

Université de Montréal

**Le rôle de la méthylation de l'ADN dans les fonctions cérébrales fronto-limbiques
et la réactivité au stress quotidien**

par

Marie-Pier Verner

Département des Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître en Sciences (MSc.)

en Sciences Biomédicales

option Psychiatrie

Juillet, 2015

© Marie-Pier Verner, 2015

Université de Montréal

Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire intitulé:

Le rôle de la méthylation de l'ADN dans les fonctions cérébrales fronto-limbiques et la réactivité au stress quotidien

présentée par
Marie-Pier Verner

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Frederick Aardema, Ph.D.	Président-rapporteur
Linda Booij, Ph.D.	Directrice de recherche
Jean Séguin, Ph.D.	Co-directeur
Nathalie Fontaine, Ph.D.	Membre du jury

Thèse acceptée le 23 février 2016

Résumé

La sérotonine (5-HT) joue un rôle crucial dans l'étiologie des troubles mentaux comme la dépression majeure, les troubles de comportement et les troubles anxieux. Des études ont montré que des altérations précoces du système 5-HT peuvent potentiellement influencer le développement du cerveau et le fonctionnement du système fronto-limbique, engendrant des conséquences pour la régulation émotionnelle. Il existe aussi des évidences que le stress précoce peut affecter la méthylation de l'ADN résultant d'une altération de l'expression génique. Toutefois, le lien entre la méthylation de l'ADN et la réactivité comportementale à des facteurs de stress de la vie quotidienne est inconnu. La méthylation du gène transporteur 5-HT (SLC6A4) est d'un intérêt particulier, étant donné le rôle de SLC6A4 dans le développement du cerveau, les troubles mentaux et la régulation du stress. L'objectif de cette thèse est d'étudier l'association entre (1) les niveaux périphériques de méthylation de l'ADN dans le gène SLC6A4 et les réponses neurales aux stimuli émotionnels dans les circuits fronto-limbiques du cerveau, ainsi qu'entre (2) la méthylation périphérique de SLC6A4 et la réactivité comportementale au stress de la vie quotidienne. Nous explorons également l'association entre les réponses neuronales fronto-limbique à des stimuli émotionnels et la réactivité comportementale au stress de la vie quotidienne (3). À cette fin, vingt-deux personnes (11 femmes) d'âge moyen de 34,0 ans (SD : 1,5) avec différents niveaux de méthylation au gène SLC6A4 ont été recrutés à partir de deux études longitudinales. Les participants ont subi une analyse IRMf qui comprenait une tâche de traitement émotionnel. Un questionnaire en ligne sur la réactivité au stress quotidien de la vie a été réalisé pendant 5 jours consécutifs. Des analyses corrélationnelles et de régression ont été effectuées pour examiner les associations entre les variables primaires. Les résultats préliminaires de cette étude ont montré que la méthylation de l'ADN est associée à la désactivation significative du gyrus précentral et gyrus fusiforme respectivement face à des stimuli de peur et de tristesse. Aucune association significative n'a été observée entre les niveaux de méthylation et l'activation de l'amygdale. En outre, les scores obtenus aux variables de stress de la vie quotidienne tels que la détresse chronique ont été associées à la désactivation du précuneus et du cortex cingulaire postérieur face à la tristesse. Ces résultats suggèrent l'implication potentielle des processus épigénétiques dans l'activation cérébrale spécifique et la sensibilité au stress de la vie courante.

Mots-clés : Sérotonine, Méthylation, Cerveau, Imagerie cérébrale, Stress, Psychopathologie

Abstract

Serotonin (5-HT) plays a crucial role in mental disorders etiology such as major depression, conduct disorders and anxiety disorders. Studies have shown that early alterations in the 5-HT system can potentially influence frontal-limbic brain development and functioning, with consequences for emotional regulation. There is also evidence that early stress can affect DNA methylation resulting in an alteration in gene expression; however the link between DNA methylation and behavioural reactivity to current daily life stressors is not known. DNA methylation in the 5-HT transporter (SLC6A4) is of particular interest, given the role of SLC6A4 in brain development, mental disorders and stress regulation. The aim of the present thesis is to study the association between (1) peripheral levels of DNA methylation in the SLC6A4 gene and the neural responses to emotional stimuli in the frontal-limbic brain circuitry (2) peripheral SLC6A4 methylation and behavioural reactivity to daily life stress. We also explore the association between frontal-limbic neural responses to emotional stimuli and behavioural reactivity to daily life stress (3). To this end, twenty-two individuals (11 females) with mean age of 34.0 years old (SD: 1.5) with various levels of SLC6A4 methylation gene were recruited from two longitudinal studies. Participants underwent an fMRI scan that included an emotional processing task. An online questionnaire on daily life stress reactivity was performed during 5 consecutive days. Correlations and regressions analyses were performed to investigate the associations among the primary variables. Results of this pilot study showed that DNA methylation is associated with the significant deactivation of the precentral gyrus and fusiform gyrus when respectively facing fearful and sad stimuli. No significant association was observed between levels of methylation and amygdala activation. Also, obtained scores to daily life stress variables such as chronic distress were associated with the deactivation of the precuneus and posterior cingulate cortex when facing sadness. Those results suggest the potential implication of epigenetic processes in specific brain activation and daily life stress sensitivity.

Keywords: Serotonin, DNA Methylation, Brain, fMRI, Stress, Psychopathology

Ce projet de recherche a été supporté par les Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRQ-S). Cette thèse fut également appuyée par une bourse de recherche à la maîtrise offerte par la Fondation du Centre Hospitalier Universitaire Ste-Justine

Table des matières

Identification du jury.....	ii
Résumé en français.....	iii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des sigles et abréviations.....	xi
Dédicace.....	xii
Remerciements.....	xiii

CHAPITRE 1

1. L'introduction.....	1
1.1. La sérotonine et le développement cérébral.....	1
1.2. Le rôle de la sérotonine dans le traitement émotionnel.....	3
1.3. Les altérations du système sérotoninergique: Les procédés épigénétiques.....	4
1.4. La réactivité au stress.....	7
1.5. Les hypothèses du projet actuel.....	8

CHAPITRE 2

2. Les méthodes.....	10
2.1. Les Participants.....	10
2.1.1. Cohorte ELEMQ.....	10
2.1.2. Cohorte ELEM.....	1
2.1.3. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	11
2.2. Les procédures.....	12
2.2.1. Recrutement.....	12
2.2.2. Considération éthique.....	12
2.2.3. Les mesures comportementales.....	12
L'entrevue diagnostique.....	12
Les questionnaires.....	13
a) Inventaire de la Dépression de Beck (IDB).....	13
b) Questionnaire de Personnalité d'Eysenck (QPE).....	14
L'imagerie cérébrale.....	14
2.3. L'imagerie fonctionnelle et le traitement émotionnel.....	15
2.4. La réactivité au stress quotidien.....	16
2.4.1. Le questionnaire en ligne.....	16
Échelle 1 : Les affects négatifs.....	17
Échelle 2 : L'exposition et la sévérité.....	17
Échelle 3 : Détresse chronique et demandes psychologiques.....	18
Échelle 4 : Ruminations.....	19

2.5. Les niveaux de méthylation.....	19
2.6. Les analyses et statistiques	20
2.6.1. <i>Analyses de régression.....</i>	20
2.6.2. <i>Analyses corrélationnelles</i>	21
CHAPITRE 3	
3. Les résultats	22
3.1. Caractéristiques de l'échantillon	22
3.2. Les résultats de régression	24
3.2.1. <i>La méthylation de SLC6A4 et l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite.....</i>	24
3.2.2. <i>L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite et la réactivité au stress quotidien</i>	25
3.4. Les résultats corrélational	30
3.4.1. <i>La méthylation de SLC6A4 et la réactivité aux facteurs de stress quotidien.....</i>	30
3.4.2. <i>Les facteurs d'évaluation de la réactivité au stress quotidien.....</i>	31
CHAPITRE 4	
4. La discussion	32
4.1. Le niveau de méthylation SLC6A4 et l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel.....	32
4.2. L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel et le niveau de réactivité aux facteurs de stress quotidien	33
4.3. L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite positif	35
4.4. L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel et la symptomatologie dépressive	36
4.5 Le niveau de méthylation SLC6A4 et la réactivité aux facteurs de stress quotidien...36	
4.6. Conclusions	37
4.7. Statistiques corrélationalles de l'outil de mesure.....	38
4.8. Forces et faiblesses de l'étude	39
4.9. Directions futures.....	39
5. ANNEXES	42
6. BIBLIOGRAPHIE.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1.	23
Caractéristiques descriptives de l'échantillon.	
Tableau 2.	31
Analyses corrélationnelles entre les niveaux de méthylation, les scores de réactivité au stress quotidien et les résultats à l'Inventaire de la Dépression de Beck.	
Tableau 3.	42
Statistiques corrélationnelles entre les échelles du questionnaire sur la réactivité aux facteurs de stress quotidien, l'Inventaire de la Dépression Beck et le Questionnaire de la Personnalité d'Eysenck.	

Liste des figures

Figure 1.	25
Désactivation significative du gyrus précentral. Régression de la méthylation moyenne obtenue à partir de tous les sites (1-14) face aux stimuli de peur.	
Figure 2.	25
Désactivation significative du gyrus fusiforme gauche. Régression de la méthylation moyenne obtenue à partir des sites 5&6 face aux stimuli de tristesse.	
Figure 3.	26
Désactivation significative du précuneus. Régression du score moyen à l'échelle <i>Détresse chronique et demandes psychologiques</i> face aux stimuli de tristesse.	
Figure 4.	26
Désactivation significative du cortex cingulaire postérieur. Régression du score moyen à l'échelle <i>Détresse chronique et demandes psychologiques</i> face aux stimuli de tristesse.	
Figure 10.	43
Présence d'affects négatifs en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12.	
Figure 11.	43
Niveau d'exposition aux facteurs de stress quotidien en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12.	
Figure 12.	43
Sévérité de la réactivité aux facteurs de stress quotidien en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12.	

Liste des sigles et abréviations

5-HT: 5-Hydroxytryptamine

5-HTP: 5-Hydroxytryptophan

5-HTT: 5-Tydroxytryptamine transporter

ADN: Acide Désoxyribonucléique

BOLD: Blood-Oxygen-Level Dependent

CH₃⁺: Groupe méthyle

CpG: Cytosine-Phosphate-Guanine

DISE: Daily Inventory of Stressful Event

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders

DTI: Diffusion Tensor Imaging

ELEM: Étude Longitudinale et Expérimentale de Montréal

ELEMQ: Étude Longitudinale des Enfants de Maternelle au Québec

G-E: Gène-Environnement

IDB: Inventaire de la Dépression de Beck

IRMf: Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle

ISRS: Inhibiteurs Sélectifs de la Recapture de la Sérotonine

LEAD: Longitudinal assessment, Expert diagnosticians, All Data

PANAS: Positive And Negative Affect Schedule

QPE: Questionnaire de la Personnalité d'Eysenck

RSQ: Ruminative Responses Scale

SCID-I: Structural Clinical Interview for axis I Disorders

SLC6A4: Solute Carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 4

SNC: Système Nerveux Central

TEP: Tomographie Émission Positrons

TR / TE: Temps Répétition / Temps Écho

*En souvenir de deux années remplies de défis,
laissant place à un épanouissement sans
précédent.*

Remerciements

Ces deux dernières années furent grandes en émotions, en surprises, en découvertes et en défis. Elles m'ont permis d'apprendre beaucoup sur moi, mais également de constater à quel point le soutien et la collaboration des gens qui nous entourent sont indispensables à la réalisation de nos objectifs personnels. Je vous remercie ainsi tous de m'avoir apporté temps, écoute et conseils au cours de cet accomplissement, ainsi que d'avoir cru en mes capacités.

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de recherche, Dre Linda Booij, ainsi que mon co-directeur, Dr. Jean Séguin, qui ont su me guider et m'encourager, et sans qui la réalisation de ce projet n'aurait pu être possible.

Je remercie également Mélissa Lévesque pour le temps et la patience consacrés à l'analyse des données d'imagerie cérébrale.

Je tiens à remercier Elmira Ismaylova pour son soutien, ses conseils et sa générosité tout au long de ce projet.

Je remercie aussi l'équipe de l'Institut Neurologique de Montréal.

Je remercie sincèrement les vingt-deux individus qui ont accepté de participer à ce projet de recherche.

Enfin, je tiens à remercier mes parents qui me soutiennent et m'encouragent dans tout ce que j'entreprends et qui me démontre quotidiennement un amour inconditionnel.

CHAPITRE 1

1. L'introduction

1.1.La sérotonine et le développement cérébral

La 5-hydroxytryptamine (5-HT), également appelé sérotonine, est une substance monoaminergique impliquée dans divers procédés comportementaux, cognitifs et physiologiques. La sérotonine joue un double rôle en tant qu'hormone et neuromédiateur du système nerveux central (SNC). D'abord identifiée dans la muqueuse gastro-intestinale en tant qu'hormone locale engagée dans la contraction de l'intestin suite à l'ingestion et également impliquée dans différentes fonctions physiologiques tels que les mécanismes cardiaques [1, 2], la quantité de sérotonine présente dans le système nerveux central, soit 1% seulement de sa quantité intégrale à travers tout le corps, joue un rôle primordial dans le développement et la maturation du cerveau animal et humain, ainsi que dans le maintien homéostatique de l'organisme [3].

La synthèse de la sérotonine retrouvée dans le système nerveux central s'effectue dans certains neurones des noyaux du Raphé situé au niveau du tronc cérébral. Ces neurones récupèrent d'abord le tryptophane, une acide aminée véhiculée au cerveau via la circulation sanguine, et convertissent celui-ci en 5-hydroxytryptophane (5-HTP). Cette substance est ensuite transformée en sérotonine via l'action catalysante des réactions de décarboxylation engendrée par l'interaction enzymatique. Chez les rongeurs, les premiers neurones sérotoninergiques sont générés très précocement lors de la croissance embryonnaire, soit à douze jours seulement de gestation et l'innervation des voies sérotoninergiques dans l'ensemble du cerveau est complétée dans les premières semaines post-natales [4]. La sérotonine est en fait l'une des premières monoamines à être synthétisée au niveau du SNC, démontrant ainsi son importance dans la viabilité de l'organisme [4, 5]. Ainsi, des altérations précoces du système sérotoninergique sont susceptibles d'influencer la croissance et le fonctionnement du cerveau. Plusieurs études en ont d'ailleurs fait la démonstration [6]. Le gène SLC6A4 peut être retrouvé, au niveau du cerveau, dans les régions des noyaux de Raphé dorsaux et médians, au niveau du cortex cérébral, ainsi que dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe, soient des régions dont les neurones contiennent des neurotransmetteurs sérotoninergiques (Torres et al., 2003). Aussi,

le gène SLC6A4 est retrouvé sur le chromosome humain 17q11.1-q12 (Ramamoorthy et al., 1993). La fonction première du gène SLC6A4 est la recapture de la sérotonine dans l'espace extracellulaire. Chez le rongeur, il fut démontré que la suppression prénatale du gène *Solute Carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 4* (SLC6A4) codant pour la recapture de la sérotonine pouvait potentiellement mener au développement de déficiences structurelles et fonctionnelles des différentes régions du cortex sensoriel. En effet, l'inactivation génétique du gène SLC6A4 serait en partie responsable de l'altération des réponses fonctionnelles à la stimulation dans au moins l'une des voies somato-sensorielles majeures [7]. Aussi, considérant que le nombre de récepteurs sérotoninergiques au niveau des structures limbiques, notamment l'amygdale, est élevé [4], ces structures sont davantage vulnérables aux altérations du système 5-HT. De plus, il fut démontré que des changements au niveau du système sérotoninergique pouvaient possiblement être associés au développement de symptômes psychopathologiques [6]. En effet, l'administration de Fluoxetine (ISRS) chez les rongeurs tôt dans la période post-natale pourrait potentiellement mener à l'inhibition du transport de la sérotonine et au développement de comportements dépressifs et anxieux, ainsi qu'au développement d'une hypersensibilité aux facteurs de stress et à l'altération du comportement émotionnel à l'âge adulte [8]. Les résultats de ces études permettent de constater que les changements au niveau du système sérotoninergique qui occurrent dans les premières années de vie tendent potentiellement à prédire l'altération des cognitions et des comportements émotifs à plus long terme.

Un développement similaire est observé chez l'être humain. En effet, les premiers neurones des noyaux du Raphé apparaissent généralement à cinq semaines de gestation chez le fœtus, tandis que la capacité maximale de synthèse de la 5-HT dans le cerveau humain est atteinte vers l'âge de cinq ans [9]. Ainsi, il est possible de constater que le système sérotoninergique est enclin et vulnérable à multiples changements au cours de la période prénatale et des premières années de vie [6]. Tout comme chez l'animal, les projections sérotoninergiques sont retrouvées dans l'ensemble du cerveau, notamment au niveau des structures limbiques telles que l'amygdale et l'hippocampe, ainsi que dans les régions frontales et la moelle épinière. Il fut également démontré que des altérations du système 5-HT sont susceptibles d'influencer différentes fonctions associées aux structures du système limbique. En effet, des chercheurs ont observé que l'administration en bas âge, ainsi que chez le jeune adulte,

de substances inhibitrices sélectives de la recapture de la sérotonine telles que le Citalopram et la Fluoxetine, pourrait possiblement influencer l'activation cérébrale de l'amygdale et ainsi certaines fonctions cognitives tel que la reconnaissance émotionnelle, notamment les niveaux de précision lors de l'identification des émotions négatives telle que la colère et la peur [10-12]. Les participants devaient prendre part à une tâche de reconnaissance d'expressions faciales, une tâche attentionnelle et la présentation de série visuelle rapide. Les participants sains âgés entre 18 et 21 ans, recevant une dose unique de 20 mg de fluoxetine étaient moins précis à identifier les émotions négatives, soient la colère et la tristesse lors de tâche de reconnaissance émotionnelle et autres, 6 heures suite à l'administration de la dose (Capitão et al., 2015). Aussi, une dose de 20mg par jour de citalopram (inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine) pendant une période de 7 jours chez des participants n'ayant jamais vécu de d'épisode de dépression, a su démontrer une diminution des réponses de l'amygdale lors de présentations d'expressions faciales de peur et de joie, comparativement aux participants ayant reçu une substance placebo. L'administration de citalopram a également permis d'observer une réduction des réponses neurales de l'hippocampe et du cortex préfrontal médian, plus précisément lors de la présentation de stimuli de peur. Aussi, une difficulté de reconnaissance des émotions négatives fut observée (Harmer et al., 2006).

1.2.Le rôle de la sérotonine dans le traitement émotionnel

L'implication de la sérotonine dans l'explication biologique du développement des risques potentiels aux désordres psychiatriques tels que les troubles de l'humeur, les troubles anxieux et les désordres impliquant des comportements d'impulsivité est plutôt convaincante [13, 14]. Plusieurs études ont permis de démontrer le rôle de la sérotonine dans différentes fonctions cognitives tels que la régulation de l'humeur et le traitement émotionnel [2]. Le traitement émotionnel, ce procédé par lequel l'individu fait l'identification d'un stimulus émotionnel, en fait son interprétation et génère une réponse émotionnelle adaptée aux stimuli environnementaux est primordial dans le traitement efficace des interactions quotidiennes, de la compréhension de son environnement et dans le maintien d'un fonctionnement psychologique sain. Il fut démontré à maintes reprises que des difficultés au niveau du traitement émotionnel étaient associées au développement plus fréquent d'une symptomatologie anxieuse et/ou dépressive [15, 16]. Les travaux de Philips mettent en lumière l'implication des émotions et des

circuits neuraux impliqués dans le processus d'analyse et de régulation émotionnel (Phillips et al., 2003). Aussi, certaines études ont permis de déterminer qu'une altération du traitement des émotions pouvait être observée chez les individus présentant un trouble de personnalité limite (Levine et al., 1997), ainsi que chez ceux qui présentent une tendance à générer des attaques de panique (Reinecke et al., 2015). Les fonctions associées aux régions du système limbique et des régions frontales responsables de l'analyse émotionnelle; l'amygdale jouant un rôle dans l'identification de l'émotion ainsi que dans l'adaptation de la réponse au stimuli et le cortex frontal étant impliqué dans la sous-régulation de l'activation de l'amygdale, sont ainsi essentielles au maintien d'une saine santé mentale [17].

L'une des explications plausibles aux difficultés du traitement émotionnel liées aux altérations sérotoninergiques est appuyée par des études en culture cellulaire qui ont permis de constater que le port du polymorphisme, soit la présence de l'allèle court 's' au niveau du gène SLC6A4 chez certains organismes, serait lié à la diminution de l'expression génétique et conduirait potentiellement à l'altération du traitement des stimuli émotifs [18]. Le polymorphisme 5-HTTLPR est une région d'environ 1400bp en amont du site promoteur du gène SLC6A4. Le polymorphisme est connu sous la forme courte ou longue. Il existe peu de littérature concernant la prévalence du polymorphisme dans la population générale, mais les travaux de Chiao et Blizinsky (2010), ont démontré qu'il pourrait exister une coévolution gène-culture entre la fréquence allélique de 5-HTTLPR et les valeurs culturelles de l'individualisme/collectivisme. Ainsi, dans un échantillon asiatique typique, 70-80% des individus seraient porteurs de l'allèle court en comparaison à un échantillon européenne typique où 40-45% des individus sont seraient porteurs de ce polymorphisme (Gelernter et al., 1997).

Chez les animaux, l'influence de certaines altérations sérotoninergiques et neuro-développementales subtiles sur la capacité à traiter et réguler l'information émotionnelle, la réactivité émotionnelle aux facteurs de stress et la vulnérabilité aux troubles de l'humeur et aux troubles anxieux est appuyée par les résultats d'études effectuées chez les rongeurs dits *knock-out*. En effet, les influences pharmacologiques ou génétiques ayant un impact sur le système sérotoninergique lors de périodes critiques furent associées à de potentiels risques de dysfonctionnement émotionnel [19, 20]. L'altération des fonctions relatives à l'expression du

gène est particulièrement associée à une hyperréactivité de l'amygdale face aux stimuli émotionnels [21-23].

Convergente avec ces études, la recherche auprès des humains tend à démontrer que des altérations sérotoninergiques au niveau du gène SLC6A4 pourraient potentiellement influencer le développement et le fonctionnement des régions limbiques impliquées dans différentes fonctions cognitives, notamment la régulation des émotions ainsi que le contrôle de l'impulsivité [21-26]. L'observation de stimuli émotionnels fixes et spécifiques [27, 28], ou encore de stimuli émotionnels en transformation lors d'une séance d'imagerie par résonance magnétique [29-31] permet en effet d'observer que des individus arborant des symptômes psychopathologiques ont une tendance marquée à présenter des modèles d'activation cérébrale altérée, notamment l'hyper-activation de l'amygdale [32-34]. De plus, il a été possible de démontrer que le port de l'allèle court 's' du gène SLC6A4 chez l'humain est possiblement associé à une altération du traitement des émotions, une augmentation de l'activation de l'amygdale lors du traitement de stimuli de valence négative et est ainsi un facteur de vulnérabilité potentiel au développement des symptômes dépressifs [23, 35-37], ainsi qu'à l'hyper-sensibilité aux facteurs de stress [38]. Cependant, malgré l'avancement des connaissances, le mécanisme qui sous-tend le développement de ces troubles reste tout de même incompris.

1.3. Les altérations du système sérotoninergique: Les procédés épigénétiques

La modification des niveaux de sérotonine peut être influencée par différentes composantes. D'abord, comme la synthèse de la sérotonine est en partie dépendante de la quantité de substrats disponibles, les niveaux de tryptophane traversant la barrière hémato-encéphalique sont déterminants. Aussi, les facteurs génétiques et environnementaux doivent être considérés dans l'explication des altérations sérotoninergiques. Au cours des dernières décennies, la façon de penser le rôle de la 5-HT dans les troubles mentaux a été dominée par les modèles d'interaction entre les gènes et l'environnement (G-E). En effet, multiples tentatives ayant pour but d'identifier un gène candidat responsable de l'augmentation du risque de développer un désordre mental furent entreprises, mais l'ensemble de celles-ci ne se sont cependant pas avérées concluantes [6]. En effet, les résultats démontrant une augmentation du risque de développer une psychopathologie en étant porteur d'un polymorphisme génétique (ex:

allèle court du gène SLC6A4) en interaction avec la présence d'adversité [35] ne sont en effet que partiellement reproductibles [39, 40]. Seule l'interaction de l'environnement et de la génétique ne permet donc pas de comprendre pourquoi certains individus sont plus vulnérables au développement de certains désordres mentaux et ainsi, la recherche d'autres explications due être mise de l'avant. L'approche épigénétique, de plus en plus utilisée dans le milieu de la recherche, bien que la reproduction des résultats soit parfois difficile [41], afin d'investiguer l'implication de ces procédés dans le développement et le fonctionnement du cerveau ainsi que dans les troubles psychiatriques est ainsi utilisé dans le cadre de ce travail.

On qualifie d'«épigénétiques» les procédés par lesquels la modification structurelle de l'ADN, suite aux influences environnementales, engendre des altérations à long terme sur le fonctionnement de l'organisme [42, 43][42]. Malgré le fait que la séquence d'ADN soit identique dans tout le corps et à travers toute la vie, l'épigénôme est dynamique et spécifique aux différents tissus [44]. Ces changements épigénétiques ne sont pas présumés comme étant stochastiques tel qu'il en est le cas pour la séquence du gène. Ils reflètent plutôt une réponse globale à une voie de signalisation déclenchée par l'environnement [44]. La méthylation de l'ADN est un procédé épigénétique par lequel certaines bases nucléotidiques d'un gène peuvent être modifiées par l'addition d'un groupement méthyle (CH_3+) sur la cytosine se trouvant sur le site CpG (cytosine-phosphate-guanine) [45]. Une explication plausible implique que l'environnement précoce et les facteurs de stress vécus par l'individu dans la période périnatale façonnent les niveaux de méthylation de certains gènes spécifiques [46]. Afin d'illustrer ce mécanisme, plusieurs études ont démontrées une association entre un historique précoce de trauma et des niveaux de méthylation élevés à certains sites spécifiques du gène SLC6A4 [47, 48]. Ainsi, une faible méthylation favorise la transcription d'un gène et un niveau élevé de méthylation entrainerait l'inhibition. La méthylation des sites CpG d'un gène en entraîne la diminution de l'expression en l'absence de lésions génétiques, résultant en une perte des fonctions relatives similaires aux conséquences possibles de la mutation, la suppression ou le réarrangement [44]. La méthylation de l'ADN conditionne ainsi l'expression des gènes dans chacune des cellules de l'organisme. Bien que la méthylation de l'ADN soit potentiellement réversible par des procédés enzymatiques, il s'agit de la marque épigénétique la plus stable car elle fait partie de la structure chimique de l'ADN-même. Ainsi, le niveau de méthylation d'un

gène présente un excellent potentiel diagnostique en tant que biomarqueur de la fonction du génome altéré. Cette évidence est utilisée dans le domaine médical, plus précisément en oncologie [49-51], mais fait émergence dans le domaine de la recherche en santé mentale depuis quelques années [46].

La méthylation des cellules périphériques ne permet pas de représenter adéquatement la méthylation d'un même gène dans le cerveau étant donné la spécificité de ce mécanisme épigénétique aux différents tissus. Cependant, des études permettent de croire que pour certains gènes, la méthylation des cellules périphériques permet de mieux comprendre les fonctions cérébrales. En effet, dans le cas du gène SLC6A4, un lien entre le modèle de méthylation au niveau des cellules T et des monocytes dans le sang chez des participants adultes et la synthèse in vivo de la sérotonine mesurée via tomographie par émission de positrons (TEP) fut démontré [52], suggérant que la méthylation de SLC6A4 peut potentiellement servir de marqueur des altérations sérotoninergiques cérébrales. Notamment, les niveaux de méthylation des sites CpG spécifiques identifiés (5&6 - 11&12) dans l'étude de Wang et al. pour lesquels une relation fut observée avec le niveau de la synthèse de la sérotonine furent également associés à des volumes hippocampiques plus petit [53] et des réponses neuronales fronto-limbiques augmentées au niveau de l'insula postérieure face aux émotions négatives [54]. De plus, un lien entre les niveaux de méthylation du gène SLC6A4 et la présence de symptômes psychopathologiques suggèrent que la méthylation de ces sites pourrait possiblement servir de biomarqueur potentiel et non-invasif de la vulnérabilité au développement des psychopathologies liées au faible niveau de sérotonine [53-59].

1.4.La réactivité au stress

Il existe plusieurs évidences démontrant que la présence d'adversité précoce de nature génétique et/ou environnementale peut influencer le système sérotoninergique. Ces altérations peuvent augmenter la vulnérabilité d'un individu à développer un trouble de santé mentale et influencer le fonctionnement de celui-ci à long terme [60]. Ces changements peuvent également possiblement mener à des altérations structurelles, fonctionnelles et/ou neurochimiques subtiles dans les circuits cérébraux impliqués dans la régulation des émotions face aux facteurs de stress. Afin d'atteindre l'objectif principal de ce travail de recherche, soit faire la démonstration

que des variations dans les niveaux de méthylation au site spécifique CpG 5-14, et plus spécifiquement 5&6 – 11&12, de la région du promoteur du gène SLC6A4 au niveau des cellules périphériques dans le sang peuvent potentiellement servir d'indicateur non-invasif de la vulnérabilité au développement des désordres associés au faible taux de sérotonine, il est important d'investiguer l'association entre la méthylation et un indice valide de la psychopathologie liée à la 5-HT, soit l'hyperréactivité aux facteurs de stress quotidien. Chez les animaux, une relation fut observée entre des niveaux élevés de méthylation et une hyperréactivité au stress [61]. Chez les humains, l'association entre les niveaux de méthylation et l'hyperréactivité aux facteurs de stress quotidien n'a pas encore été démontrée. Par contre, en plus d'être un facteur de risque au développement de nombreuses maladies telles que les pathologies auto-immunes, l'hyper-tension et les anomalies du coeur [62], les facteurs de stress psychosociaux ont maintes fois été associés au développement de certaines psychopathologies, notamment les troubles psychotiques, la dépression majeure et les troubles psychosomatiques [63, 64]. L'évaluation des niveaux de stress et la chronicité de celui-ci est primordial dans l'étude des impacts du stress quotidien sur le bien-être psychologique et la vulnérabilité au développement de désordres mentaux. En effet, un stress extrême peut avoir des conséquences sur la santé et affecter le système immunitaire, neuroendocrinien, ainsi que le système nerveux central [65]. Certaines études ont aussi démontré un lien entre la chronicité du stress et le développement d'habitudes de vie malsaines telle que l'abus de substances [66]. D'ailleurs, la chronicité d'une demande psychologique trop grande, se produisant en réponse à des facteurs de stress quotidien qui sont ignorés et/ou aux suites d'événements générant un stress sévère peut rapidement entraîner de graves problèmes de santé mentale, augmentant ainsi le risque de développer des complications cardiaques [67, 68].

La façon d'interpréter les facteurs de stress ainsi que les niveaux de réactivité face au stress de la vie courante varient entre les individus et plusieurs hypothèses quant aux facteurs d'influence sont envisageables. Sachant que les régions cérébrales impliquées dans le traitement émotionnel, plus précisément l'amygdale et le cortex préfrontal sont également sollicités dans le processus de réactivité au stress et que le processus de traitement émotionnel est associé au fonctionnement du système sérotoninergique, il est d'autant plus important d'investiguer le rôle de la méthylation des gènes impliqués dans le fonctionnement et le maintien homéostatique du

système sérotoninergique et les liens possibles entre ce procédé épigénétique et les fonctions du cerveau. En associant le profil de la méthylation du gène SLC6A4 de l'individu aux réponses affectives générées face aux facteurs de stress quotidien, ainsi qu'au profil d'activation cérébrale des régions fronto-lobiques lors d'une tâche de traitement émotionnel implicite, il serait possible de déterminer si des niveaux élevés de méthylation de SLC6A4 peuvent servir de marqueurs de la sensibilité au stress quotidien, et ainsi de biomarqueurs potentiels de la vulnérabilité à la psychopathologie liée à la faible tonalité 5-HT.

1.5. Les hypothèses du projet actuel

Ce travail de recherche a comme objectif principal d'investiguer la relation entre la méthylation du gène SLC6A4 et certaines variables identifiées comme jouant un rôle dans le développement de la psychopathologie, et ainsi tenter de déterminer si la méthylation pourrait servir de biomarqueur potentiel de la psychopathologie liée à la faible tonalité en sérotonine. Le rôle des procédés épigénétiques, plus précisément de la méthylation du gène SLC6A4 en tant que biomarqueur potentiel de la vulnérabilité au développement de certaines psychopathologies liées à la faible tonalité en sérotonine. Les hypothèses de ce projet sont d'abord (1) qu'une plus grande méthylation aux sites spécifiques CpG 5-14 du gène SLC6A4, plus précisément des sites jumelés 5&6 et 11&12 précédemment associés à des mesures *in vivo* de 5-HT [52] et à des volumes hippocampiques réduits [53] ainsi qu'à l'activation augmentée de l'insula postérieure face aux émotions négatives [54] serait associée des altérations de l'activation des régions fronto-lobiques en réponse aux stimuli émotionnels négatifs (tristesse, colère et peur) présentés lors d'une tâche de traitement implicite des émotions, et (2) que la méthylation est associée à une grande réactivité aux facteurs de stress quotidien. De plus, il est supposé (3) qu'il existe une association entre les réponses neuronales fronto-lobiques à des stimuli émotionnels et la réactivité comportementale au stress de la vie quotidienne.

CHAPITRE 2

2. Les méthodes

2.1. Les Participants

Afin de tester les hypothèses présentées dans le cadre de ce projet, un échantillon de 22 individus fut recruté à partir d'un groupe présélectionné de 300 individus faisant partie de l'une de deux études longitudinales, soient l'Étude Longitudinale et Expérimentale de Montréal (*ELEM*) ou l'Étude Longitudinale des Enfants de Maternelle au Québec (*ELEMQ*). En plus de leur contribution à la création d'une solide base de données suite à plusieurs évaluations comportementales, psychosociales et biologiques, ces 300 individus ont fourni un échantillon de sang. L'analyse épigénétique de la méthylation de l'ADN au gène *SLC6A4* de ces 300 participants a débuté au printemps 2013.

2.1.1. Cohorte *ELEM*

L'Étude Longitudinale et Expérimentale de Montréal ($N=1053$ hommes) débutait en 1984 avec le recrutement de jeunes garçons dans les établissements préscolaires défavorisés de la région de Montréal dont les parents sont francophones. Le projet initial poursuivait des objectifs de description et de prédiction des difficultés comportementales et d'adaptation chez les enfants de milieux défavorisés [69].

Ces enfants furent suivis annuellement à partir de l'âge de 6 ans. Ceux-ci, ainsi que les membres de leurs familles, autres élèves de leurs classes et professeurs ont répondu à de multiples questionnaires papiers au cours des années. Des évaluations hormonales, anthropométriques, psychophysiologiques, neuropsychologiques et psychiatriques, ainsi que des interventions et des observations en laboratoire ont également été effectués. Au cours des années, une multitude de chercheurs ont contribué aux projets encourus auprès de la cohorte *ELEM*.

2.1.2. Cohorte *ELEMQ*

L'Étude Longitudinale des Enfants de Maternelle au Québec ($N=3185$) est bâtie d'un échantillon d'enfants sélectionnés au hasard proportionnellement selon les 11 régions administratives du Québec et fréquentant une classe de maternelle dans une école publique

francophone entre 1986 et 1988. Les procédures de recrutement et de collecte de données pour cette cohorte sont similaires à celles utilisées pour l'*ELEM*. Contrairement à l'*ELEM*, cette cohorte est cependant composée d'hommes (52%) et de femmes. Initialement, cette deuxième étude longitudinale fut mise sur pied dans le but de décrire les différentes trajectoires développementales des enfants depuis la maternelle jusqu'à leur entrée sur le marché du travail, ainsi qu'examiner les facteurs de risque menant aux échecs scolaires et au développement de comportements antisociaux [70]. Ces jeunes ont été suivis annuellement entre 6 et 12 ans. Ceux-ci ont participé à différentes évaluations de leurs habitudes de vie, à la passation de questionnaires papiers et d'entrevues diagnostiques. Les membres des familles et enseignants ont également participé à la collecte d'informations au cours des années. Aussi, les participants de l'*ELEM* proviennent d'un milieu socio-économique faible, tandis que l'échantillon *ELEMQ* reflète une plus grande variabilité du statut socio-économique.

2.1.3. Critères d'inclusion et d'exclusion

Pour faire partie de l'échantillon sélectionné, les participants devaient d'abord faire partie du groupe de participants épigénotypés (N=300) et donc préalablement avoir fait partie de l'une des deux études longitudinales précédemment citées. Aussi, les participants ne devaient présenter aucun diagnostic de désordres actuels répertoriés sur l'Axe I du DSM-IV (évalué via l'entrevue diagnostique *Structural Clinical Interview for Axis I disorders; SCID-I*) [71] et ne faire utilisation d'aucune médication pouvant potentiellement influencer le fonctionnement cérébral. La décision de ne pas inclure les individus présentant un désordre de l'Axe I se base sur l'explication que la médication généralement consommée en présence d'un tel désordre influence directement les fonctions cérébrales et peut induire un biais considérable quant à la validité des résultats obtenus aux évaluations. De plus, les participants ne devaient être atteints d'aucune maladie neurologique et devaient répondre aux critères d'inclusion relatifs à l'appareil d'imagerie cérébrale tel qu' : aucun métal présent dans le corps, aucune grossesse au moment de l'évaluation, aucun signe de claustrophobie majeure, etc...).

2.2. Les procédures

2.2.1. Recrutement

À partir des résultats aux analyses des niveaux de méthylation de SLC6A4, un membre du personnel de recherche a communiqué avec chacun des participants retenus pour vérifier son intérêt à participer à un nouveau volet de recherche, expliquer en détails les différentes étapes du volet, mentionner les modalités de compensation, répondre aux questionnements du participant et examiner si celui-ci répondait aux critères d'inclusion. Plusieurs questions de l'échelle de dépistage initial du *SCID*, ainsi que certaines questions relatives aux critères d'exclusion de l'imagerie cérébrale furent demandées. Dans le cas où l'individu eu été autorisé à participer, un rendez-vous d'environ 1.5 heures à l'Institut Neurologique de Montréal fut organisé selon les disponibilités du participant et de l'assistante de recherche présente lors de la rencontre. De plus, certaines mises à jour des renseignements sociodémographiques ont pu être effectuées lors de cet appel téléphonique.

2.2.2. Considération éthique

Après avoir pris connaissance des détails et des conditions du présent projet de recherche, chaque individu répondant aux critères d'inclusion et intéressé à participer dû fournir son consentement écrit aux formulaires de consentement approuvés par les comités d'éthique du Centre Hospitalier Universitaire Ste-Justine et de l'Institut Neurologique de Montréal.

2.2.3. Les mesures comportementales

L'entrevue diagnostique

L'entrevue diagnostique *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I)* est basée sur le principe de l'arbre décisionnel [72]. Une section d'introduction a permis d'obtenir de l'information sur l'état général du participant. L'entrevue divisée en neuf modules permet initialement d'identifier 33 diagnostics de l'Axe I. La version française du *SCID* fut utilisée. Aussi, les sections utilisées lors de l'entrevue avec le participant se limitent à l'évaluation des troubles de l'humeur, des désordres d'abus de substance, de la présence des symptômes psychotiques et des troubles anxieux. Le choix de n'inclure que ces sections est relatif au fait que celles-ci reflètent des diagnostics qui font parties des critères d'exclusion à l'étude et qu'il est intéressant d'étudier la présence de symptômes sous-clinique.

Le *SCID* fut utilisé en tant que '*Gold Standard*' dans plusieurs études [73-75] et les indices de fidélité et de validité du *SCID-I* permettent de constater que l'utilisation de cet outil est adéquate ($k = 0.70$ à 1.00) [76-78]. De plus, la validité supérieure du *SCID* fut démontrée par son adhérence à la procédure *LEAD* (Longitudinal assessment, Expert diagnosticians, All Data) dans plusieurs études [73, 79, 80].

Les questionnaires

Afin de contrôler pour la présence de formes sous-cliniques de dépression, ainsi que pour identifier des tendances aux traits de personnalité névrotique pouvant possiblement influencer les perceptions et les niveaux de réactivité face aux facteurs de stress, il fut demandé aux participants de compléter certains questionnaires. La durée de complétion des questionnaires fut d'environ 10 minutes.

a) Inventaire de la Dépression de Beck (IDB)

L'Inventaire de la Dépression de Beck est un questionnaire comportant 21 questions à choix de réponses dont le score total obtenu sur un continuum permet de détecter la présence de symptômes de dépression, ainsi que leur sévérité clinique [81, 82].

L'Inventaire de la Dépression de Beck est couramment utilisé en clinique et en recherche. De nombreuses études psychométriques ont permis de valider l'utilisation de cet outil auprès de différentes clientèles [83, 84]. Cet instrument détient une bonne consistance interne et une bonne stabilité temporelle. La validité concomitante de cet inventaire avec d'autres instruments de mesure de la symptomatologie dépressive est élevée et sa validité discriminante est également admise [85]. Ainsi, il s'agit d'un outil adéquat pour l'évaluation des symptômes relatifs aux troubles de l'humeur chez les participants de cette étude.

b) Questionnaire de Personnalité d'Eysenck – Échelle abrégée névrotisme (QPE)

Le névrotisme est défini comme étant un trait de personnalité important dans le développement de symptômes caractéristiques de la psychopathologie [86], notamment les troubles de l'humeur. Aussi, il a été démontré qu'un score élevé à l'échelle du névrotisme est

lié à une réactivité plus grande du système nerveux sympathique et donc à une plus grande sensibilité aux stimuli externes [87].

L'échelle du névrotisme du QPE est une échelle composée de 12 énoncés ayant pour objectif d'évaluer la fréquence et l'intensité de l'expérience émotionnelle négative. Cette échelle fait partie de la version courte du QPE comprenant 48 énoncés. Les indices de fidélité pour les différentes échelles sont élevés, notamment 0.84 pour l'échelle du névrotisme [27]. La version courte du QPE a été utilisée à de multiples reprises [88, 89] et fut traduite dans plusieurs langues [90].

L'imagerie cérébrale

Lors de leur visite à l'Institut Neurologique de Montréal, les participants ont pris part à une session d'imagerie par résonance magnétique. Avant de débiter la session, le participant dû signer un formulaire certifiant que les conditions d'admissibilité étaient respectées. Aussi, le participant dû enfiler une tenue vestimentaire sans artifice de métal pour éviter toutes interférences avec l'appareil d'imagerie et, par précaution, les femmes ont dû effectuer un test de grossesse et obtenir un résultat négatif pour être éligibles. Les indications concernant la tâche d'identification du genre à effectuer furent données au participant et celui-ci fut alors installé dans l'appareil (couché et immobile). Lorsque celui-ci fut installé confortablement et que toutes les mesures de sécurité furent prises, la session pouvait débiter.

La session consistait en un scan anatomique et à la mesure des réponses neurales fonctionnelles aux stimuli émotionnels faciaux présentés dans un scanner T Siemens TIM Trio. Pour débiter, un court localisateur fut effectué (20 secondes). Un scan anatomique d'une durée de 8 minutes et un tenseur de diffusion d'imagerie (DTI) de 6 minutes, nous informant des liens entre les différentes parties du cerveau furent réalisés [91]. Également, un scan fonctionnel de l'état de repos (6 minutes) fut effectué [92]. Pour cette partie, le participant devait rester immobile et simplement fixer une croix reflétée à l'écran devant lui par un système de miroir. Le deuxième scan fonctionnel (8 minutes) consistait à réaliser une tâche d'identification du genre à partir de visages émotionnels d'hommes et de femmes afin d'évaluer l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite. En général, la session d'imagerie

a duré environ 40 minutes. Dans le cadre de cette thèse, l'intérêt est porté aux données d'imagerie fonctionnelle.

2.3.L'imagerie fonctionnelle et le traitement émotionnel

Pour la session d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, 43 images du cerveau entier ont été créées en utilisant un canal de 32 tête-bobines (multi-coupes gradient echo PEV avec 3,5 mm de résolution isotrope et TR / TE = 2300 / 30ms). Malgré qu'il existe une multitude de tâches permettant d'investiguer l'activation des régions limbiques, soit une hyper-activation de l'amygdale lors du traitement émotionnel, notamment *The Emotional Expression Multimorph Task* où il est explicitement demandé au participant d'identifier l'émotion représentée avant que la transformation de l'image ne soit complète ou la tâche d'identification d'émotion-correspondantes, la tâche d'identification du genre fut retenue dans le cadre de ce projet puisqu'elle est simple à réaliser et suffisamment sensible pour détecter des différences au niveau des fonctions neurales dans une population non-clinique et démontrer leur liens avec le système sérotoninergique et la réactivité au stress. La tâche d'identification du genre, utilisant certains stimuli visuels faciaux d'Ekman (joie, tristesse, colère et peur) [93] est une tâche qui fut utilisée et validée précédemment dans une étude réalisée au laboratoire où les réponses neurales aux stimuli émotionnels étaient mesurées chez une population adolescente [94, 95]. Dans la réalisation de cette tâche, 18 blocs d'images de visages émotionnels ont été présentés au participant. Chaque bloc comprenait 6 essais randomisés (3 visages d'hommes et 3 visages de femmes). Pour chaque essai, le participant devait d'abord fixer une croix à l'écran pendant 1 seconde. Le visage apparaissait ensuite pendant 2 secondes. Le participant devait choisir si le stimulus présenté était de nature masculine ou féminine en appuyant sur la clé correspondante. Le fait de demander au participant d'identifier le genre (masculin/féminin) du visage en faisant abstraction de l'émotion présentée permet de mesurer l'activation de différentes régions cérébrales lors du traitement émotionnel implicite. D'ailleurs, il est reconnu que les stimuli externes provoquent une activation plus grande de l'amygdale que les stimuli internes [96].

2.4.La réactivité au stress quotidien

2.4.1. Le questionnaire en ligne

À la fin de la rencontre à l'Institut Neurologique de Montréal, le participant a reçu les instructions pour la dernière partie du volet de l'étude, soit la complétion du questionnaire en ligne sur le stress quotidien. Ce questionnaire, construit à partir d'autres instruments de mesure utilisés et validés à plusieurs reprises, est composé de 12 énoncés principaux. L'application de l'Évaluation Écologique Momentanée (*Ecological Momentary Assessment*) dans la construction de ce questionnaire permet au participant de rapporter des renseignements sur son niveau de stress, ses affects, ainsi que divers événements dans une période rapprochée de la réalité [97]. En effet, les réponses aux énoncés du questionnaire permettent d'évaluer l'état émotionnel et de stress du participant sur des périodes déterminées de 24 heures pendant cinq jours consécutifs afin de générer une mesure valide de la réactivité émotionnelle au stress quotidien dans les différentes sphères de vie du participant. Les différents énoncés proposent des choix multiples de nature ordinale comme éléments de réponse. Cette technique a précédemment été utilisée dans une étude réalisée par Gouin et al. en 2012 [98]. La version initiale a cependant été adaptée et traduite en français pour les besoins de cette étude. De plus, afin de respecter la confidentialité, chaque participant s'est vu attribuer un code d'identification unique et les données sont gardées confidentiellement sur le serveur protégé de l'Hôpital Ste-Justine.

Le questionnaire en ligne sur le stress quotidien est divisé en plusieurs échelles mesurant différentes composantes liées à la réactivité émotionnelle face aux facteurs de stress. Quatre échelles sont davantage d'intérêt dans le cadre de ce projet. Ces échelles sont définies dans la prochaine section du document.

Échelle 1 : Les affects négatifs

Le premier énoncé du questionnaire auquel devait répondre les participants relate de la fréquence à laquelle ceux-ci ont ressentis différentes émotions sur une période de 24 heures. L'énoncé présente une liste de 8 états d'esprit émotionnels dont quatre de valence positive (Heureux, Enthousiaste, Énergétique, Déterminé) caractérisant un état d'esprit actif et alerte, ainsi que 4 à connotation négative (Irritable, Triste, Nerveux, Embarrassé) représentant la dimension de la détresse subjective et les états aversifs tels que la colère, la tristesse, le dégoût,

la peur, etc. La terminologie affective utilisée dans ce premier énoncé est empruntée au PANAS (Positive And Negative Affect Schedule) [99].

Il a été démontré que le fait de vivre des affects positifs à une fréquence élevée est positivement corrélé avec le bien-être émotionnel global, ainsi qu'avec un maintien des fonctions cognitives, sociales et physiques [100, 101]. De plus, présenter peu d'affects positifs et une fréquence élevée des états émotionnels négatifs, soit la colère, la tristesse, la peur et le dégoût, sont respectivement des facteurs potentiellement impliqués dans la vulnérabilité au développement des troubles de l'humeur et des troubles anxieux [102]. Également, les affects négatifs sont fortement liés avec des niveaux élevés de stress auto-rapportés [103], une difficulté d'adaptation plus grande face aux facteurs de stress, ainsi qu'une fréquence plus élevée d'événements déplaisants dans le quotidien de l'individu [99]. Il est ainsi primordial d'en mesurer la fréquence et les impacts.

Échelle 2 : L'exposition et la sévérité

Les facteurs de stress quotidiens sont caractérisés comme étant des événements mineurs vécus dans l'environnement et l'entourage proximaux auxquels l'individu doit faire face sur une base régulière. Une journée stressante peut être générée par un facteur de stress unique ou par l'accumulation de plusieurs événements. Aussi, la nature des situations de stress, ainsi que la sévérité de la réponse émotionnelle aux événements peut différer.

La seconde échelle du questionnaire en ligne regroupe 6 énoncés (énoncés 3 à 9). Chacun des énoncés met en scène un événement stressant dans l'une des sphères de vie du participant tel que le travail, la vie familiale, la vie sociale ou marital, etc. Ce type d'énoncés et de choix de réponse permet d'obtenir une mesure de la présence ou l'absence d'événements stressants, leur nature, ainsi que la sévérité du niveau de stress encouru sur une période de 24 heures. Dans le cas où l'énoncé ne représente aucune situation survenue, le participant peut répondre *Non*. Les choix de réponse relatif au niveau de stress sont ; *Très peu de stress, Un peu de stress, Modérément de stress et Beaucoup de stress*.

Cette échelle du questionnaire s'inspire de l'entrevue semi-structurée ; le DISE (*Daily Inventory of Stressful Event*), conçue pour la classification et l'évaluation des facteurs de stress quotidien [104]. Il fut démontré qu'un score élevé au DISE, notamment pour les énoncés présentant des facteurs de stress interpersonnels et/ou des situations stressantes impliquant un membre de l'entourage, est fortement lié au développement des troubles de l'humeur et de santé mentale [105]. La structure originale du DISE fut légèrement modifiée et adaptée pour la construction du questionnaire en ligne utilisé dans le cadre de ce travail de recherche.

Échelle 3 : Détresse chronique et demandes psychologiques

Le dixième énoncé du questionnaire en ligne, composé de trois sous-questions, permet une mesure de la chronicité du stress et de la charge psychologique vécues par l'individu dans les 24 dernières heures. Il est demandé au participant de déterminer dans quelle mesure ; *Très peu, Un peu, Moyennement, Beaucoup, Extrêmement*, il a dû 1) Travailler fort, 2) Travailler vite et 3) Prendre en charge plusieurs choses en même temps.

Échelle 4 : Rumination

La dernière échelle d'intérêt du questionnaire en ligne sur le stress quotidien porte sur la tendance à la rumination, un processus cognitif identifié comme étant un facteur prédictif potentiel du développement des troubles de l'humeur et des troubles anxieux [106, 107]. Cette dernière partie du questionnaire est basée sur *The Ruminative Responses Scale* (RSQ). Cette échelle d'évaluation comprend initialement 22 items. Dans la construction du questionnaire en ligne, 8 de ces énoncés décrivant des états d'esprit de remise en question, d'inquiétude et de culpabilité excessive ont été retenus tel que ; *Je me suis demandé pourquoi je réagis toujours de cette manière* et *Je me suis demandé pourquoi je n'arrive pas à mieux composer avec les événements*. Pour chacun des énoncés, le participant doit indiquer à combien de reprises il a raisonné de cette façon. Les choix de réponse proposés sont ; score de 0 : *Jamais*, 1 : *À peu de reprises*, 2 : *À quelques reprises*, et 3 : *À plusieurs reprises*. Un score total de la tendance à la rumination peut ainsi être obtenu. La corrélation entre cette échelle et l'Inventaire de Dépression de Beck (IDB) est de 0.67 [107]. Des études de validation ont démontré que la RSQ présentent une validité convergente et prédictive acceptable [108, 109].

2.5. Les niveaux de méthylation

Les données quant aux niveaux de méthylation de l'ADN évalués à partir des échantillons de sang entier ont été extraites et analysées en utilisant le pyroséquençage, effectué à grande échelle de manière rentable en utilisant le test développé et optimisé pour le promoteur SLC6A4 dans une étude précédemment effectuée au laboratoire [110]. Notamment, pour investiguer le modèle de méthylation dans la région cible 214 à 625 pb en amont du promoteur du gène SLC6A4, trois ensembles d'amorces externes et quatre ensembles d'amorces nichées précédemment identifiées [110] ont été utilisées. Le pourcentage de méthylation à chaque site CpG spécifique a été analysé à l'aide du logiciel PyroMark Q24 (Société Qiagen). Dans la présente étude, nous avons ciblé les sites CpG 5-14, en particulier les sites conjoints 5&6 et 11&12, puisqu'il a été démontré que la méthylation de ces sites est associée à des mesures in vivo de la synthèse 5-HT dans le cerveau [52]. Aussi, il existe une association entre la méthylation de ces sites et le volume de l'hippocampe indiquant ainsi que la méthylation de ceux-ci semble influencer le développement de l'hippocampe pouvant potentiellement augmenter la vulnérabilité au développement de troubles psychopathologiques liés au stress [111]. Également, des niveaux plus élevés de méthylation du gène SLC6A4 étaient associés à des différences significatives du signal BOLD de certaines régions fronto-lobales, notamment l'hyper-activation du cortex insulaire antérieur gauche et de l'opercule frontal inférieur gauche lors du traitement des émotions négatives [112]. Ainsi, il est possible de croire que les niveaux de méthylation en périphérie seraient potentiellement associés aux fonctions et à la structure des régions du cerveau impliquées dans la régulation des émotions et du stress.

2.6. Les analyses et statistiques

2.6.1 Analyses de régression

Les données d'activation neurale produites via l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle durant la tâche d'identification du genre ont été analysées à l'aide du programme *Statistical Parametric Mapping* (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London UK). Ce programme met en œuvre un modèle à effets linéaire-mixtes sur le volume cérébral et le moment de l'analyse générant des contrastes de variation du signal fMRI *Blood Oxygenation Level-Dependent* (BOLD) entre les conditions émotionnelles présentées. Des analyses intra-individuelles de premier niveau ont été effectuées afin de calculer un contraste à chaque voxel

pour chaque émotion (activation émotion – activation neutre). Les images du cerveau de tous les participants ont été corrigées pour les différences temporelles d'acquisition des tranches et réalignées afin de corriger pour les mouvements subtils de la tête. Aussi, les images ont été co-référencées avec l'analyse structurelle, normalisées dans un espace stéréotaxique EPI (modèle MNI) et traitées par convolution avec un noyau gaussien isotrope 3D à 7mm FWHM afin d'améliorer le rapport signal-sur-bruit et corriger pour des différences mineures dans l'anatomie des neurones des participants. Le seuil d'activation dans l'ensemble du cerveau a été fixé à $p < 0.001$ et des grappes d'étendue spatiale d'au moins 20 voxels contigus ont été formées. Des corrections mineures du volume ont été effectuées dans les régions d'intérêt définies a priori: l'amygdale, l'hippocampe, le cortex cingulaire antérieur, l'insula, ainsi que le cortex préfrontal supérieur, médian et orbital.

Des analyses de régression de l'activation du cerveau en réponse aux contrastes émotionnels (ex. tristesse – neutre) spécifiques indépendamment sur la moyenne de la méthylation et les scores de réactivité au stress quotidien obtenus à partir des données du questionnaire en ligne ont été effectuées pour chacun des participants.

2.6.2. Analyses corrélationnelles

Des analyses corrélationnelles ont aussi été effectuées afin d'observer les relations entre les scores aux différentes échelles du questionnaire sur la réactivité au stress quotidien. Des corrélations ont été générées entre les scores des sous-échelles d'intérêt du questionnaire de réactivité au stress quotidien, les scores au questionnaire IDB et QPE, ainsi qu'avec les niveaux de méthylation de chaque participant. Aussi, l'utilisation du Test-t de Student pour comparaison de moyennes fut employé pour vérifier si des différences significatives étaient observables entre les sexes.

CHAPITRE 3

3. Les résultats

3.1. Caractéristiques de l'échantillon

Les statistiques descriptives sont basées sur un échantillon d'hommes et de femmes provenant de l'Étude Longitudinale et Expérimentale de Montréal et de l'Étude Longitudinale des Enfants de Maternelle au Québec. Les variables respectent une distribution selon les postulats de base. L'échantillon demeure relativement petit, mais tout de même considérable étant donné la nature de l'étude. Les niveaux moyens de la méthylation totale, dont il fut également décidé d'analyser indépendamment les sites 5&6 et 11&12 [111, 112], ainsi que les scores moyens aux échelles de symptomatologies dépressives et de névrotisme ont été déterminés et sont présentés dans le Tableau 1. Les moyennes et écarts-type des scores aux échelles *Affects négatifs*, *Exposition*, *Sévérité*, ainsi que *Détresse chronique/demandes psychologiques* et *Rumination* du questionnaire de réactivité au stress quotidien sont également présentées dans le Tableau 1. Les résultats au Test-t de Student ont montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les sexes pour aucun des résultats obtenus aux échelles du questionnaire en ligne, ainsi que pour les questionnaires IDB et QPE. Les analyses présentent un coefficient *Cohen's d* de 2.639.

	Nombre de participants	Pourcentage		
ELEM	15	65.21		
ELEMQ	7	34.79		
Hommes	11	50		
Femmes	11	50		
			Moyenne	Écart-type
Âge			33.96	1.5

Mesures comportementales

Échelle dépression Beck	3.26	3.5
Échelle névrotisme EPQ	1.78	2.0

Échelles du questionnaire de la réactivité au stress quotidien

Affects négatifs	0.60	0.4
Exposition	1.20	1.2
Sévérité	1.00	1.0
Chronicité	5.60	1.7
Rumination	0.40	0.4

Pourcentage de méthylation

Total	3.28	1.3
Sites 5&6*	6.34	3.4
Sites 11&12**	2.97	1.2

Tableau 1. Caractéristiques descriptives de l'échantillon

*Les données de la méthylation des sites 5&6 sont basées sur un échantillon de 20 sujets

** Les données de la méthylation des sites 11&12 sont basées sur un échantillon de 21 sujets

3.2. Les résultats de régression

Le niveau d'activation neurale, en tant que réponse physiologique au contenu émotionnel, est mesuré via la tâche d'identification du genre réalisée par les participants lors de la séance d'imagerie par résonance magnétique. Cette technique permet la mesure de l'activation cérébrale spécifique à chacun des stimuli émotionnels. La présentation de visage neutres et de visages émotifs permet de calculer le contraste BOLD pour chacune des émotions, soit par la soustraction de l'activation face aux stimuli neutres à l'activation cérébrale observée lors de la présentation de stimuli émotifs spécifiques. Les hypothèses de ce projet suggèrent une différence significative du signal BOLD face aux stimuli faciaux d'émotions négatives sur un minimum de 20 voxels regroupés pour un $p \leq 0.001$. Les barres des couleurs présentent les valeurs T aux coordonnées cérébrales (x,y,z) où la différence d'activation est maximale.

3.2.1. La méthylation de *SLC6A4* et l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite

Des analyses de régression linéaires ont été effectuées entre les niveaux de méthylation dans les trois conditions d'analyse (méthylation totale, méthylation des sites conjoints 5&6 et méthylation des sites conjoints 11&12), ainsi que le contraste BOLD aux modalités émotionnelles d'intérêt ; la colère, la tristesse et la peur calculé en comparaison avec l'activation cérébrale observée face au stimuli faciaux neutre. Les résultats statistiques obtenus démontrent une désactivation significative au niveau du gyrus précentral face à la peur ($t=5.84$, $k=132$, $p=0.032$, coordonnées valeur maximale (-58 -16 42)) : lorsque tous les sites (5-14) méthylés sont pris pour compte. Lorsque les analyses sont effectuées sur les données des sites 5&6 exclusivement, une différence significative négative du signal BOLD est identifiée au niveau du gyrus fusiforme gauche ($t=5.72$, $k=152$, $p=0.035$, coordonnées valeur maximale (-38 -40 -18)) lorsque des stimuli émotionnels de tristesse sont présentés.

Aucune différence significative du signal BOLD ne fut identifiée suite aux analyses de régression des conditions émotionnelles sur les niveaux de méthylation des sites conjoints 11&12.

Figure 1. Désactivation significative du gyrus précentral. Régression de la méthylation moyenne obtenue à partir de tous les sites CpG (5-14) face aux stimuli de peur.

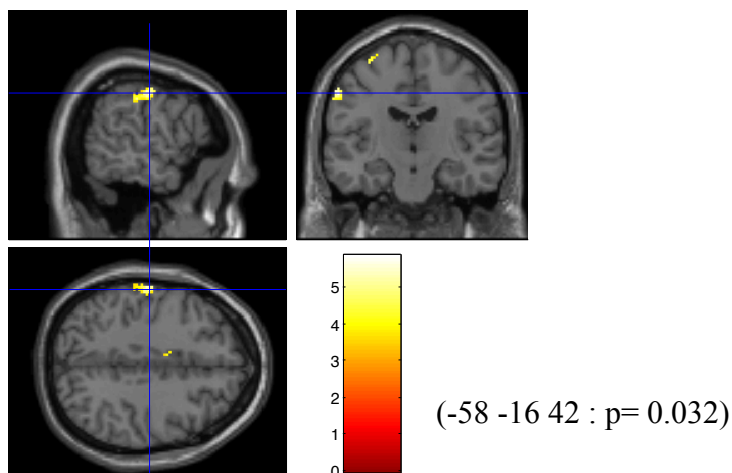
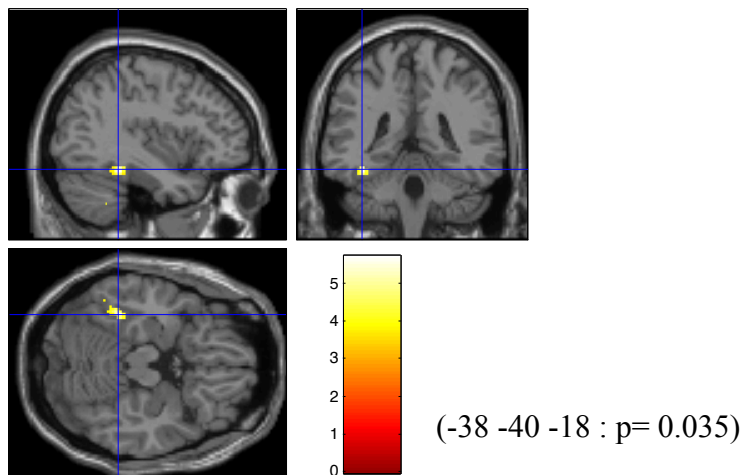


Figure 2. Désactivation significative du gyrus fusiforme gauche. Régression de la méthylation moyenne obtenue à partir des sites CpG 5&6 face aux stimuli de tristesse.



3.2.2. L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite et la réactivité au stress quotidien

Des analyses de régression linéaire ont également été effectuées entre les scores obtenus aux échelles *Affects négatifs*, *Exposition et Sévérité*, *Détresse chronique et demandes psychologiques*, ainsi que *Rumination* du questionnaire de réactivité émotionnelle face aux facteurs de stress quotidien et le contraste BOLD calculé pour les émotions de colère, de tristesse et de peur.

Une désactivation des régions pariétales ; précuneus gauche ($t=4.92$, $K=158$, $p=0.22$, coordonnées valeur maximale (-22 -76 38)) et du cortex cingulaire postérieur ($t=6.94$, $k=44$, $p=0.004$, coordonnées valeur maximale (44 -68 38)) furent observées sous la condition émotionnelle de la tristesse pour les scores obtenus à l'échelle de la *Détresse chronique et demandes psychologiques*.

Figure 3. Désactivation significative du Précuneus. Régression du score moyen à l'échelle *Détresse chronique et demandes psychologiques* face aux stimuli de tristesse.

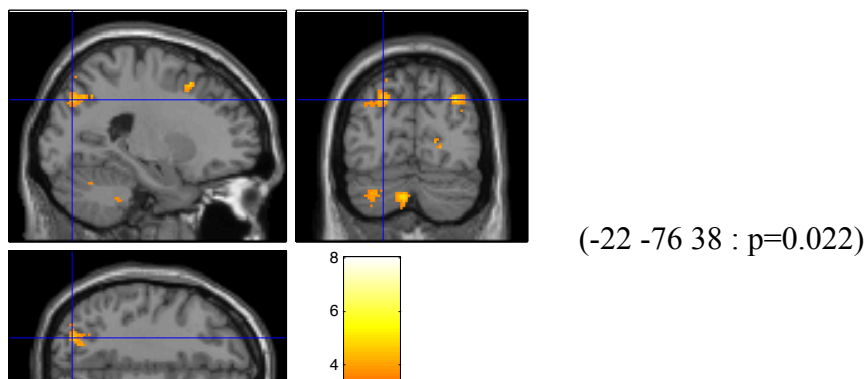
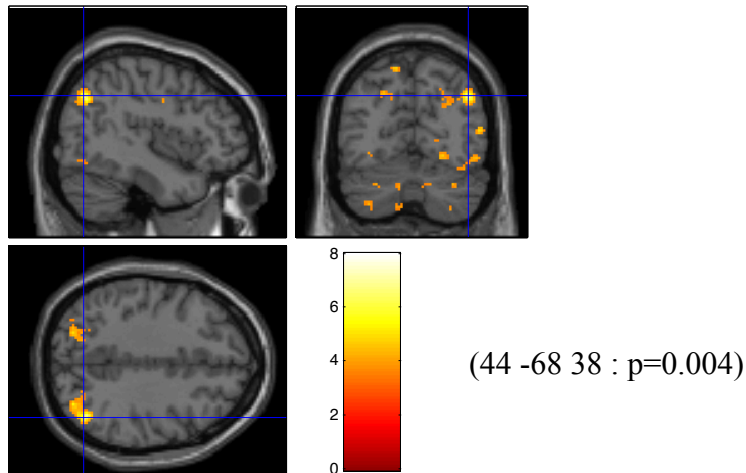


Figure 4. Désactivation significative du cortex cingulaire postérieur. Régression du score moyen à l'échelle *Détresse chronique et demandes psychologiques* face aux stimuli de tristesse.



Aucune activation/désactivation cérébrale ne s'est avérée significative lorsque les scores aux échelles d'*Exposition* et *Sévérité* du stress, ainsi que *Rumination* furent régressés sur chacune des modalités émotionnelles.

3.3. Les résultats corrélacionnels

3.3.1. La méthylation de *SLC6A4* et la réactivité aux facteurs de stress quotidien

Des analyses corrélacionnelles ont également été effectuées entre les niveaux de méthylation des participants et les résultats obtenus aux échelles du questionnaire sur le stress quotidien. La somme moyenne de méthylation pour tous les sites d'intérêt du gène, corrélée aux scores obtenus au questionnaire de réactivité au stress quotidien ne révèle aucune corrélation significative. Aussi, aucune corrélation significative ne fut identifiée entre les niveaux de méthylation des sites conjoints 5&6 et les résultats au questionnaire en ligne. Des corrélacions significatives entre les niveaux de méthylation des sites 11&12 et les différentes échelles du questionnaire sur la réactivité au stress quotidien, ainsi qu'à l'IDB ($r = 0.463$, $p \leq 0.05$) ont été identifiées. Précisément, la méthylation des sites 11&12 corrélient avec les échelles *Affects négatifs* ($r = 0.539$, $p \leq 0.05$), *Exposition* ($r = 0.484$, $p \leq 0.05$) et *Sévérité* ($r = 0.463$, $p \leq 0.05$). Ces corrélacions sont présentées dans le Tableau 2. Également, les diagrammes de points représentant les corrélacions significatives sont présentés en Annexe.

Les résultats à l'échelle du névrotisme du QPE ont également été corrélés avec les différents niveaux moyens de méthylation calculés. Aucune de ces dernières analyses ne s'est avérée significative.

Tableau 2. Analyses corrélacionnelles entre les niveaux de méthylation, les scores de réactivité au stress quotidien et les résultats à l'Inventaire de la Dépression de Beck.

	Z ₁	Z ₂	Z ₃
X ₁	0.177	0.062	0.539*
X ₂	0.019	- 0.084	0.484*
X ₃	0.080	- 0.007	0.447*
X ₄	0.098	0.180	- 0.048
X ₅	- 0.002	- 0.007	0.348
Y ₁	- 0.129	- 0.195	0.463*
Y ₂	- 0.232	- 0.285	0.418

3.3.2. Les facteurs d'évaluation de la réactivité au stress quotidien

Les échelles d'intérêt du questionnaire de réactivité aux facteurs de stress quotidien décrites précédemment ont fait l'objet d'analyses corrélacionnelles afin de définir quelles dimensions (présence d'affects négatifs, niveau d'exposition aux facteurs de stress quotidien, niveau de sévérité des réactions émotionnelles au stress, chronicité du stress et tendance à la rumination) sont corrélées entre elles, ainsi qu'avec les résultats à l'Inventaire de la Dépression de Beck et les données recueillies à l'échelle du névrotisme du Questionnaire de Personnalité d'Eysenck. Ces résultats sont présentés au Tableau 3 en Annexe.

CHAPITRE 4

4. La discussion

L'objectif initial de ce projet est de définir le rôle potentiel de la méthylation du gène SLC6A4 en tant que marqueur biologique non-invasif de la vulnérabilité au développement de psychopathologies pour lesquelles la sérotonine joue un rôle important. Plus précisément, il fut supposé l'existence d'une association entre des niveaux élevés de méthylation de SLC6A4 et l'activation plus grande des régions fronto-lobiques face aux stimuli émotionnels négatifs visualisés lors d'une tâche de traitement émotionnel implicite ainsi qu'à une réactivité émotionnelle plus grande face aux facteurs de stress quotidien. De plus, une relation était attendue entre l'activation cérébrale significative des régions fronto-lobiques impliquées dans le traitement émotionnel et les niveaux de réactivité aux facteurs de stress quotidien.

4.1. Le niveau de méthylation SLC6A4 et l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel

Jusqu'à ce jour, quelques études semblent avoir examiné le lien entre les modifications épigénétiques du gène transporteur de la sérotonine et le fonctionnement cérébral chez des adultes en santé [54, 59]. Ces travaux ont démontré que des niveaux plus élevés de méthylation du gène SLC6A4 semblent associés à une plus grande activation cérébrale, notamment des régions fronto-lobiques, plus spécifiquement de l'amygdale face à la menace. Malgré la discordance avec les résultats obtenus dans ce travail de recherche dont les résultats ne présentent aucune activation cérébrale significativement différente au niveau de l'amygdale, un niveau de méthylation plus élevé fut précédemment associé à des perturbations du fonctionnement neuronal [113].

Afin de mieux comprendre le rôle de la méthylation, les niveaux moyens des sites CpG 5-14 furent comptabilisés et analysés en relation avec l'activation cérébrale lors du traitement émotionnel. La moyenne de la méthylation de tous les sites CpG d'intérêt pour ce projet permit également de prédire une activation réduite du gyrus précentral gauche face à la peur. Ce résultat concorde avec les hypothèses émises puisqu'en effet, faisant partie intégrale des aires motrices primaires et en tant que région proéminente du lobe frontal [114], le gyrus précentral voit son fonctionnement grandement modulé par l'attention accordée à la tâche d'exécution en cours

[115]. De plus, le gyrus précentral fut identifié comme étant l'une des structures cérébrales majoritairement impliquée dans le traitement de la peur [116]. Il en va donc de soi d'observer une différence significative au niveau de son activation face aux stimuli présentant une expression de peur. Aussi, une plus grande méthylation étant associée à des perturbations neuronales [113], une méthylation plus élevée est susceptible de prédire une réduction de l'activation du gyrus précentral.

Les analyses associant les différents niveaux de méthylation du gène SLC6A4 et l'activation des régions cérébrales impliquées dans le traitement émotionnel ont présenté des résultats intéressants pour la compréhension du rôle de la méthylation dans la vulnérabilité au développement des psychopathologies. En effet, des niveaux élevés de la méthylation des sites CpG 5&6 de la région promoteur du gène SLC6A4 ont su prédire une réduction de l'activation du flux sanguin dans le gyrus fusiforme gauche face à la tristesse. Ce résultat, étonnamment, ne concorde ni avec les hypothèses de ce projet, ni avec la littérature scientifique puisqu'une augmentation de l'activation du gyrus fusiforme est généralement associée au traitement des visages [117]. Ainsi, cette réduction de l'activation cérébrale du gyrus fusiforme face aux stimuli faciaux de tristesse pourrait représenter une altération du fonctionnement cérébral via un niveau élevé de méthylation du gène SLC6A4 et ainsi valider une investigation plus vigoureuse.

4.2.L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel et le niveau de réactivité aux facteurs de stress quotidien

Les analyses de régression ont démontré des différences significatives du signal BOLD pour quelques-unes des conditions étudiées. Bien que les analyses ne démontrent pas d'activation significativement altérée au niveau de l'amygdale, plusieurs associations entre l'activation cérébrale régionale face aux différents stimuli émotionnels et les résultats obtenus aux différentes échelles d'évaluation de la réactivité aux facteurs de stress sont observées. Certaines sont en accord avec les hypothèses présentées, tandis que d'autres offrent de nouvelles explications potentielles du risque de développer certaines psychopathologies liées à la faible tonalité sérotoninergique.

Tout d'abord, un plus haut score à l'échelle des *Affects Négatifs* a permis de prédire une réduction de l'activation du gyrus frontal moyen face aux stimuli de joie. Ce résultat concorde avec les hypothèses énoncées précédemment et est également supporté par les résultats d'autres études d'imagerie cérébrale. En effet, un projet ayant recours à la tomographie par émission de positrons examinant la relation entre la tendance à ressentir des émotions négatives et l'activation cérébrale chez les individus en santé [118] a permis de déterminer que le flux sanguin cérébral, indicatif de l'activité régionale, dans le cortex préfrontal médian est corrélé avec les scores mesurant la fréquence d'affects négatifs. Une autre étude a également investigué les processus neuronaux de certains patients atteints de troubles de l'humeur et de participants contrôles via l'imagerie par résonance magnétique [119]. Comparativement aux patients psychiatriques, les participants contrôles ont présentés une plus grande activation du gyrus frontal moyen lors de l'exécution d'une tâche cognitive. Compte tenu de ces résultats, il est possible de croire que la plus grande présence d'affects négatifs, connue telle l'une des composantes des troubles de l'humeur est associée à la désactivation du gyrus frontal moyen. Ce résultat obtenu à partir des analyses effectuées permet de mettre en lumière une altération du fonctionnement cérébral liée à la vulnérabilité aux troubles de l'humeur.

Aussi, il fut possible de déterminer que les scores de la tendance à la rumination en relation avec l'activation cérébrale obtenue face aux stimuli de joie tend à prédire une activation réduite du gyrus cingulaire antérieur droit dans des proportions près du seuil de la signification ($p = 0.056$). Suite à une recherche dans la littérature, une seule autre étude d'imagerie par résonance magnétique semble avoir examiné la relation entre la tendance à la rumination et l'activation cérébrale lors du traitement de stimuli émotionnels [120]. Cette étude effectuée auprès d'individus en santé et d'individus en rémission de dépression majeure a su démontrer que les individus en rémission d'épisodes dépressifs présentaient une activation réduite des régions limbiques face aux stimuli de joie. Bien que l'étude actuelle soit conduite auprès d'une population exclusivement en santé, les résultats obtenus concordent avec ceux de l'étude de Thomas (2011) puisque le gyrus cingulaire antérieur fait partie intégrante du système limbique [121].

Également, les résultats à l'échelle de la *Détresse chronique et demandes psychologiques* du questionnaire en ligne sur la réactivité aux facteurs de stress quotidien ont permis de démontrer qu'une fréquence élevée de stress et qu'un stress chronique est associé à une activation réduite du précuneus pariétal bilatéral et du gyrus cingulaire postérieur gauche face à la tristesse. Bien que ces résultats ne concordent pas avec les hypothèses précédemment énoncées dans ce travail, ceux-ci concordent avec certaines conclusions tirées d'autres études d'imagerie cérébrale. En effet, pour ne nommer que l'une de ces études, les travaux de Briceno [122], examinant le circuit cérébral impliqué dans le traitement des émotions chez des adultes atteint de dépression majeure illustrent que comparativement aux participants contrôles, ces individus présentent une activation réduite du précuneus lors du traitement de stimuli visuels faciaux émotionnels.

4.3.L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel implicite positif

La moyenne de la méthylation de tous les sites CpG d'intérêt du gène SLC6A4 a également permis de prédire une activation réduite du lobule pariétal inférieur gauche face aux stimuli faciaux de joie. Bien que ce résultat ne concorde pas avec les hypothèses initiales de ce projet, il appuie les résultats de plusieurs travaux d'imagerie cérébrale, d'électrophysiologie et d'études de lésions. En effet, ces études ont démontrées que le lobule pariétal inférieur joue un rôle important dans le maintien du contrôle de l'attention sur les objectifs de la tâche en cours et dans la réactivité de l'organisme face aux stimuli environnementaux saillants [123-125]. Connaissant cette fonctionnalité du lobule pariétal inférieur, il est possible d'admettre son implication dans l'exécution de la tâche d'identification du genre lors de laquelle les participants recrutés devaient se concentrer sur des stimuli émotifs saillants afin d'en identifier le sexe.

4.4.L'activation cérébrale lors du traitement émotionnel et la symptomatologie dépressive

Dans l'étude des relations entre les scores obtenus à l'Inventaire de Dépression de Beck et l'activation cérébrale lors d'une tâche de traitement émotionnel, il fut observé qu'un score élevé à l'IDB aurait tendance à prédire une plus grande activation du gyrus frontal moyen gauche face à la joie. Bien que ce résultat ne concorde pas avec les hypothèses émises, il est parfaitement en accord avec les résultats d'autres études d'imagerie cérébrale conduites auprès

de populations en santé. Ces travaux de recherche ont montré que le gyrus frontal moyen est fortement impliqué dans le traitement des informations émotionnelles incohérentes, incluant les paroles et les émotions [126-128]. À la lumière de ces résultats, il est possible de croire que l'activation du gyrus frontal moyen serait potentiellement plus saillante chez les individus qui ont une tendance générale plus marquée à percevoir les événements et les stimuli de façon négative lors de la présentation de stimuli émotionnels de joie puisqu'il s'agit d'informations émotionnelles contradictoires.

Les scores plus élevés à l'échelle de dépression ont également prédit une plus grande activation du cuneus gauche face à la tristesse. Bien que ce résultat ne concorde pas avec les hypothèses de ce projet et qu'il soit en discordance avec les résultats obtenus dans d'autres études d'imagerie cérébrale indiquant une activation diminuée du cuneus chez la population dépressive [129-131], il reflète tout de même l'implication du cuneus dans le développement de la dépression chez les individus à risque.

4.5. Le niveau de méthylation SLC6A4 et la réactivité aux facteurs de stress quotidien

Les corrélations positives identifiées entre les niveaux de méthylation des sites conjoints 11&12 du gène SLC6A4 et les échelles *Affects négatifs*, *Exposition et Sévérité* du questionnaire en ligne sur la réactivité émotionnelle aux facteurs de stress de la vie quotidienne permettent de considérer l'hypothèse que la présence d'un niveau de méthylation plus élevé serait potentiellement un facteur prédicteur de la tendance à répondre plus fortement de manière émotionnelle aux facteurs de stress. Cette association, en accord avec nos hypothèses est l'une des premières à démontrer le lien entre les différents niveaux de méthylation et la réactivité émotionnelle aux facteurs quotidiens de stress chez l'humain. Également, bien que cette étude ne puisse établir de relation causale, l'association positive entre les niveaux de méthylation et le score à l'IDB laisse croire que la méthylation de SLC6A4 est en fait l'un des facteurs d'influence potentiellement impliqué dans la vulnérabilité au stress.

Des analyses corrélationnelles entre les échelles de mesure de la réactivité au stress quotidien et les niveaux de méthylation ont également permis d'observer une relation positive entre la tendance à vivre des affects négatifs, la présence élevée de facteurs de stress quotidien, la sévérité du niveau de stress engendré par les événements quotidiens, la présence de

symptômes dépressifs et le niveau moyen de méthylation des sites spécifiques CpG 11&12 du gène SLC6A4 analysé à partir du sang. La méthylation de SLC6A4 aux sites 11&12 conjoints serait ainsi potentiellement liée à une plus grande réactivité émotionnelle aux facteurs de stress quotidien. Ici, la méthylation des sites 5&6 ne présente aucune corrélation significative avec les autres échelles de mesure tandis qu'un niveau élevé de méthylation de ces sites fut corrélé avec une tendance aux comportements d'agressivité précédemment dans d'autres études [110]. Il est ainsi intéressant de se questionner sur le rôle indépendant des différents sites spécifiques du gène SLC6A4 dans la vulnérabilité au développement des troubles extériorisés et intériorisés. Les résultats aux analyses effectuées portent à croire, en accord avec les hypothèses énoncées, qu'une méthylation plus élevée des sites 11&12 du gène SLC6A4 pourrait potentiellement servir de marqueur biologique de la réactivité émotionnelle marquée face aux facteurs de stress de la vie courante et de la vulnérabilité au développement de troubles de l'humeur telle que la dépression majeure; l'un des désordres intériorisés dans lequel la sérotonine joue un rôle crucial.

4.6.Conclusions

À la lumière des résultats obtenus et d'une recherche exhaustive dans la littérature, les conclusions tirées des multiples études d'imagerie cérébrale sur le Syndrome de Stress Post-Traumatique (SSPT) s'avèrent d'un grand intérêt. En effet, plusieurs études d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez les adultes présentant un diagnostic de SSPT [132] ont permis d'identifier une association entre le SSPT et le fonctionnement altéré du circuit fronto-limbique, notamment une activation atténuée du gyrus frontal médial et du gyrus cingulaire antérieur. Une autre étude d'imagerie cérébrale examinant le fonctionnement du circuit impliqué dans le traitement d'émotions chez les individus diagnostiqués avec SSPT [133] a démontré une corrélation positive entre les symptômes du SSPT chez l'adulte et l'activation du gyrus frontal inférieur, du gyrus préfrontal ventromédian, du gyrus cingulaire antérieur et du lobule pariétal inférieur en réponse aux stimuli émotionnels. À l'inverse, une activation atténuée des mêmes régions était trouvée chez les adultes avec SSPT lorsqu'ils étaient en cours d'exécution d'une tâche cognitive. Globalement, les activations régionales trouvées dans notre étude semblent faire partie intégrale d'un grand circuit cérébral associé avec les symptômes reliés au stress et les fonctions cognitives, ce qui concorde avec notre hypothèse principale.

4.7. Statistiques corrélationnelles de l'outil de mesure

À titre indicatif, les corrélations de Pearson effectuées entre les échelles du questionnaire sur la réactivité aux facteurs de stress présentées au Tableau 3 en Annexe ont démontrées une bonne cohérence interne de l'outil. Seule une des échelles du questionnaire, soit *Détresse chronique et demandes psychologiques*, ne semble cependant corrélée avec aucune autre dimension évaluée indiquant peut-être que la chronicité d'un stress n'est pas nécessairement liée à une éventuelle détresse. D'ailleurs, l'échelle de la chronicité du stress est liée négativement avec les échelles de symptomatologie dépressive et de névrotisme. Aussi, cette échelle qui propose des énoncés relatifs aux facteurs de stress au travail seulement, n'évalue peut-être pas adéquatement la variable étudiée. Également, aucun lien significatif entre les échelles du questionnaire sur la réactivité au stress et l'échelle de névrotisme ne fut identifié, bien que certaines études démontrent que le névrotisme représente un facteur de risque au développement de certaines psychopathologies [134] et que des individus présentant un score élevé de névrotisme seraient enclin à vivre des situations stressantes plus fréquemment, ainsi qu'à générer des réponses émotionnelles plus grandes [135]. Le névrotisme semble cependant être plus fortement associé à la vulnérabilité de développer un trouble psychopathologique lorsqu'il est combiné à des tendances anxieuses, qui ne sont pas évaluées dans la présente étude [136].

4.8. Forces et faiblesses de l'étude

Cette étude présente des forces, ainsi que certaines limitations. Tout d'abord, le recrutement des participants effectué auprès de larges échantillons tirés de deux études longitudinales permettant de rassembler un groupe d'individus aux profils diversifiés quant à leur lieu de résidence, leur sexe, leur statut socio-économique, ainsi que la possibilité d'avoir accès à un large bassin d'informations recueillies au cours des années est un atout majeur dans la réalisation de ce projet. De plus, tel que l'entrevue diagnostique a permis de le démontrer, tous les participants sélectionnés sont en santé. Aussi, les procédures pour la mesure des niveaux de méthylation sont issues de travaux effectués précédemment au laboratoire [53, 54, 110] et les sites CpG ont été déterminés en fonction des résultats obtenus aux études réalisées précédemment [52-54].

Dans un autre ordre d'idée, puisqu'il s'agit d'une étude, la taille de l'échantillon (N = 22) de cette thèse est réduite et a pu contribuer à moins de précision dans les résultats obtenus. L'objectif est ainsi d'obtenir des mesures aux variables étudiées sur un échantillon d'au moins 60 individus. Également, tel que mentionné précédemment, les énoncés de l'échelle *Détresse chronique et demandes psychologiques* du questionnaire sur le stress quotidien devrait être réévalués afin de s'assurer que ceux-ci mesurent bien le concept désiré. De plus, le fait que le questionnaire sur le stress quotidien ait été complété à la maison laisse présumer que des distractions quotidiennes auraient pu biaiser l'exactitude des réponses au questionnaire. La sélection de participants sains représente un avantage, mais également une limitation de l'étude. Aussi, cette étude ne permet pas d'établir de relations de causalité.

4.9. Directions futures

Les résultats de cette étude préliminaire ont des implications cliniques importantes car ils donnent un aperçu de l'impact des différents niveaux de méthylation du gène SLC6A4 à certains sites CpG spécifiques sur le fonctionnement du cerveau et la réponse comportementale aux facteurs de stress quotidien. En effet, ces résultats démontrent qu'il est pertinent de continuer d'orienter les efforts de recherche vers la validation du rôle de la méthylation de SLC6A4 en tant que biomarqueur des désordres psychopathologiques dans lesquels la sérotonine joue un rôle important. En considérant la méthylation de SLC6A4 tel un facteur de risque potentiel dans la vulnérabilité au développement des troubles psychopathologiques, et sachant que ce processus épigénétique est susceptible d'augmenter aux suites de la présence accrue d'adversité précoce, ces résultats encouragent l'élaboration de programmes de prévention et d'intervention tôt dans la vie des individus à risque.

Il serait nécessaire dans les futurs projets de recherche de refaire les analyses préliminaires effectuées dans ce projet auprès d'un échantillon plus grand afin de valider les corrélations observées et d'augmenter la validité des résultats. Aussi, se basant sur certaines études démontrant un biais de positivité chez des populations adultes comparativement à des populations adolescentes lors du traitement émotionnel [137], il serait intéressant de comparer les données d'activation cérébrale obtenues lors de la tâche de traitement émotionnel implicite de l'échantillon actuel avec les données obtenues auprès d'un échantillon d'adolescents évalué

récemment [94]. De plus, afin de valider les données de réactivité au stress, il serait intéressant d'ajouter l'analyse d'un marqueur biologique de la réactivité au stress, soit la mesure du cortisol salivaire [138] aux données du questionnaire en ligne.

Pour conclure, il est possible d'affirmer, suite aux résultats préliminaires présentés dans le cadre de ce projet, que la méthylation du gène SLC6A4 est impliquée dans la réactivité aux facteurs de stress de la vie au quotidien et que celle-ci est en partie prédictive du fonctionnement cérébral et psychologique. En effet, la taille d'effet calculée de la méthylation du gène SLC6A4 et de la réactivité aux facteurs de stress quotidien sur l'activation cérébrale est très forte, soit un coefficient *Cohen's d* atteignant jusqu'à 2.639. Ces résultats ont des implications cliniques potentielles puisque l'identification des facteurs de vulnérabilité de la psychopathologie permet l'identification précoce et une intervention préventive chez les individus à risque de développer des symptômes cliniques. Également, les résultats présentés suggèrent que des efforts doivent continuer d'être apportés dans le but d'identifier les biomarqueurs de la psychopathologie dans un objectif de prévention et d'intervention. En effet, la continuité de ce projet au sein d'un échantillon plus large saura apporter des conclusions bénéfiques pour le milieu de la recherche psychosociale et des maladies du cerveau. Cette étude prend en compte des mesures de différentes natures, soient comportementales, biologiques et d'imagerie cérébrales, permettant une diversité des analyses et un aspect multidisciplinaire profitable pour le développement des nouvelles connaissances.

5. ANNEXE

Tableau 3. Statistiques corrélationnelles entre les échelles du questionnaire sur la réactivité aux facteurs de stress quotidien, l'Inventaire de Dépression de Beck et le Questionnaire de Personnalité d'Eysenck.

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	Y	Z
X ₁	1						
X ₂	0.561**	1					
X ₃	0.563**	0.908**	1				
X ₄	- 0.038	0.390	0.269	1			
X ₅	0.715**	0.637**	0.643**	0.284	1		
Y	0.597**	0.496*	0.567**	- 0.034	0.426*	1	
Z	0.260	0.188	0.229	- 0.023	0.004	0.608**	1

X₁ : Affects négatifs
 X₂ : Exposition
 X₃ : Sévérité
 X₄ : Chronicité

X₅ : Rumination
 Y : BDI
 Z : EPQ – névrotisme

* Les corrélations sont significatives sous $p \leq 0.05$
 ** Les corrélations sont significatives sous $p \leq 0.01$

Figure 10.

Présence d'effets négatifs en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12

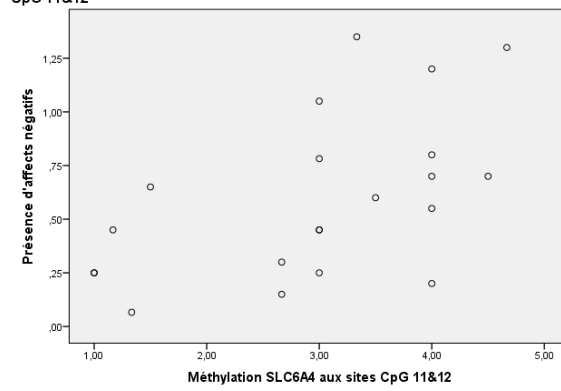


Figure 11.

Niveau d'exposition aux facteurs de stress quotidien en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12

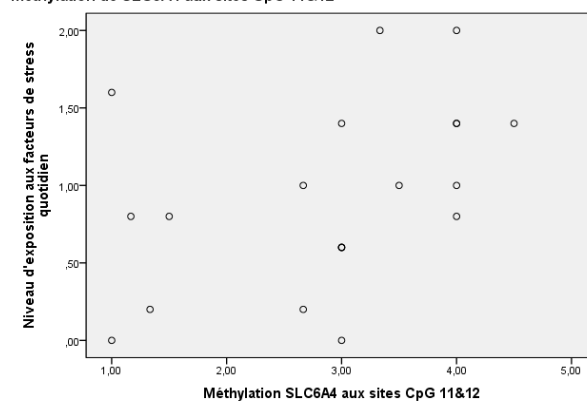
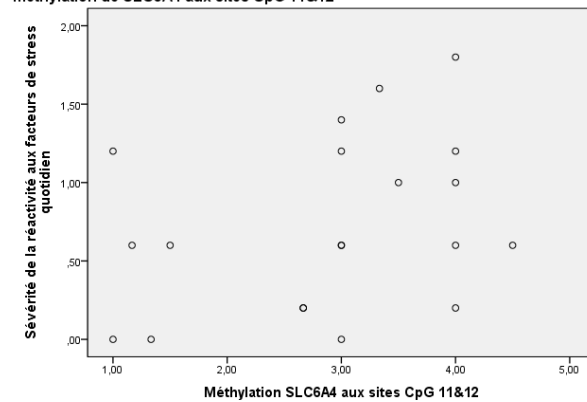


Figure 12.

Sévérité de la réactivité aux facteurs de stress quotidien en fonction de la méthylation de SLC6A4 aux sites CpG 11&12



6. BIBLIOGRAPHIE

1. Booij L, Swenne CA, Brosschot JF, Haffmans PM, Thayer JF, Van der Does AJ. *Tryptophan depletion affects heart rate variability and impulsivity in remitted depressed patients with a history of suicidal ideation*. Biol Psychiatry, 2006. **60**(5): p. 507-14.
2. Booij L, Van der Does AJ, Riedel WJ. *Monoamine depletion in psychiatric and healthy populations: review*. Mol Psychiatry, 2003. **8**(12): p. 951-73.
3. Whitaker-Azmitia PM. *Serotonin and brain development: role in human developmental diseases*. Brain Res Bull, 2001. **56**(5): p. 479-85.
4. Jacobs BL, Azmitia EC. *Structure and function of the brain serotonin system*. Physiol Rev, 1992. **72**(1): p. 165-229.
5. Goldman-Rakic PS, Brown RM. *Postnatal development of monoamine content and synthesis in the cerebral cortex of rhesus monkeys*. Brain Res, 1982. **256**(3): p. 339-49.
6. Booij L, Tremblay RE, Szyf M, Benkelfat C. *Genetic and early environmental influences on the serotonin system: consequences for brain development and risk for psychopathology*. J Psychiatry Neurosci, 2015. **40**(1): p. 5-18.
7. Esaki T, Cook M, Shimoji K, Murphy DL, Sokoloff L, Holmes A. *Developmental disruption of serotonin transporter function impairs cerebral responses to whisker stimulation in mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(15): p. 5582-7.
8. Ansorge MS, Zhou M, Lira A, Hen R, Gingrich JA. *Early-life blockade of the 5-HT transporter alters emotional behavior in adult mice*. Science, 2004. **306**(5697): p. 879-81.
9. Chugani DC, Muzik O, Behen M, Rothermel R, Janisse JJ, Lee J, Chugani HT. *Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children*. Ann Neurol, 1999. **45**(3): p. 287-95.
10. Capitão LP, Murphy SE, Browning M, Cowen PJ, Harmer CJ. *Acute fluoxetine modulates emotional processing in young adult volunteers anterior cingulate cortices of healthy women*. Psychological medicine, 2015. **13**: p. 1-14.
11. Harmer CJ, Mackay CE, Reid CB, Cowen PJ, Goodwin GM. *Antidepressant drug treatment modifies the neural processing of nonconscious threat cues*. Biol Psychiatry, 2006. **59**(9): p. 816-20.
12. Harmer CJ, O'Sullivan U, Favaron E, Massey-Chase R, Ayres R, Reinecke A, Goodwin GM, Cowen PJ. *Effect of acute antidepressant administration on negative affective bias in depressed patients*. Am J Psychiatry, 2009. **166**(10): p. 1178-84.
13. Siever LJ. *Neurobiology of aggression and violence*. Am J Psychiatry, 2008. **165**(4): p. 429-42.
14. Booij L, Tremblay RE, Szyf M, Benkelfat C. *Genetic and early environmental influences on the serotonin system: Consequences for brain development and risk for psychopathology*. Journal of psychiatry and neuroscience, 2015 **40**(1):5-18
15. Cisler JM, Olatunji BO, Feldner MT, Forsyth JP. *Emotion Regulation and the Anxiety Disorders: An Integrative Review*. J Psychopathol Behav Assess, 2010. **32**(1): p. 68-82.
16. Amstadter A. *Emotion regulation and anxiety disorders*. J Anxiety Disord, 2008. **22**(2): p. 211-21.

17. Quirk GJ, Likhtik E, Pelletier JG, Paré D. *Stimulation of medial prefrontal cortex decreases the responsiveness of central amygdala output neurons*. J Neurosci, 2003. **23**(25): p. 8800-7.
18. Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P. *Organization of the human serotonin transporter gene*. J Neural Transm Gen Sect, 1994. **95**(2): p. 157-62.
19. Araragi N, Lesch KP. *Serotonin (5-HT) in the regulation of depression-related emotionality: insight from 5-HT transporter and tryptophan hydroxylase-2 knockout mouse models*. Curr Drug Targets, 2013. **14**(5): p. 549-70.
20. Yu Q, Teixeira CM, Mahadevia D, Huang Y, Balsam D, Mann JJ, Gingrich JA, Ansorge MS. *Dopamine and serotonin signaling during two sensitive developmental periods differentially impact adult aggressive and affective behaviors in mice*. Mol Psychiatry, 2014. **19**(6): p. 688-98.
21. Munafò MR, Brown SM, Hariri AR. *Serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and amygdala activation: a meta-analysis*. Biol Psychiatry, 2008. **63**(9): p. 852-7.
22. Lee BT, Ham BJ. *Serotonergic genes and amygdala activity in response to negative affective facial stimuli in Korean women*. Genes Brain Behav, 2008. **7**(8): p. 899-905.
23. Gillihan SJ, Rao H, Wang J, Detre JA, Breland J, Sankoorikal GMV, Brodtkin ES, Farah MJ. *Serotonin transporter genotype modulates amygdala activity during mood regulation*. Soc Cogn Affect Neurosci, 2010. **5**(1): p. 1-10.
24. Hariri AR, Drabant EM, Munoz KE, Kolachana BS, Mattay VS, Egan MF, Weinberger DR. *A susceptibility gene for affective disorders and the response of the human amygdala*. Arch Gen Psychiatry, 2005. **62**(2): p. 146-52.
25. Hariri AR, Drabant EM, Weinberger DR. *Imaging genetics: perspectives from studies of genetically driven variation in serotonin function and corticolimbic affective processing*. Biol Psychiatry, 2006. **59**(10): p. 888-97.
26. Helmbold K, Zvyagintsev M, Dahmen B, Bubenzer-Busch S, Gaber TJ, Crockett MJ, Klasen M, Sánchez CL, Eiserte A, Konrada K, Habel U, Herpertz-Dahlmann B, Zepf FD. *Effects of serotonin depletion on punishment processing in the orbitofrontal and anterior cingulate cortices of healthy women*. Eur Neuropsychopharmacol, 2015. **25**(6): p. 846-56.
27. Aluja A, García Ó, García LF. *A psychometric analysis of the revised Eysenck Personality Questionnaire short scale*. Personality and Individual Differences, 2003. **35**(2): p. 449-460.
28. Ekman PF. *Pictures of facial affect*. CA Consulting Psychologists Press, 1976.
29. Kelly KJ, Metcalfe J. *Metacognition of emotional face recognition*. Emotion, 2011. **11**(4): p. 896-906.
30. Schaefer KL, Baumanna J, Rich BA, Luckenbaugh DA, Zarate CA Jr. *Perception of facial emotion in adults with bipolar or unipolar depression and controls*. J Psychiatr Res, 2010. **44**(16): p. 1229-35.
31. Rich BA, Grimley ME, Schmajuk M, Blair KS, Blair RJ, Leibenluft E. *Face emotion labeling deficits in children with bipolar disorder and severe mood dysregulation*. Dev Psychopathol, 2008. **20**(2): p. 529-46.

32. Etkin A, Wager TD. *Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia*. Am J Psychiatry, 2007. **164**(10): p. 1476-88.
33. Stuhmann A, Suslow T, Dannlowski U. *Facial emotion processing in major depression: a systematic review of neuroimaging findings*. Biol Mood Anxiety Disord, 2011. **1**(1): p. 10.
34. Perlman SB, Almeida JR, Kronhaus DM, Versace A, Labarbara EJ, Klein CR, Phillips ML. *Amygdala activity and prefrontal cortex-amygdala effective connectivity to emerging emotional faces distinguish remitted and depressed mood states in bipolar disorder*. Bipolar Disord, 2012. **14**(2): p. 162-74.
35. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R. *Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene*. Science, 2003. **301**(5631): p. 386-9.
36. Roiser J, Levy J, Fromm S, Wang H, Hasler G, Sahakian B, Drevets W. *The effect of acute tryptophan depletion on the neural correlates of emotional processing in healthy volunteers*. Neuropsychopharmacology, 2008. **33**(8): p. 1992-2006.
37. Beevers CG, Wells TT, Ellis AJ, McGeary JE. *Association of the serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with biased attention for emotional stimuli*. J Abnorm Psychol, 2009. **118**(3): p. 670-81.
38. Miller R, Wankerl M, Stalder T, Kirschbaum C, Alexander N. *The serotonin transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) and cortisol stress reactivity: a meta-analysis*. Mol Psychiatry, 2013. **18**(9): p. 1018-24.
39. Grabe HJ, Lange M, Wolff B, Völzke H, Lucht M, Freyberger HJ, John U, Cascorbi I. *Mental and physical distress is modulated by a polymorphism in the 5-HT transporter gene interacting with social stressors and chronic disease burden*. Mol Psychiatry, 2005. **10**(2): p. 220-4.
40. Uher R, Caspi A, Houts R, Sugden K, Williams B, Poulton R, Moffitt TE. *Serotonin transporter gene moderates childhood maltreatment's effects on persistent but not single-episode depression: replications and implications for resolving inconsistent results*. J Affect Disord, 2011. **135**(1-3): p. 56-65.
41. Januar V, Saffery R, Ryan J. *Epigenetics and depressive disorders: a review of current progress and future directions*. Int J Epidemiol, 2015.
42. Murgatroyd C, Spengler D. *Epigenetic programming of the HPA axis: early life decides*. Stress, 2011. **14**(6): p. 581-9.
43. Jaenisch R, Bird A. *Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals*. Nat Genet, 2003. **33** Suppl: p. 245-54.
44. Szyf M. *Early life, the epigenome and human health*. Acta Paediatr, 2009. **98**(7): p. 1082-4.
45. Turner BC. *Chromatin structure and the regulation of gene expression*. Oxford, UK: Blackwell, 2001.
46. Booij L, Wang D, Lévesque, ML Tremblay RE, Szyf M. *Looking beyond the DNA sequence: the relevance of DNA methylation processes for the stress-diathesis model of depression*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2013. **368**(1615): p. 20120251.
47. Essex MJ, Boyce WT, Hertzman C, Lam LL, Armstrong JM, Neumann SM, Kobor MS. *Epigenetic vestiges of early developmental adversity: childhood stress exposure and DNA methylation in adolescence*. Child Dev, 2013. **84**(1): p. 58-75.

48. Lutz PE, Turecki G. *DNA methylation and childhood maltreatment: from animal models to human studies*. Neuroscience, 2014. **264**: p. 142-56.
49. Degenhardt YY, Wooster R, McCombie RW, Lucito R, Powers S. *High-content analysis of cancer genome DNA alterations*. Curr Opin Genet Dev, 2008. **18**(1): p. 68-72.
50. Ehrlich M. *DNA methylation in cancer: too much, but also too little*. Oncogene, 2002. **21**(35): p. 5400-13.
51. Szyf M. *DNA methylation signatures for breast cancer classification and prognosis*. Genome Med, 2012. **4**(3): p. 26.
52. Wang D, Szyf M, Benkelfat C, Provençal N, Turecki G, Caramaschi D, Côté SM, Vitaro F, Tremblay RE, Booij L. *Peripheral SLC6A4 DNA methylation is associated with in vivo measures of human brain serotonin synthesis and childhood physical aggression*. PLoS One, 2012. **7**(6): p. e39501.
53. Booij L, Szyf M, Carballedo A, Frey EM, Morris D, Dymov S, Vaisheva F, Ly V, Fahey C, Meaney J, Gill M, Frodl T. al., B.e., *DNA Methylation of the Serotonin Transporter Gene in Peripheral Cells and Stress-related Changes in Hippocampal Volume: A Study in Depressed Patients and Healthy Controls*. PloS one, 2015. **10**(3):e0119061.
54. Frodl T, Szyf M, Carballedo A, Ly V, Dymov S, Vaisheva F, Morris D, Fahey C, Meaney J, Gill M, Booij L. *DNA methylation of serotonin transporter gene (SLC6A4) associated with brain function involved in processing of emotional stimuli*. Journal of Psychiatry and Neurosciences, 2015. **40**(2):140180.
55. Booij L, Tremblay RE, Leyton M, Séguin JR, Vitaro F, Gravel P, Perreau-Linck E, Lévesque ML, Durand F, Diksic M, Turecki G, Benkelfat C. *Brain serotonin synthesis in adult males characterized by physical aggression during childhood: a 21-year longitudinal study*. PLoS One, 2010. **5**(6): p. e11255.
56. Park S, Lee JM, Kim JW, Cho DY, Yun HJ, Han DH, Cheong JH, Kim BN. *Associations between serotonin transporter gene (SLC6A4) methylation and clinical characteristics and cortical thickness in children with ADHD*. Psychol Med, 2015. p.1-9.
57. Kato T, Iwamoto K. *Comprehensive DNA methylation and hydroxymethylation analysis in the human brain and its implication in mental disorders*. Neuropharmacology, 2014. **80**: p.133-9.
58. Duman EA, Canli T. *Influence of life stress, 5-HTTLPR genotype, and SLC6A4 methylation on gene expression and stress response in healthy Caucasian males*. Biol Mood Anxiety Disord, 2015. **5**: p. 2.
59. Nikolova YS, Koenen KC, Galea S, Wang CM, Seney ML, Sibille E, Williamson DE, Hariri AR. *Beyond genotype: serotonin transporter epigenetic modification predicts human brain function*. Nat Neurosci, 2014. **17**(9): p. 1153-5.
60. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. *The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics*. Nat Rev Neurosci, 2003. **4**(12): p. 1002-12.
61. Kinnally EL, Capitanio JP, Leibel R, Deng L, LeDuc C, Haghghi F, Mann JJ. *Epigenetic regulation of serotonin transporter expression and behavior in infant rhesus macaques*. Genes Brain Behav, 2010. **9**(6): p. 575-82.
62. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, Helmberg A, Karin M. *Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis*. Science, 1995. **270**(5234): p. 286-90.

63. Van Eck M, Berkhof H, Nicolson N, Sulon J. *The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol*. Psychosom Med, 1996. **58(5)**: p. 447-458.
64. DeLongis A, Folkman S, Lazarus RS. *The impact of daily stress on health and mood: psychological and social resources as mediators*. J Pers Soc Psychol, 1988. **54(3)**: p. 486-95.
65. Kamarck TW, Shiffman S, Sutton-Tyrrell K, Muldoon MF, Tepper P. *Daily psychological demands are associated with 6-year progression of carotid artery atherosclerosis: the Pittsburgh Healthy Heart Project*. Psychosomatic medicine, 2012. **74(4)**: p. 432-439.
66. Sinha R. *Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1141**: p. 105-30.
67. Baum A, Posluszny DM. *Health psychology: mapping biobehavioral contributions to health and illness*. Annu Rev Psychol, 1999. **50**: p. 137-63.
68. Anderson NB, Anderson E. *Emotional Longevity: what really determines how long you live*. New York: Viking, 2003.
69. Tremblay RE. *Understanding development and prevention of chronic physical aggression: towards experimental epigenetic studies*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2008. **363(1503)**: p. 2613-22.
70. Rouquette A, Côté SM, Pryor LE, Carbonneau R, Vitaro F, Tremblay RE. *Cohort profile: the Quebec Longitudinal Study of Kindergarten Children (QLSKC)*. Int J Epidemiol, 2014. **43(1)**: p. 23-33.
71. Spitzer RL, Williams JB, Gibbon M, First MB. *The Structured Clinical Interview for DSM-III-R (SCID). I: History, rationale, and description*. Arch Gen Psychiatry, 1992. **49(8)**: p. 624-9.
72. First M, Spitzer RL, Gibbon M, Williams J. *Structured Clinical Interview for the DSM-IV Axis I Disorders*. (1996).
73. Kranzler HR, Kadden RM, Babor TF, Tennen H, Rounsaville BJ. *Validity of the SCID in substance abuse patients*. Addiction, 1996. **91(6)**: p. 859-68.
74. Shear MK, Greeno C, Kang J, Ludewig D, Frank E, Swartz HA, Hanekamp M. *Diagnosis of nonpsychotic patients in community clinics*. Am J Psychiatry, 2000. **157(4)**: p. 581-7.
75. Steiner JL, Tebes JK, Sledge WH, Walker ML. *A comparison of the structured clinical interview for DSM-III-R and clinical diagnoses*. J Nerv Ment Dis, 1995. **183(6)**: p. 365-9.
76. Lobbestael J, Leurgans M, Arntz A. *Inter-rater reliability of the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID I) and Axis II Disorders (SCID II)*. Clin Psychol Psychother, 2011. **18(1)**: p. 75-9.
77. Zanarini MC, Frankenburg FR. *Attainment and maintenance of reliability of axis I and II disorders over the course of a longitudinal study*. Compr Psychiatry, 2001. **42(5)**: p. 369-74.
78. Zanarini MC, Skodol AE, Bender D, Dolan R, Sanislow C, Schaefer E, Morey LC, Grilo CM, Shea MT, McGlashan TH, Gunderson JG. *The Collaborative Longitudinal Personality Disorders Study: reliability of axis I and II diagnoses*. J Pers Disord, 2000. **14(4)**: p. 291-9.

79. Ramirez Basco M, Bostic JQ, Davies D, Rush AJ, Witte B, Hendrickse W, Barnett V. *Methods to improve diagnostic accuracy in a community mental health setting*. Am J Psychiatry, 2000. **157**(10): p. 1599-605.
80. Kranzler HR, Kadden RM, Bursleson JA, Babor TF, Apter A, Rounsaville BJ. *Validity of psychiatric diagnoses in patients with substance use disorders - is the interview more important than the interviewer*. Compr Psychiat 1995.
81. Beck AT, Guth D, Steer RA, Ball R. *Screening for major depression disorders in medical inpatients with the Beck Depression Inventory for Primary Care*. Behav Res Ther, 1997. **35**(8): p. 785-91.
82. AT, B., *Depression: Causes and Treatment*. University of Pennsylvania Press, 1972.
83. Gallagher D, Nies G, Thompson LW. *Reliability of the Beck Depression Inventory with older adults*. J Consult Clin Psychol, 1982. **50**(1): p. 152-3.
84. Beck AT, Steer RA. *Internal consistencies of the original and revised Beck Depression Inventory*. J Clin Psychol, 1984. **40**(6): p. 1365-7.
85. Richter P, Werner J, Heerlein A, Kraus A, Sauer H. *On the validity of the Beck Depression Inventory. A review*. Psychopathology, 1998. **31**(3): p. 160-8.
86. Jeronimus BF, Riese H, Sanderman R, Ormel J. *Mutual Reinforcement Between Neuroticism and Life Experiences: A Five-Wave, 16-Year Study to Test Reciprocal Causation*. Journal of Personality and Social Psychology, 2014. **107**-4: p. 751–64.
87. Furnham A, Heyes C. *Personality and individual differences: A natural science approach*. Plenum Press, 1985.
88. Aleixo PA, Norris CE. *Personality and moral reasoning in young offenders*. Personality and Individual Differences, 2000. **28**: p. 609-623.
89. Barrett P, Eysenck SB. *The assessment of personality factors across twenty-five countries*. Personality and Individual Differences, 1984. **5**: p. 615–632.
90. Lewis CA, Musharraf S. *The short form Eysenck Personality Questionnaire-Revised (EPQR-S) and the revised abbreviated Eysenck Personality Questionnaire (EPQR-A): Urdu translations*. J Pak Med Assoc, 2014. **64**(2): p. 225-6.
91. Pinalli R, Croera C, Theobald A, Feigenbaum A. *Threshold of toxicological concern approach for the risk assessment of substances used for the manufacture of plastic food contact materials*. Trends in Food Science & Technology, 2011. **22**-9: p. 523-534.
92. Rao H, Gillihan SJ, Wang J, Korczykowski M, Sankoorikal GM, Kaercher KA, Brodtkin ES, Detre JA, Farah MJ. *Genetic variation in serotonin transporter alters resting brain function in healthy individuals*. Biol Psychiatry, 2007. **62**(6): p. 600-6.
93. Deltner D, Ekman P. *Facial expression and emotion*. Am Psychol, 1993. **48**(4): p. 384-92.
94. Lévesque ML, Ismaylova E, Verner MP, Marble K, Van der Wal M, Casey KF, Brendgen M, Dionne G, Vitaro F, Boivin M, Tremblay RE, Boonij L. *Early adversity and neural responses to emotions in adolescence: a longitudinal analysis of monozygotic twins*. Journal of Affective Disorders, 2015.
95. Canli T, Congdon E, Gutknecht L, Constable RT, Lesch Kp. *Amygdala responsiveness is modulated by tryptophan hydroxylase-2 gene variation*. J Neural Transm, 2005. **112**(11): p. 1479-85.
96. Costafreda SG, Brammer MJ, David AS, Fu CH. *Predictors of amygdala activation during the processing of emotional stimuli: a meta-analysis of 385 PET and fMRI studies*. Brain Res Rev, 2008. **58**(1): p. 57-70.

97. Moskowitz DS, Young SN. *Ecological momentary assessment: what it is and why it is a method of the future in clinical psychopharmacology*. J Psychiatry Neurosci, 2006. **31**(1): p. 13-20.
98. Gouin JP, Glaser R, Malarkey WB, Beversdorf D, Kiecolt-Glaser J. *Chronic stress, daily stressors, and circulating inflammatory markers*. Health Psychol, 2012. **31**(2): p. 264-8.
99. Watson D, Clark LA, Tellegen A. *Development and validation of brief measures of positive and negative affect: the PANAS scales*. J Pers Soc Psychol, 1988. **54**(6): p. 1063-70.
100. Fredrickson BL. *The role of positive emotions in positive psychology. The broaden-and-build theory of positive emotions*. Am Psychol, 2001. **56**(3): p. 218-26.
101. Fredrickson BL, Joiner T. *Positive emotions trigger upward spirals toward emotional well-being*. Psychol Sci, 2002. **13**(2): p. 172-5.
102. Watson D, Tellegen A. *Toward a consensual structure of mood*. Psychol Bull, 1985. **98**(2): p. 219-35.
103. Mroczek DK, Almeida DM. *The effect of daily stress, personality, and age on daily negative affect*. J Pers, 2004. **72**(2): p. 355-78.
104. Almeida DM, Wethington E, Kessler RC. *The daily inventory of stressful events: an interview-based approach for measuring daily stressors*. Assessment, 2002. **9**(1): p. 41-55.
105. Almeida DM, Kessler RC. *Everyday stressors and gender differences in daily distress*. J Pers Soc Psychol, 1998. **75**(3): p. 670-80.
106. Lyubomirsky S, Nolen-Hoeksema S. *Effects of self-focused rumination on negative thinking and interpersonal problem solving*. J Pers Soc Psychol, 1995. **69**(1): p. 176-90.
107. Nolen-Hoeksema S. *The role of rumination in depressive disorders and mixed anxiety/depressive symptoms*. J Abnorm Psychol, 2000. **109**(3): p. 504-11.
108. Nolen-Hoeksema S, Larson J, Grayson C. *Explaining the gender difference in depressive symptoms*. J Pers Soc Psychol, 1999. **77**(5): p. 1061-72.
109. Lisa D. Butler LD, Nolen-Hoeksema S. *Gender differences in responses to depressed mood in a college sample*. Sex Roles, 1994. **30**(5-6): p. 331-346.
110. Wang D, Szyf M, Benkelfat C, Provençal N, Turecki G, Caramaschi D, Côté SM, Vitaro F, Tremblay RE, Booij L. *Peripheral SLC6A4 DNA methylation is associated with in vivo measures of human brain serotonin synthesis and childhood physical aggression*. PLoS one, 2012. **7**(6).
111. Booij L, Szyf M, Carballedo A, Frey EM, Morris D, Dymov S, Vaisheva F, Ly V, Fahey C, Meaney J, Gill M, Frodl T. *DNA methylation of the serotonin transporter gene in peripheral cells and stress-related changes in hippocampal volume: a study in depressed patients and healthy controls*. PLoS One, 2015. **10**(3): p. e0119061.
112. Frodl T, Szyf M, Carballedo A, Ly V, Dymov S, Vaisheva F, Morris D, Fahey C, Meaney J, Gill M, Booij L. *DNA methylation of the serotonin transporter gene (SLC6A4) is associated with brain function involved in processing emotional stimuli*. J Psychiatry Neurosci, 2015. **40**(2): p. 140180.
113. Martinowich K, Hattori D, Wu H, Fouse S, He F, Hu Y, Fan G, Sun YE. *DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation*. Science, 2003. **302**(5646): p. 890-3.
114. Woolsey CN, Settlage PH, Meyer DR, Sencer W, Hamuy TP, Travis AM. *Pattern of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the*

- concept of a premotor area.* Association for Research in Nervous and Mental Disease, 1952. **30**: p. 238-264.
115. Binkofski F, Fink GR, Geyer S, Buccino G, Gruber O, Shah NJ, Taylor JG, Seitz RJ, Zilles K, Freund HJ. *Neural activity in human primary motor cortex areas 4a and 4p is modulated differentially by attention to action.* J Neurophysiol, 2002. **88**(1): p. 514-9.
 116. Butler T, Pan H, Tuescher O, Engelien A, Goldstein M, Epstein J, Weisholtz D, Root JC, Protopopescu X, Cunningham-Bussell AC, Chang L, Xie XH, Chen Q, Phelps EA, Ledoux JE, Stern E, Silbersweig DA. *Human fear-related motor neurocircuitry.* Neuroscience, 2007. **150**(1): p. 1-7.
 117. Kawasaki H, Tsuchiya N, Kovach CK, Nourski KV, Oya H, Howard MA, Adolphs R. *Processing of facial emotion in the human fusiform gyrus.* J Cogn Neurosci, 2012. **24**(6): p. 1358-70.
 118. Zald DH, Mattson DL, Pardo JV. *Brain activity in ventromedial prefrontal cortex correlates with individual differences in negative affect.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(4): p. 2450-4.
 119. Piguet C, Desseilles M, Cojan Y, Sterpenich V, Dayer A, Bertschy G, Vuilleumier P. *Neural correlates of generation and inhibition of verbal association patterns in mood disorders.* Soc Cogn Affect Neurosci, 2014.
 120. Thomas EJ, Elliott R, McKie S, Arnone D, Downey D, Juhasz G, Deakin JF, Anderson IM. *Interaction between a history of depression and rumination on neural response to emotional faces.* Psychol Med, 2011. **41**(9): p. 1845-55.
 121. Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ. *A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain.* Prog Neurobiol, 2005. **75**(2): p. 143-60.
 122. Briceño EM, Rapport LJ, Kassel MT, Bieliauskas LA, Zubieta JK, Weisenbach SL, Langenecker SA. *Age and gender modulate the neural circuitry supporting facial emotion processing in adults with major depressive disorder.* Am J Geriatr Psychiatry, 2015. **23**(3): p. 304-13.
 123. Chochon F, Cohen L, van de Moortele PF, Dehaene S. *Differential contributions of the left and right inferior parietal lobules to number processing.* J Cogn Neurosci, 1999. **11**(6): p. 617-30.
 124. Singh-Curry V, Husain M. *The functional role of the inferior parietal lobe in the dorsal and ventral stream dichotomy.* Neuropsychologia, 2009. **47**(6): p. 1434-48.
 125. Radua J, Phillips ML, Russell T, Lawrence N, Marshall N, Kalidindi S, El-Hage W, McDonald C, Giampietro V, Brammer MJ, David AS, Surguladze SA. *Neural response to specific components of fearful faces in healthy and schizophrenic adults.* Neuroimage, 2010. **49**(1): p. 939-46.
 126. Mitchell RL, Elliott R, Barry M, Cruttenden A, Woodruff PW. *The neural response to emotional prosody, as revealed by functional magnetic resonance imaging.* Neuropsychologia, 2003. **41**(10): p. 1410-21.
 127. Rota G, Veit R, Nardo D, Weiskopf N, Birbaumer N, Dogil G. *Processing of inconsistent emotional information: an fMRI study.* Exp Brain Res, 2008. **186**(3): p. 401-7.
 128. Park JY, Gu BM, Kang DH, Shin YW, Choi CH, Lee JM, Kwon JS. *Integration of cross-modal emotional information in the human brain: an fMRI study.* Cortex, 2010. **46**(2): p. 161-9.

129. Gong Y, Hao L, Zhang X, Zhou Y, Li J, Zhao Z, Jiang W, DU Y. *Case-control resting-state fMRI study of brain functioning among adolescents with first-episode major depressive disorder*. Shanghai Arch Psychiatry, 2014. **26**(4): p. 207-15.
130. Chantiluke K, Halari R, Simic M, Pariante CM, Papadopoulos A, Giampietro V, Rubia K. *Fronto-striato-cerebellar dysregulation in adolescents with depression during motivated attention*. Biol Psychiatry, 2012. **71**(1): p. 59-67.
131. Guo WB, Liu F, Xue ZM, Xu XJ, Wu RR, Ma CQ, Wooderson SC, Tan CL, Sun XL, Chen JD, Liu ZN, Xiao CQ, Chen HF, Zhao JP. *Alterations of the amplitude of low-frequency fluctuations in treatment-resistant and treatment-response depression: a resting-state fMRI study*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2012. **37**(1): p. 153-60.
132. Liberzon I, Phan KL. *Brain-imaging studies of posttraumatic stress disorder*. CNS Spectr, 2003. **8**(9): p. 641-50.
133. Morey RA, Petty CM, Cooper DA, Labar KS, McCarthy G. *Neural systems for executive and emotional processing are modulated by symptoms of posttraumatic stress disorder in Iraq War veterans*. Psychiatry Res, 2008. **162**(1): p. 59-72.
134. Aldinger M, Stopsack M, Ulrich I, Appel K, Reinelt E, Wolff S, Grabe HJ, Lang S, Barnow S. *Neuroticism developmental courses--implications for depression, anxiety and everyday emotional experience; a prospective study from adolescence to young adulthood*. BMC Psychiatry, 2014. **14**: p. 210.
135. Bolger N, Schilling EA. *Personality and the problems of everyday life: the role of neuroticism in exposure and reactivity to daily stressors*. J Pers, 1991. **59**(3): p. 355-86.
136. Floros GD, Stogiannidou A, Giouzevas I, Garyfallos GD. *Comparison of alternate personality models in psychopathology assessment*. Psychol Rep, 2014. **115**(2): p. 499-514.
137. Nashiro K, Sakaki M, Mather M. *Age differences in brain activity during emotion processing: reflections of age-related decline or increased emotion regulation?* Gerontology, 2012. **58**(2): p. 156-63.
138. Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. *Salivary cortisol as a biomarker in stress research*. Psychoneuroendocrinology, 2009. **34**(2): p. 163-71.