dans le cœur, le cerveau, en particulier au niveau des neurones, et ils sont exprimés dans la rétine, les muscles lisses vasculaires (**Herold et al, 2023**).

Au sein du cerveau, le canal calcique voltage dépendant de type L (CaV1.2 L) représente près de 80% de tous les canaux calciques de type L(LTCC) (**Sinnegger-Brauns et al, 2009**). C'est un complexe multi-protéique, Il est fortement exprimé dans l'hippocampe, le cortex cérébral et

le cervelet, et est fréquemment localisés au niveau des dendrites postsynaptiques. Sur le plan biophysique, ce canal se caractérise par une activation à des potentiels membranaires relativement élevés (d'où l'appellation « High Voltage-Activated ») et par une inactivation lente, ce qui lui vaut la dénomination « L » pour « Long-lasting » (**Li et al, 2022**).

Le Cav1.2.L caractérisé par sa structure oligomérique complexe, est composé d'une sous-unité $\alpha 1C$ porogène codée par le gène CACNA1c. Cette protéine transmembranaire comprend quatre domaines homologues (I à IV), chacun formé de six segments hélicoïdaux (S1-S6) qui traversent la membrane plasmique (**Bhat et al,2012**).

Les segments S4, qui contiennent de nombreux résidus chargés positivement, fonctionnent comme des détecteurs de tension, ce qui favorise l'ouverture du canal lorsqu'une dépolarisation membranaire se produit. De leur côté, les segments S5 et S6 constituent le pore du canal, garantissant la sélectivité ainsi que le passage des ions calcium (Ca^{2+}). Entre S5 et S6 se trouve la boucle (P), qui renferme des résidus clés offrant une sélectivité élevée pour les ions Ca^{2+} (**Zamponi et al,2015**). Les boucles intracellulaires qui dépendent des domaines (I-II, II-III, III-IV) sont cruciales pour le contrôle du canal, en particulier grâce à leur interaction avec des sous-unités auxiliaires telles que la sous-unité β (principalement $\beta 2$ et $\beta 4$ dans le cerveau), qui influence le trafic et la modulation du canal. Le segment C-terminal, extensible et prolongé, joue un rôle essentiel dans l'inactivation dépendante du calcium (CDI) par le biais de la fixation de la calmoduline (CaM), provoquant une inactivation rapide suite à une augmentation du calcium intracellulaire (**Shaw et al,2013**). Cav1.2.L fonctionne en complexe avec des sous-unités auxiliaires (β , $\alpha 2\delta$ « surtout $\alpha 2\delta-1$ dans les neurones », γ), qui régulent son expression membranaire, sa cinétique et sa localisation (**Wang et al, 2022**).

Les canaux Cav1.2 jouent un rôle clé dans l'activité neuronale. Lorsqu'une dépolarisation de la membrane se produit, ces canaux subissent un changement de conformation qui les ouvre, permettant ainsi l'entrée des ions calcium (Ca^{2+}) dans la cellule (**Berger et al, 2014**).

Le Ca^{2+} joue un rôle clé dans la libération des neurotransmetteurs en activant des protéines comme la synaptotagmine, facilitant ainsi la fusion des vésicules contenant des neurotransmetteurs avec la membrane présynaptique. Une fois fusionnées, les vésicules libèrent leurs neurotransmetteurs dans la fente synaptique, assurant ainsi la transmission du signal au neurone suivant (**Brini et al,2014**). Cet afflux de Ca^{2+} joue un rôle crucial dans plusieurs fonctions cellulaires, notamment la plasticité synaptique, qui permet aux synapses de se

renforcer ou de s'affaiblir au fil du temps, un processus clé pour l'apprentissage et la mémoire **(N'Gouemo, 2018)**.

En outre, le Ca^{2+} influence également l'expression génique en activant des voies de signalisation qui conduisent à la transcription de gènes spécifiques, permettant ainsi aux neurones de modifier leur structure et leur fonction en réponse à l'activité, ce qui est essentiel pour la plasticité et l'adaptation neuronales **(Soldatov, 2012)**. Lorsque le Ca^{2+} pénètre dans le neurone, il active des protéines kinases qui, par phosphorylation, modifient d'autres protéines, entraînant des changements durables dans la fente synaptique. Ce mécanisme est à l'origine de phénomènes tels que la potentialisation à long terme (LTP), où un afflux important de Ca^{2+} renforce la synapse, et la dépression à long terme (LTD), où des niveaux plus faibles de Ca^{2+} affaiblissent la synapse, affinant ainsi les circuits neuronaux **(N'Gouemo, 2018)**.

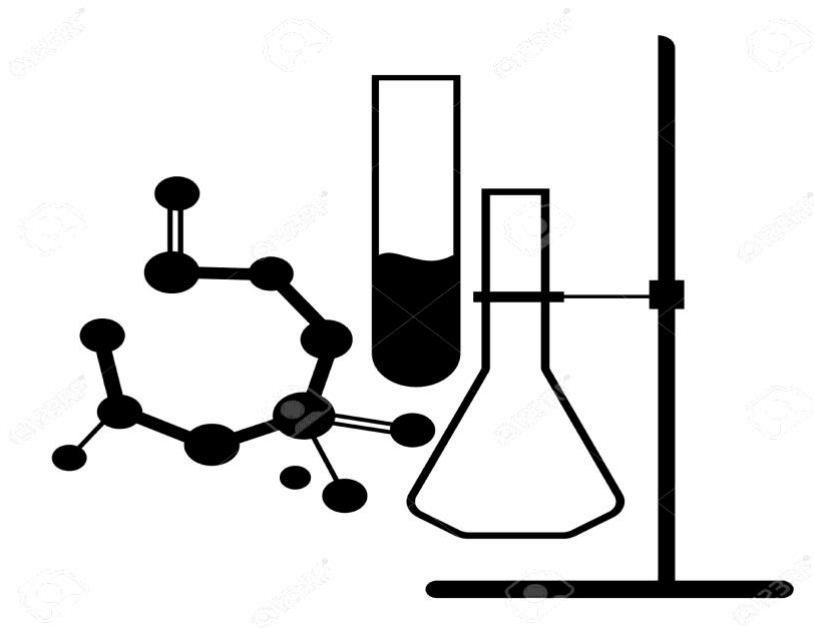
Le polymorphisme rs1006737, transition de G par A (G>A), est situé spécifiquement dans l'intron 3 du gène CACNA1C. Il est associé à un risque accru de SCZ et d'autres troubles neuropsychiatriques **(Falkai et al,2014) (Eckart et al, 2016)**.

Cette variation génétique non codante, mais potentiellement régulatrice, perturbe la liaison de facteurs de transcription tels que CREB, pouvant altérer l'expression ou l'épissage du gène **(Ripke et al, 2014)**. Il agit comme un locus de caractère quantitatif (eQTL) influençant la transcription de CACNA1C et la fonction des canaux calciques Cav1.2, essentiels à la plasticité synaptique et à la régulation de l'humeur **(Lancaste et al, 2016)**. Des études ont montré que l'allèle à risque (A) est associé soit à une diminution de l'expression de CACNA1C dans le gyrus temporal supérieur **(Eckart et al, 2016) (Moon et al,2018)**, ou à une augmentation de l'ARNm et des flux calciques dans des neurones issus de porteurs AA **(Yoshimizu et al,2015)**, reflétant une régulation complexe en fonction du contexte cellulaire. De plus, le SNP rs4765905, en fort déséquilibre de liaison avec rs1006737, influence la liaison de protéines nucléaires de manière allèle-dépendante, suggérant une perturbation de la signalisation calcique pouvant contribuer à la physiopathologie de la schizophrénie **(Eckart et al, 2016)(Moon et al,2018)**. En outre, des études GWAS confirment que ce variant altère la connectivité neuronale, renforçant son implication dans la susceptibilité à la maladie **(Wray et al,2018)**

Ainsi, une compréhension approfondie du rôle de CACNA1C dans les mécanismes neurobiologiques de la schizophrénie pourrait ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques ciblées.

Ce travail vise à explorer l'association entre le polymorphisme rs1006737 du gène CACNA1C et la susceptibilité à la schizophrénie en déterminant la distribution des fréquences génotypiques et alléliques, au niveau de la population de la wilaya de Tlemcen.

Matériel
Et
Méthodes



2. Matériel et méthodes :

2.1. Population d'étude :

L'étude de type cas-témoins a inclus un échantillon de vingt participants, dont dix patients diagnostiqués avec une schizophrénie, conformément aux critères diagnostiques du DSM-IV, établis par des psychiatres. Ces patients ont été recrutés au sein du service de psychiatrie du CHU de Tlemcen. Un groupe témoin composé de dix individus en bonne santé a été constitué, recruté parmi le personnel hospitalier et des volontaires de la communauté, tous ne présentant aucune antécédence de pathologies somatiques ou psychiatriques graves et chroniques. Les données sociodémographiques ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire administré lors d'entretiens en face-à-face.

2.2. Échantillonnage :

Du sang périphérique a été prélevé pour chaque participant dans des tubes contenant de l'éthylène diamine tétra acétate (EDTA) et conservé à -80 °C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2.3. Extraction d'ADN :

L'ADN a été isolé à partir des lymphocytes sanguins périphériques en utilisant la méthode de salting out (Miller et al,1988).

Cette méthode est appréciée pour sa simplicité, son efficacité et parce qu'elle évite l'utilisation de solvants organiques toxiques comme le phénol et le chloroforme, qui sont utilisés dans d'autres techniques d'extraction d'ADN (Miller et al,1988).

Un spectrophotomètre a été utilisé pour mesurer la pureté et la concentration de l'ADN extrait, et l'électrophorèse sur gel d'agarose a été utilisée pour déterminer sa qualité. Les échantillons ont été stockés à -80 °C jusqu'à leur analyse ultérieure.

2.4. Génotypage :

La méthode de séquençage d'amplicon a été utilisée pour déterminer le polymorphisme rs10036737 dans le gène CACNA1c.

Le séquençage d'amplicon, souvent appelé AMPseq, est une technique utilisée pour l'analyse génomique ciblée, qui consiste à amplifier par polymérase (PCR) des fragments spécifiques d'ADN, appelés amplicons. La longueur de ces amplicons varie généralement de 100 à 200 paires de bases, puis à les séquencer en parallèle via des technologies de séquençage de nouvelle

génération (NGS). Cette technique permet d'analyser précisément les variations génétiques (mutations, SNP, insertions, délétions) dans des régions génomiques spécifiques, avec la possibilité de traiter simultanément plusieurs centaines à plus de mille régions (**Han et al, 2023**).

Cette méthode repose sur plusieurs étapes essentielles comme suit :

- **La conception des amorces**, consiste en l'identification des régions d'intérêt du gène à amplifier. Les amorces sont ensuite soumises à une analyse *in silico* afin de garantir leur spécificité (**Grant, 2022**).
- **L'amplification par PCR** : se divise en deux phases distinctes. La première PCR permet d'amplifier l'ADN à l'aide d'un jeu d'amorces spécifiques pour générer l'amplicon. La seconde PCR vise à optimiser le rendement et la spécificité de l'amplicon en additionnant des barres code, souvent avec l'utilisation d'amorces additionnelles. (**Xianghua et al, 2018**).

Une fois l'amplification réalisée, la construction de la bibliothèque commence par la purification des amplicons pour éliminer les réactifs résiduels et contaminants (**Chan-Herur, 2023**).

- **La préparation de la librairie de séquençage**

Comprend la ligation d'adaptateurs et d'indices (barcodes) spécifiques à la plateforme de séquençage choisie, comme Illumina, ainsi que la normalisation des quantités d'ADN et le pooling des échantillons, si nécessaire (**Grant, 2022**).

Le séquençage (NGS), réalisé sur une plateforme de séquençage à haut débit (Illumina), permet de générer un volume conséquent de données brutes (**Schacksen et al, 2024**).

- **Analyse bio-informatique**

Est menée pour filtrer les données de séquençage, effectuer un alignement sur la séquence de référence du gène CACNA1C, identifier les variantes génétiques et procéder à leur annotation fonctionnelle (**Grant, 2022**) (**Schacksen et al, 2024**).

2.5. Analyse statistique :

Nous avons utilisées le Test de Kolmogorov -Smirnov pour vérifier la normalité des variables. Lorsque la valeur de p est supérieure à 0,05, les données étaient considérées comme suivant une loi normale (Gaussienne), et les résultats quantitatifs étaient exprimés en moyenne arithmétique \pm écart type avec recours à des tests paramétriques (test de student). Si la valeur de

p est inférieure à 0,05, les variables quantitatives ont été présentés en médiane et analysées à l'aide des tests non paramétriques (test de Mann Whitney).

Les variables qualitatives ont été décrites en pourcentage (%) et comparées grâce au test khi-deux.

L'ensemble des analyses a été effectué avec le logiciel IBM SPSS version 21, développé par IBM Corporation aux États-Unis.

Résultats



3. Résultats :

3.1. Les caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude :

Le **tableau 01** présente les caractéristiques sociodémographique et cliniques de la population d'étude Cas-Témoins. Les deux groupes sont composés à 100% d'hommes et ne montrent pas de différence significative en termes d'âge moyen ($43,20 \pm 7,24$ ans pour les cas contre $41,80 \pm 12,50$ ans pour les témoins, $p=0,730$) ni d'indice de masse corporelle (IMC) moyen ($24,66 \pm 3,89$ kg/m² vs $25,59 \pm 3,12$ kg/m², $p=0,565$) respectivement. La distribution des groupes d'IMC (normal, surpoids, obésité) est également similaire entre les deux groupes ($p=0,470$), avec une majorité de personnes en poids normal (50% de cas et 40% de témoins) ou en surpoids (40% vs 60% des Témoins), et une faible proportion d'obèses (10% des Cas, 0% des Témoins).

Cependant, des différences significatives sont observées pour plusieurs autres paramètres. Le niveau d'instruction est nettement différent ($p=0,087$), avec tous les cas ayant un niveau inférieur au secondaire (100%), tandis que 40% des témoins ont un niveau universitaire et 60% inférieur au secondaire. La situation familiale révèle une différence significative entre cas et témoins. Tous les patients étant célibataires contre seulement 40% de Témoins. Il en est de même pour l'activité professionnelle, en effet les patients atteints de SCZ sont le plus touchés par le chômage ($p<0,05$). La consanguinité concerne toute la population d'étude ($p=1,000$), bien qu'il y ait une proportion plus élevée de consanguinité chez les Cas (30%) que chez les Témoins (20%). Enfin, les antécédents familiaux de troubles psychiatriques (ATCDF) sont fréquents chez les patients (60%) et inexistant chez les témoins ($p=0,011$).

Tableau 1 : Caractéristiques générales de la population d'étude.

Paramètres	Cas	Témoins	P-value
Sexe (%)			
Homme	100	100	
Age (ans)^a	$43,20 \pm 7,24$	$41,80 \pm 12,50$	0,730
IMC (kg/m²)^b	$24,66 \pm 3,89$	$25,59 \pm 3,12$	0,565
Classes d'IMC (%)			
Normale	50	40	
Surpoids	40	60	0,470
obésité	10	00	
Niveau d'instruction (%)			

<Secondaire	100	60	
Secondaire	00	00	0,087
>Universitaire	00	40	
Situation familiale (%)			
Célibataire	100	40	0,011
Marié	00	60	
Activités professionnelles (%)			
Avec	30	80	0,025
Sans	70	20	
Consanguinité (%)			
Oui	30	20	1,000
Non	70	80	
ATCDF(%) de troubles psychiatriques			
Oui	60	00	0,011
non	40	100	

^aMoyenne \pm écart type ; b : indice de masse corporelle

3.2. La distribution de fréquences génotypiques du gène CACNA1C :

Le **tableau 02** présente les résultats de l'analyse génétique comparant la distribution des allèles et génotypes du gène CACNA1C dans la population d'étude. Les fréquences alléliques montrent que l'Allèle G est majoritaire dans les deux groupes (90% chez les cas, 80% chez les témoins), tandis que l'Allèle A est moins fréquent (10% chez les cas et 20% chez les témoins) cette différence n'est pas statistiquement significative ($p=0,531$).

Pour la distribution génotypique, le génotype GG est le plus fréquent chez les cas (80%) et les témoins (70%). Ensuite, le génotype GA est également présent dans les deux groupes avec une fréquence similaire (20% cas, 20% témoins, $p>0,05$). Le génotype AA est absent chez les cas (0%) mais retrouvé chez 10% de témoins ($p>0,05$). On observe une surreprésentation du génotype GG chez les patients atteints de SCZ et une absence complète de génotype AA dans ce groupe.

Nous avons remarqué que l'allèle A est moins représenté chez les patients, ce qui pourrait suggérer que cet allèle est moins associé au risque de SCZ.

Tableau 2 : Distribution de fréquence allélique et génotypique de gène CACNA1C.

Paramètres	Cas	Témoins	P-value
Fréquence allélique (%) de CACNA1C			
G	90	80	0,531
A	10	20	
Fréquence génotypique (%) de CACNA1C			
GG	80	70	0,587
GA	20	20	
AA	00	10	

Discussion

4. Discussion :

La schizophrénie (SCZ) est un trouble psychiatrique sévère, multifactoriel et hautement hétérogène. Son étiopathogénie repose sur une interaction complexe entre des facteurs génétiques, neurobiologiques et environnementaux (Sykes et al, 2018). Parmi les gènes candidats les plus étudiés dans le cadre des troubles psychiatriques figure le CACNA1C, codant pour la sous-unité $\alpha 1C$ des canaux calciques voltage-dépendants de type L (Cav1.2). Ces canaux sont essentiels à la régulation du calcium intracellulaire, un mécanisme fondamental impliqué dans la neurotransmission, la plasticité synaptique et l'excitabilité neuronale (Schmitt et al, 2014) (He et al, 2014). Des altérations de ce gène, telles que des SNPs fréquents (comme rs1006737) ou des variants rares de novo (comme p.A36V), ont été fortement associés à des troubles psychiatriques tels que la schizophrénie, le trouble bipolaire et la dépression majeure (Wang et al, 2022) (Dedic et al, 2018) (Schmitt et al, 2014). Ces variants peuvent perturber l'homéostasie calcique, en réduisant l'inactivation dépendante du calcium (CDI), entraînant un afflux excessif de Ca^{2+} dans les neurones et perturbant ainsi les voies de signalisation neuronale.

Dans notre étude, nous avons examiné l'association entre le polymorphisme rs1006737 (G>A) du gène CACNA1C et le risque de schizophrénie. Nos résultats n'ont pas montré de différence dans la distribution des fréquences alléliques (G : 90 % vs 80 % ; A : 5 % vs 10 %), $p=0,531$) ou génotypique. Cette absence d'association contraste avec les résultats de méta-analyses d'envergure. L'étude de (Zhu et al, 2019) portant sur près de 12 744 cas et 16 460 témoins, a révélé une association significative de l'allèle A du rs1006737 avec le risque de SCZ dans quatre modèles génétiques différents qui sont récessif, dominant, additif et allélique avec ($p<0,05$). De même, la méta-analyse de (Liu et al, 2020) incluant plus de 15 000 cas et 19 000 témoins pour rs1006737, a confirmé une association significative de ce variant avec un risque accru de schizophrénie dans tous les modèles testés, rapportant un odds ratio allélique de 1,151 (IC 95% : 1,100-1,204 ; $p<0,001$) pour l'allèle A, principal dans la majorité des populations.

Il a été démontré que les mutations de CACNA1C peuvent affecter le volume de la matière grise de l'amygdale, une région clé dans la régulation des émotions, ainsi que l'activation de l'hippocampe lors de tâches mnésiques, suggérant un lien direct entre dérèglement calcique et symptômes cognitifs et affectifs de la schizophrénie. Des études animales ont montré que la suppression de CACNA1C dans les neurones glutamatergiques du cerveau antérieur provoque des altérations du comportement émotionnel, une anxiété accrue et des troubles cognitifs, effets

qui pourraient être amplifiés par des facteurs environnementaux tels que le stress chronique. Par ailleurs, les canaux Cav1.2 sont impliqués dans des circuits neuronaux anormalement activés dans la SCZ, comme la boucle cortico-striato-thalamo-corticale, et certaines données suggèrent que les traitements antipsychotiques pourraient moduler ces voies calciques, ouvrant des perspectives pour des approches thérapeutiques ciblées **(Wang et al, 2022) (Dedic et al, 2018) (Schmitt et al, 2014)**.

Sur le plan fonctionnel, bien que rs1006737 soit un polymorphisme intronique, il joue un rôle clé en tant qu'élément régulateur de l'expression génique (eQTL), influençant l'expression de CACNA1C dans des régions cérébrales telles que le cortex préfrontal et l'hippocampe **(Eckart et al, 2016)**. Une surexpression de CACNA1C peut accroître l'activité des canaux Cav1.2, entraînant un excès de calcium intracellulaire, ce qui perturbe la libération des neurotransmetteurs, notamment la dopamine et le glutamate, deux systèmes fortement impliqués dans la physiopathologie de la SCZ **(Schmitt et al, 2014)**. De plus, des études de conformation de la chromatine ont mis en évidence une interaction physique entre la région contenant rs1006737 et le promoteur de CACNA1C, suggérant un mécanisme épigénétique de régulation transcriptionnelle **(Eckart et al, 2016)**. Sur, le plan neuroanatomique, le polymorphisme rs1006737 a été associé à des anomalies cérébrales telles qu'une augmentation du volume de l'amygdale, des altérations de la substance blanche, et une hyperactivation du cortex préfrontal et de l'hippocampe lors de tâches cognitives et émotionnelles **(Lancaster et al, 2016) (Mallas et al, 2016) (Bigos et al, 2010)**. Ces modifications pourraient contribuer aux symptômes cognitifs et affectifs fréquemment observés chez les patients schizophrènes. Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence une diminution des performances mnésiques chez les porteurs de l'allèle A, même en l'absence d'association directe avec le diagnostic de SCZ.

D'ailleurs, **(Chen et al, 2022)(Hori et al, 2012)** ont renforcé l'idée que rs1006737 pourrait moduler la vulnérabilité à la maladie à travers des mécanismes neurobiologiques, cognitifs et épigénétiques complexes. Ainsi, la compréhension approfondie de ces processus appelle à des études de réplique sur des échantillons plus larges et ethniquement diversifiés, intégrant les facteurs environnementaux et les endophénotypes cognitifs dans une approche intégrative de la recherche en psychiatrie.

D'autre part, malgré l'absence de significativité statistique globale dans notre étude, nous avons observé des tendances intéressantes : une surreprésentation du génotype GG chez les patients schizophrènes (80% chez les cas contre 70% chez les témoins) et une absence du génotype AA

chez ces mêmes patients, alors qu'il était présent chez 10% des témoins. Ces observations pourraient suggérer un rôle protecteur potentiel du génotype AA ou une implication du génotype GG dans la vulnérabilité à la schizophrénie. Ce qui contrasterait avec l'identification fréquente de l'allèle A comme étant à risque.

La littérature rapporte une variabilité interethnique, par exemple, chez la population chinoise Han, c'est l'allèle G qui est associé à un risque plus élevé (**Chen et al, 2022**). L'étude de (**Liu et al, 2020**) a également noté des différences ancestrales, indiquant que chez les Européens, les génotypes GG et GG+GA de rs1006737 auraient un effet protecteur, ce qui impliquerait que l'allèle A et donc le génotype AA serait à risque dans cette population, une divergence par rapport à notre tendance observée pour AA.

Nos résultats, bien que non significatifs pour l'association directe avec la maladie, s'alignent avec certaines études qui n'ont pas non plus trouvé d'association directe entre rs1006737 et la schizophrénie dans des cohortes spécifiques. L'étude de (**Chen et al, 2022**) effectuée sur une population chinoise Han (312 patients, 305 témoins), n'ont pas observé de différences significatives dans la fréquence des allèles ou la distribution des génotypes du rs1006737 entre les groupes. De même, (**Hori et al, 2012**) sur une cohorte japonaise (552 patients, 1132 témoins), n'ont pas trouvé d'association significative de ce variant avec la schizophrénie (OR=1,15 ; p=0,35). Fait intéressant, ces deux études ont cependant mis en lumière un lien entre le polymorphisme rs1006737 et des aspects cognitifs. (**Chen et al., 2022**) ont rapporté des scores de mémoire différée significativement plus faibles chez les patients porteurs de l'allèle A. De même, (**Hori et al, 2012**) ont observé que les patients schizophrènes porteurs de l'allèle A présentaient des déficits spécifiques de la mémoire logique verbale. Cela suggère que CACNA1C pourrait influencer la schizophrénie via son impact sur des endophénotypes cognitifs, même en l'absence d'association directe avec le diagnostic de la maladie dans certaines populations ou cohortes.

Plusieurs facteurs pourraient expliquer l'absence de significativité statistique dans nos travaux. D'une part, la taille limitée de notre échantillon a pu réduire la puissance de l'étude à détecter une association réelle, si elle existe. (**Hori et al, 2012**) également évoqué une puissance statistique limitée, notamment en raison de la faible fréquence de l'allèle A dans leur cohorte japonaise.

D'autre part, bien que nos groupes aient été homogènes pour plusieurs variables, des différences significatives concernant le niveau d'instruction, la situation familiale et les antécédents

familiaux de troubles psychiatriques ont été identifiées. Ces facteurs sociodémographiques et cliniques pourraient agir comme des variables confondantes, influençant l'expression de la schizophrénie indépendamment du polymorphisme étudié.

Enfin, Il est important de souligner que la taille réduite de notre échantillon constitue une limite majeure de cette étude, pouvant restreindre la portée et la puissance statistique des résultats obtenus. Cette contrainte méthodologique pourrait expliquer l'absence d'association significative observée. Ainsi, ce travail ne prétend pas clore la question, mais au contraire l'ouvrir à des investigations futures. Des recherches ultérieures, menées sur des cohortes plus larges et diversifiées, sont nécessaires afin de confirmer ou d'infirmer les tendances observées, et de mieux comprendre le rôle potentiel du polymorphisme rs1006737 dans la vulnérabilité à la schizophrénie.

Conclusion

Conclusion et perspectives :

Notre étude n'a pas pu établir une association statistiquement significative entre le polymorphisme rs1006737 G>A du gène CACNA1C et la schizophrénie. Plusieurs éléments méthodologiques peuvent expliquer cette absence de lien. Premièrement, la taille réduite de notre échantillon limite la puissance statistique de l'analyse et rend plus difficile la détection d'effets génétiques modestes. Deuxièmement, certaines différences sociodémographiques entre les groupes étudiés pourraient agir comme facteurs confondants, influençant indirectement les résultats.

Malgré ces limites, la littérature scientifique souligne l'importance fonctionnelle du gène CACNA1C. Il est crucial pour la régulation du calcium neuronal, les circuits émotionnels et les fonctions cognitives. Le polymorphisme rs1006737, bien qu'il n'ait pas montré d'association directe avec le diagnostic de schizophrénie dans notre étude, semble jouer un rôle dans des aspects intermédiaires de la maladie, tels que la mémoire, l'anxiété ou la régulation émotionnelle.

Ainsi, ce travail ne clôt pas la question, mais souligne au contraire la nécessité de la poursuivre. Des recherches futures, menées sur des échantillons plus larges, mieux équilibrés et plus diversifiés sur le plan ethnique, sont indispensables. Il serait intéressant grâce à la génétique familiale de sélectionner des individus de la même famille dans la recherche de ces variabilités génétiques. Enfin, intégrer des approches multidimensionnelles, combinant génétique, neuroimagerie, cognition et facteurs environnementaux, permettra de mieux comprendre l'implication du gène CACNA1C dans la vulnérabilité à la schizophrénie.

Ces avancées pourraient ouvrir la voie à de nouvelles stratégies de compréhension, de prévention et d'intervention thérapeutique, en ciblant plus précisément les mécanismes moléculaires et neurobiologiques sous-jacents à cette pathologie complexe.

Référence

Bibliographiques

A

Andrea Schmitt, P. F. (2014). The new risk variant CACNA1C and brain circuits in schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* , 91–92.

Anne K. Sigvard b, K. B. (2023). Dopamine Synthesis Capacity and GABA and Glutamate Levels Separate Antipsychotic-Naïve Patients With First-Episode Psychosis From Healthy Control Subjects in a Multimodal Prediction Model. *Biological Psychiatry Global Open Science* , 500-509.

B

Batra, A. S. (2024). Batra, A., Prédiction précise de la schizophrénie : Exploiter les facteurs génétiques et environnementaux.

C

CACNA1C calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C [Homo sapiens (human)] . (s.d.).

Chan-Herur, V. (2023). Séquençage d'amplicons du génome entier du SARS-CoV-2 à partir d'eaux usées liquides .

Chenyao Wang, S.-I. H. (2022). Identification of ultra-rare disruptive variants in voltage-gated calcium channel-encoding genes in Japanese samples of schizophrenia and autism spectrum disorder . *Transl Psychiatry* , 12(1):84.

Christoph U Correll, C. A. (2024). Identification and treatment of individuals with childhood-onset and early-onset schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* , 57-71.

D

Daniela L Uliana, J. R. (2024). The excitatory-inhibitory balance as a target for the development of novel drugs to treat schizophrenia . *Biochem Pharmacol* , 228:116298.

Dongjian Zhu, J. Y. (2019). CACNA1C (rs1006737) may be a susceptibility gene for schizophrenia: An updated meta-analysis . *Brain Behav* , 9(6):e01292.

E

Emma-Jane Mallas, F. C. (2016). The impact of CACNA1C gene, and its epistasis with ZNF804A, on white matter microstructure in health, schizophrenia and bipolar disorder. *Genes, Brain and Behavior*

F

Fabiano De Abreu Agrela Rodrigues, R. d. (2022). THE BRAIN'S RELATIONSHIP TO MENTAL DISORDERS. *Health and Technology* , 1(3):e1317.

Falkai, P. S. (2014). The new risk variant CACNA1C and brain circuits in schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical* , 91-92.

Felix-Martin Werner, R. C. (2021). Risk Genes in Schizophrenia and Their Importance in Choosing the Appropriate Antipsychotic Treatment . *Curr Pharm Des* , 3281-3292.

G

Ganesh, D. (2022). Epigenetics and Genetics of Schizophrenia . *Student Research* , 11(2).

Gerald W Zamponi, J. S. (2015). The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential . *Pharmacol Rev* , 821-70.

Grant, K. R. (2022). Next-Generation Amplicon Sequencing: A Cost-Effective Method for Exploring Microbial Biodiversity.

Guo, X. W. (2023). A novel risk variant block across introns 36–45 of CACNA1C for schizophrenia: A cohort-wise replication and cerebral region-wide validation study. *Psychiatric Genetics* , 182–190.

H

Harris, E. (2023). Schizophrenia Linked With Genetic Changes That Are Not Inherited.

Hori, H. Y. (2012). Effects of the CACNA1C risk allele on neurocognition in patients with schizophrenia and healthy individuals. *Scientific Reports* .

J

Jiru Han, J. E. (2023). AmpSeqR: an R package for amplicon deep sequencing data analysis.

K

Katherine Barraza, D. P. (2024). Epigenetics of schizophrenia. 128–140.

Kevin G Herold, J. W. (2023). CACNA1C-Related Channelopathies . *Handb Exp Pharmacol* , 159-181.

Khanna, S. (2024). Existing and Newer Therapies in the Management and Diagnosis of Schizophrenia.

Knox, A. (2023). Schizophrenia. Dans *Advances in psychology, mental health, and behavioral studies (APMHBS)* . *book séries* , p.216-241.

Kokkinou, M. I. (2020). Reproducing the dopamine pathophysiology of schizophrenia and approaches to ameliorate it: a translational imaging study with ketamine. *molecular psychiatry* , 2562–2576.

Kristin L Bigos, V. S. (2010). Genetic variation in CACNA1C affects brain circuitries related to mental illness . *Arch Gen Psychiatry* , 67(9):939-45.

Kuanjun He, Z. A. (2014). CACNA1C, schizophrenia and major depressive disorder in the Han Chinese population . *Br J Psychiatry* , 204(1):36.

Kun Lian, Y. L. (2024). Hub genes, a diagnostic model, and immune infiltration based on ferroptosis-linked genes in schizophrenia . *IBRO Neurosci Rep* , 317-328.

L

Lemonnier. (2001). Symptomes de la schizophrénie.

Lucy Sykes, N. E. (2018). Regulation of the Expression of the Psychiatric Risk Gene *Cacna1c* during Associative Learning. *Mol Neuropsychiatry* , 7;4(3):149–157.

Lukasz Smigielski, V. J. (2020). Epigenetic mechanisms in schizophrenia and other psychotic disorders: a systematic review of empirical human findings . *Mol Psychiatry* , 1718-1748.

M

Manamohan Nataraj, C. N. (2022). 37 Common mental disorders. 351–360.

Marah H Wahbeh, D. A. (2021). Gene-Environment Interactions in Schizophrenia: A Literature Review . *Genes (Basel)* , 12(12):1850.

Marisa Brini, T. C. (2014). Neuronal calcium signaling: function and dysfunction . *Cell Mol Life Sci* , 2787-814.

Martina J Sinnegger-Brauns, I. G.-C. (2009). Expression and 1,4-dihydropyridine-binding properties of brain L-type calcium channel isoforms . *Mol Pharmacol* , 407-14.

Maruta, N. K. (2023). Clinical-psychopathological analysis of the structure and expression of negative and positive symptoms in patients with schizophrenia.

Mengyi Chen, Q. J. (2022). CACNA1C Gene rs1006737 Polymorphism Affects Cognitive Performance in Chinese Han Schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat* , 10;18:1697–1704.

Moon, A. L. (2018). CACNA1C : Association With Psychiatric Disorders, Behavior, and Neurogenesis. *Schizophrenia Bulletin* . 958–965.

N

N Dedic, M. L. (2018). Cross-disorder risk gene CACNA1C differentially modulates susceptibility to psychiatric disorders during development and adulthood . *Mol Psychiatry* , 23(3):533-543.

Naomi R Wray, S. R.-A.-H. (2018). Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat Genet* , 668-681.

Neha S Rawani, A. W. (2024). The Role of Neuroglia in the Development and Progression of Schizophrenia . *Biomolecules* , 15(1).

N'Gouemo, P. (2018). Voltage-Sensitive Calcium Channels in the Brain: Relevance to Alcohol Intoxication and Withdrawal. *Handb Exp Pharmacol* , 248:263-280.

Nicole Eckart, Q. S. (2016). Functional Characterization of Schizophrenia-Associated Variation in CACNA1C.

P

Patrik Andlin-Sobocki, B. J.-U. (2005). Cost of disorders of the brain in Europe .

R

Robin M Shaw, H. M. (2013). L-type calcium channel targeting and local signalling in cardiac myocytes. *Cardiovasc Res* , 177–186.

Rodrigues, F. a. (2022). Relationship between the brain and mental disorders. e1317.

S

S A Miller, D. D. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells . *Nucleic Acids Res* , 16(3):1215.

S. Suguna, D. N. (2014). Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* , 6(6):198-199.

Schacksen, P. S., Østergaard, S. K., & Eskildsen, M. H. (2024). Complete pipeline for Oxford Nanopore Technology amplicon sequencing (ONT-AmpSeq).

Shambhu Bhat, D. T. (2012). CACNA1C (Cav1.2) in the pathophysiology of psychiatric disease . *Prog Neurobio* , 1-14.

Silas A Buck, M. Q.-O. (2022). Relevance of interactions between dopamine and glutamate neurotransmission in schizophrenia . *Mol Psychiatry* , 3583-3591.

Soldatov, N. M. (2012). Molecular Determinants of Cav1.2 Calcium Channel Inactivation. *ISRN Mol Biol* , 691341.

Stefan M Berger, D. B. (2014). The role of L-type voltage-gated calcium channels Cav1.2 and Cav1.3 in normal and pathological brain function . *Cell Tissue Res* , 463-76.

Stephan Ripke, B. M.-H.-S. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* , 421-7.

Striebel, J. M. (2024). What is schizophrenia - symptomatology . 1-11.

Swanton, T. (2020). The Dopamine, Glutamate, and GABA Hypotheses of Schizophrenia: Glutamate May Be the Key. *ANU Undergraduate Research Journal 10 (1)* , 88-96.

T

T M Lancaste, S. F. (2016). CACNA1C risk variant is associated with increased amygdala volume. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* , 269-75.

T M Lancaster, S. F. (2016). CACNA1C risk variant is associated with increased amygdala volume . *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* , 266(3):269-75.

T Yoshimizu, J. Q.-H. (2015). Functional implications of a psychiatric risk variant within CACNA1C in induced human neurons. *Mol Psychiatry* , 162-9.

Tariq. (2022). Psychological disorders. Pakistan Journal of Health Sciences. *Oxford University press eBooks* , 351-360.

X

Xianghua L, J. J. (2018). Méthode de construction d'une bibliothèque de séquençage d'amplicons, groupe et kit d'amorces.

Y

Yi Liu, P. O. (2021). A Selective Review of the Excitatory-Inhibitory Imbalance in Schizophrenia: Underlying Biology, Genetics, Microcircuits, and Symptoms. *Front Cell Dev Biol* , 9:664535.

Yong-ping Liu, X. W.-j. (2020). The genome-wide supported CACNA1C gene polymorphisms and the risk of schizophrenia: an updated meta-analysis. *BMC Med Genet* , 8;21:159.

Yuanhao Tang, Y. T. (2024). Epigenetic profile of the immune system associated with symptom severity and treatment response in schizophrenia . *J Psychiatry Neurosci* , E45-E58.

Yun Li, H. Y. (2022). Post-Translational Modification of Cav1.2 and its Role in Neurodegenerative Diseases. *Front Pharmacol* , 12:775087.

Z

Zhan, N.-C. e. (2023). Bases génétiques de l'âge d'apparition de la schizophrénie. *donnés probantes et modèles.Frontiers in genetics* , 14.

Zhang, Q. (2024). Stress, Dopamine and the Development of Schizophrenia. *Lecture Notes in Education Psychology and Public Media* , 215-220.

Zheng, Z. Z. (2023). Schizophrenia. 291-301.

Annexe

➤ **Questionnaires :**

N° : _____ Date : _____
Nom Prénom : _____ L'âge : _____ Sexe : _____
GS : _____ Lieux de naissance : _____
Adresse : _____
Poids : _____ Taille : _____ IMC : _____
Niveau d'instruction : Analphabète Primaire Moyen Secondaire Universitaire
Activité professionnelle: sans profession Avec profession Étudiant Retraité
Vit avec : Conjoint Parents Amis Seul
Situation familiale: Marié (**nbr d'Enf**) Célibataire Divorcé Veuf
Origine : Tlemcen ville les environs (_____) Autre région Précision
Patient (e) adressé (e) par : Famille Psychiatre Police Autre :.....

Diagnostic : _____ Type : _____
Age de début du trouble : _____
Diagnostic à la 1ère hospitalisation : Schizophrénie TB Dépression autre
L'âge de diagnostic exact : _____
Durée de la maladie : _____
Durée de la maladie non traitée : _____
Traitement : Antipsychotique Anticonvulsivant Antidépresseur autre
- Tolérance au traitement : bonne moyenne mauvaise
Supplémentations : _____

ATCD personnel :

PAS : _____ PAD : _____
Cardiopathie : oui non -Diabète : oui non -Rénal : oui non
Hépatique : oui non -Thyroïdiens : oui non
HTA : oui non - Dyslipidémie : oui non
Chirurgicaux : oui non ⇔ Traumatisme crânien Autres (à préciser) :.....
AVC : oui non
Tabac : oui non -Alcool : oui non - Drogues : oui non
Cannabis : oui non -benzodiazepines (Avant ou Après l'apparition de trouble)
Consanguinité : 1^{er} degré _____ 2^{eme} degré _____
Judiciaires : Oui Non -Nombre :..... - Période : _____ -Durée moyenne : _____

Comportement suicidaire : Oui Non (nbr de fois)

Antécédents familiaux Psychiatriques : Oui Non

TBP Schizophrénie Troubles dépressifs Déficience mentale
autre

.....
.....

Comportement suicidaire : Oui Non

Conduite addictive : Oui Non

Facteurs de risque :

HTA : oui non -Diabète : oui non -Cardiopathie : oui non

Dyslipidémie : oui non -Obésité : oui non

Symptomatologie clinique :

Facteurs déclenchant : (+)/(-)

Mode de début du trouble : Brutal Progressif

Polarité du premier épisode : dépression (hypo)manie Non identifiable (épisode mixte)

Polarité prévalent : dépression manie non indéfini

Épisodes maniaques/hypomanie : Oui Non la durée :

Épisodes dépressifs : Oui Non la durée:.....

Type de cyclisme prévalent : Manie/dépression dépression / Manie

L'état actuel : dépression manie hypomanie entre les deux

Événements précédant les rechutes : Oui Non

Si oui, nature de l'événement : Familial Social arrêt du traitement

Précision :....

- Nombre totale des hospitalisations :

- Motif le plus fréquent :

- Durée moyenne des hospitalisations :

Remarque :

Avez-vous déjà souffert d'autres troubles neurologiques : oui non

-

Avez-vous déjà été sous traitement neurologique : oui non

Psychoéducation : oui non (seul /group)

Âge à la première prescription pharmacologique

Âge au premier contact avec les services psychiatriques

Premier diagnostic psychiatrique

Troubles de l'alimentation Troubles anxieux Abus de substance Troubles de la personnalité

Troubles psychotiques

Âge au premier stabilisateur d'humeur / antipsychotique atypique

Durée de la maladie

Durée de la maladie non traitée

Polarité du premier épisode : dep hypo (manie) inidentifiable (mixed episode)

Lifetime number of manic episodes 0 1-2 3-5 >6

Lifetime number of depressive episodes

Type de cyclisme prévalent Manic/depressive Manic/depressive

Polarité prévalente dep manie nn indéfini

Psychoéducation oui nn (seul /group)

Préparation des solutions pour l'extraction de l'ADN à partir du sang total

- **Préparation de 500ml EDTA (0,5 M ; pH = 8) :**

Faire dissoudre 93,06g d'EDTA dans 400 ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, et avec du NaOH (5M) règle le PH à 8.

- **Préparation de 500ml EDTA Na₂ (0,5 M ; pH = 8) :**

Faire dissoudre 118.53g d'EDTA dans 400 ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, et avec du NaOH (5M) règle le PH à 8.

- **Préparation de 500ml Tris HCl (1M ; pH=8) :**

Faire dissoudre 60,57g d'EDTA dans 400 ml d'eau distillée puis ajuster jusqu'au 500ml, et avec du HCl règle le pH à 8.

- **Préparation de 100ml de SDS 10% :**

Pour 10% : 10 g -----> 100ml eau distillée.

- **Préparation de NaCl (5M) :**

Pour 5M: 292,25 g -----> 1000ml eau distillée.

- **Préparation de 2L de TE10/10 :**

20ml tris-Hcl (1M, pH=8)

40ml EDTA (0.5M, pH=8)

qsp 2L eau distillée.

- **Préparation de 1L de TE10/1 :**

10ml tris-Hcl (1M, pH=8)

2 ml EDTA (0.5M, pH=8)

qsp 1L eau distillée.

- **Préparation de 200ml de solution de lyse des globules blancs (SLB) :**

2ml tris-Hcl (1M, pH=8)

40ml EDTA (0.5M, pH=8)

10ml SDS (10%)

qsp 200ml eau distillée.

Protocole d'extraction par la technique de NaCl "Salting out"

1. Lyse des globules rouges :

La lyse des globules rouges est réalisée en complétant le volume de sang (2 à 5ml) ; initialement décongelé à 37°C ; avec un volume de 10 ml d'une solution hypotonique qui est le tris-EDTA (TE10/10) (Tris/acide chlorhydrique (HCl) 10 mM et EDTA 10 mM ; pH = 8,0). Après lavage, les tubes sont mis dans la glace pendant 30 minutes (l'action conjuguée du Tris et du froid provoque un choc hypotonique qui éclatera la membrane des globules rouges) puis centrifugés à 2500 tours/mn pendant 15 mn. Ce qui permet de séparer le surnageant qui contient les débris de globules rouges, des globules blancs qui sont précipités au fond du tube formant un culot.

Par la suite le surnageant est éliminé contenant les débris des globules rouge. Cette opération de lavage est répétée plusieurs fois en ajoutant 10ml de TE10/10 au culot obtenu. Les tubes sont mis dans la glace pendant 10minutes, puis on centrifugé à 2500 tour /mn pendant 15 min. Le

surnageant est ensuite éliminé et cette dernière étape est répétée afin d'obtenir un culot blanchâtre de globules blancs.

2. Lyse des leucocytes :

Au culot des globules blancs, 5ml de solution de lyse de globules blancs (SLB) et 125µl de protéinase K (20mg/ml) sont ajoutés. Après homogénéisation les tubes sont mis dans un récipient contenant de l'eau puis incubés dans l'étuve à 37°C pendant une nuit sous agitation douce.

3. Précipitation des débris cellulaires :

Après incubation, 2ml de NaCl (5M) sont ajoutés dans chaque tube. Les tubes sont mélangés vigoureusement puis centrifugés à 4000 tours pendant 10 minutes (on obtient un culot contenant les débris cellulaires, protéiques et le surnageant contenant l'ADN). Le surnageant est récupéré dans des tubes à essais.

4. Précipitation de l'ADN :

Deux volumes d'éthanol absolu froid sont ajoutés dans chaque tube. L'ADN est précipité par agitation douce en retournant délicatement le tube afin de visualiser les filaments de l'ADN sous forme de méduse.

La méduse d'ADN est récupérée par une pipette pasteur à usage unique bien scellée puis rincée une fois à l'éthanol à 70%, la placer dans un tube Eppendorf et la laisser sécher à l'air libre afin de faire évaporer l'éthanol. 133

5. Dissolution et conservation de l'ADN :

La méduse est dissoute dans 200 à 500µl de TE10/1 selon sa taille puis conservée dans des tubes pendant 24h à une température ambiante ensuite à 4°C pour quelques jours ; à -20°C pour plus de 10 ans.

❖ Détermination du polymorphisme

- La méthode utilisée : Séquençage d'amplicon 2ème génération