

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE FRÈRES MENTOURI – CONSTANTINE 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Option : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

Présenté et soutenu par

Halima RIGHI

Le 10 juillet 2019

Thème

***L'association du polymorphisme -590 C/T du gène de
l'IL-4 avec l'asthme allergique chez 50 familles
constantinoises.***

COMPOSITION DU JURY

Président	Leila ROUABAH	Pr Université des frères Mentouri
Encadreur	Dahbia Ines DAHMANI	MC-B- Université Constantine 1
Co-encadreur	Sara MALKI	MA - EHS-El Khroub
Examineur	Nousseiba ABED	MC-B- Université Constantine 1

Année universitaire : 2018-2019

RÉSUMÉ

Introduction : l'asthme est une maladie multifactorielle hétérogène résultant des effets et des interactions de nombreux facteurs génétiques et environnementaux. Les objectifs de cette étude sont multiples incluant : la recherche de l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590C/T au niveau du promoteur du gène codant pour IL-4, l'étude de la composante génétique de l'asthme et l'effet d'un environnement commun à des sujets partageant le même habitat. **Méthodes :** Notre étude incluait 50 familles sélectionnées de la ville de Constantine. Au total, 150 sujets constituent notre cohorte dont le père, la mère et de l'enfant souffrant d'asthme allergique depuis plus de 2 ans, pour chaque famille et 50 personnes saines. Le statut atopique de l'asthme a été confirmé par les tests cutanés, le dosage turbidimétrique des IgE et l'évaluation de la concentration d'IL-4 par la technique ELISA. Le polymorphisme -590C/T a été déterminé par PCR/RFLP en utilisant les enzymes BamF1. **Résultats :** Nos données montrent que 90% des enfants asthmatiques sélectionnés ont des antécédents familiaux de l'asthme ($p < 0.0001$) que 92% des enfants asthmatiques sélectionnés ont des antécédents familiaux de l'allergie ($p < 0.0001$). De plus, 50 % des enfants asthmatiques habitent dans des logements insalubres. Les résultats de la comparaison des taux des IgE totales des enfants avec ceux de leurs parents asthmatiques ont montré que le taux des IgE des enfants est significativement associé aux taux des IgE de leurs mères asthmatiques ($P = 0.4254$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0006$). De même pour l'IL-4, nous avons trouvé que le taux sérique de l'IL-4 des enfants est significativement associé aux taux d'IL-4 de leurs mères asthmatiques ($P = 0.7996$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0003$). L'analyse génétique révèle que l'allèle T du polymorphisme -590C/T est d'origine maternelle ($p = 0.001$) et il est plus transmis au sexe féminin que masculin ($P = 0.009$) et que les taux les plus élevés d'IgE totale et d'IL-4 sérique est associé aux génotypes maternel CT et TT ($P = 0.009$ pour les IgE et $P = 0.003$ pour l'IL-4). **Conclusion :** Le caractère familial de la maladie asthmatique peut s'expliquer à la fois par la composante génétique et l'effet d'un environnement commun.

Mots clés : Asthme, Allergie, Atopie, IgE, IL-4, SNP, -590 C/T.

ABSTRACT

Introduction: Asthma is a heterogeneous and multifactor disease, resulting from complex interactions between genetic and environmental factors. The ultimate aims of this study were to investigate the parental origin of the T allele of -590C/T polymorphism of the IL-4 gene; to study the family history of asthma and the effect of environmental factor on people sharing the common habitat. **Methods:** The study includes 50 families from Constantine city. The total participants were 150 subjects composed of father, mother and child with allergic asthma, for more than 2 years, and 50 healthy subjects. The atopic status was confirmed by skin prick test, the IgE levels were measured by the Quantia IgE immunoturbidimetric assay, and the interleukin IL-4 concentration was determined by immunosorbent assay. Finally, the -590C/T polymorphism was determined by RFLP-PCR using BsmF1 enzyme. **Results:** Our data show that 90% of asthmatic children have a family history of asthma ($p < 0.0001$) and 92% of them have a family history of allergy ($p < 0.0001$). In addition, 50% of children with asthma live in substandard housing. However, the comparison Total IgE levels of children with those of their parents showed that the IgE levels of children were significantly associated with the IgE levels of their mothers ($P = 0.4254$) and not with those of their fathers ($P = 0.0006$). Similarly for IL-4, we found that children's IL-4 serum levels were significantly associated with IL-4 levels of their mothers ($P = 0.7996$) and not with father's IL-4 levels ($P = 0.0003$). The genetic analysis reveals that the T-allele of the -590C / T polymorphism is inherited from mothers ($p = 0.001$) and is more transmitted to the female than male ($P = 0.009$) and that the highest rates of Total IgE and serum IL-4 is associated with CT and TT maternal genotypes ($P = 0.009$ for IgE and $P = 0.003$ for IL-4). **Conclusion:** the familiales statut of may be due to the genetic background and the common environment factors because the members of the same family are sharing the same habitat.

Keywords : Asthma, Allergy, Atopy, IgE, IL-4, SNP, -590 C/T.

ملخص

مقدمة: الربو هو مرض متعدد العوامل، ناتج عن آثار وتفاعلات العديد من العوامل الوراثية والبيئية. أهداف هذه الدراسة متعددة، منها : البحث عن اصل الأليل T المتحور لمتعدد الأشكال C/ T-590 على مستوى مروج الترميز الجيني لـ IL-4 ، دراسة المكون الوراثي للربو وتأثير البيئة المشتركة على الموضوعات التي تشترك نفس السكن. **الأساليب:** شملت دراستنا 50 عائلة مختارة من مدينة قسنطينة. في المجموع ، يشكل 150 شخصًا مجموعة من الفوج بما في ذلك الأب والأم والطفل المصاب بالربو التحسسي لأكثر من عامين لكل أسرة و 50 شخصًا غير مصابين بالربو. تم تأكيد حالة التأتبي للربو من خلال اختبارات الجلد ومعايرة IgE التوربينية وتقييم تركيز IL-4 بواسطة ELISA. تم تحديد متعدد الأشكال C/ T-590 بواسطة PCR / RFLP باستخدام إنزيمات BamF1. **النتائج:** بياناتنا تظهر أن 90 ٪ من الأطفال المصابين بالربو لديهم تاريخ عائلي للربو ($P > 0.0001$) و أن 92 ٪ من الأطفال المصابين بالربو لديهم تاريخ عائلي للحساسية ($P > 0.0001$). كما يعيش 50٪ من الأطفال المصابين بالربو في مساكن غير صحية. أظهرت نتائج مقارنة مستويات IgE الكلية للأطفال مع تلك الخاصة بوالديهم المصابين بالربو أن مستوى IgE للأطفال يرتبط بشكل كبير بمستويات IgE للأمهات المصابات بالربو ($P = 0.4254$) وليس مع آبائهم ($P = 0.0006$). وكذلك بالنسبة لـ IL-4، وجدنا أن مستويات مصل IL-4 للأطفال مرتبطة بشكل كبير بمستويات IL-4 للأمهات المصابات بالربو ($P = 0.7996$) وليس مع آبائهم ($P = 0.0003$). يكشف التحليل الوراثي أن الأليل T الخاص بمتعدد الأشكال C/ T-590 هو من أصل أمومي ($P = 0.001$) وأنه ينتقل الى الجنس الانثوي اكثر من الجنس الذكري ($P = 0.009$) وأن أعلى المعدلات المصلية لـ IgE و لـ IL-4 مرتبطة بالأنماط الوراثية الأمومية CT و TT ($P = 0.009$) و لـ IgE ($P = 0.003$). **الخلاصة:** يمكن تفسير الطبيعة العائلية لمرض الربو من خلال كل من المكون الوراثي وتأثير البيئة المشتركة.

الكلمات المفتاحية : الربو, الحساسية, التأتب, IL-4, IgE, SNP, C /T-590 .

REMERCIEMENTS

ET

DÉDICACES

REMERCIEMENTS

Nos profonds remerciements au bon Dieu qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné le courage pour réaliser ce modeste travail.

Nos sincères remerciements :

À mon Encadreur de mémoire,

À Madame le Docteur **Dahbia Ines DAHMANI,**

Je tiens à vous remercier pour l'aide que vous m'avez apportée, l'orientation et la disponibilité. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

À mon Co-encadreur,

À Madame le Docteur **Sara MALKI,**

Je vous remercie pour votre disponibilité et votre professionnalisme, et l'aide que vous m'avez apportée dans le recueil des données.

Au Présidente du jury,

À Madame le Professeur **Leila ROUABAH,**

Professeur de l'Université Frères Mentouri Constantine 1,

*Vous m'avez fait l'honneur de présider le jury et de juger mon travail
Que ce travail soit le témoignage de mon estime et de mon profond respect.*

Aux membres du jury,

À Madame le Docteur **Nousseiba ABED,**

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Veuillez croire en ma profonde reconnaissance

Aux enseignants-chercheurs,

Du département de Biochimie et Biologie cellulaire et moléculaire.

À toute l'équipe médicale du Service de Médecine Interne – Unité d'Explorations

Fonctionnelles El-Khroub Constantine,

En particulier Monsieur le Docteur **Djamal DRIDI,**

Aux patients et leurs parents :

Une pensée pour vous ...

*Votre douleur, votre Histoire, vos inquiétudes, votre Bonheur ou vos épreuves rythment
notre vie professionnelle. Vous participez à notre formation ; votre santé est notre priorité.*

En bref,

*Nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de
ce travail.*

شكرا


DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail principalement :

À ma famille,

Merci **Papa et Maman,**

Pour votre présence, votre amour, votre affection, votre écoute, votre soutien, cette éducation durant toutes ces années, sont pour moi les piliers qui font ce que je suis et où je suis aujourd'hui. J'espère vous rendre fiers.

Merci mes sœurs **Linda, Wahiba, Samira, Sabrina, Lili, Yousra** 

« Il était une fois, sept princesses »

Merci mon frère **Abd El Karim,**

Vous êtes des frères exemplaires qui m'a soutenue, aidée, écoutée, supportée durant ces études.

Merci mes neveux et nièces avec beaucoup d'amour,

Louai, Souhaib, Abd El Hadi, Talel, Abd El Ssabour, Mohamed El Habib, Abd El Rahmen, Ritedj, Manar El kods, Aridj, Rimes, Asma, Oumnia, Jana, Nour El Yakine.

Merci à ma **famille paternelle**, Merci à ma **famille maternelle**

Je pense à tous ces moments conviviaux et de partage, à mon enfance, à votre aide.

À mes amis,

Merci à mes amis d'enfance

Merci à mes amis et collègues de l'université

J'ai passé des années très chaleureuses grâce à vous ! J'espère qu'on restera en contact à l'avenir !

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS & DÉDICACES

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION

CHAPITRE I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

Première partie : L'asthme allergique

I. Atopie	6
II. Asthme	6
II.1.Définition	6
II.2.Phénotypes de l'Asthme	7
II.2.1.Asthme allergique (extrinsèque)	7
II.2.2.Asthme non-allergique (intrinsèque)	7
II.2.3.Asthme d'exercice	8
II.3.Epidémiologie de l'asthme	8
II.3.1.Prévalence	8
II.3.2.Mortalité	8
II.3.3.Morbidité	8
II.4.Facteurs de risque de l'asthme	9
II.4.1.Facteurs de susceptibilité individuelle	9
II.4.2.Facteurs environnementaux	10
II.4.3.Facteurs protecteurs	11
III. Allergie	12
III.1.Définition	12

III.2.Allergènes	12
III.3.Types d'allergènes	13
III.4.Hypersensibilité	13
III.4.1.Hypersensibilité de type I	14
III.4.2.Hypersensibilité de type II	14
III.4.3.Hypersensibilité de type III	14
III.4.4.Hypersensibilité de type IV	14
IV. Physiopathologie de l'asthme allergique	15
IV.1.Inflammation bronchique	15
IV.2.Remodelage bronchique	17
IV.3.Hyperactivité bronchique	18
V. Diagnostic	19
V.1.Diagnostic clinique	19
V.2.Examens complémentaires	19
V.3.Exploration fonctionnelle respiratoire EFR (Spirométrie)	19
V.4.Diagnostic Biologique	20
V.5.Diagnostic de l'asthme : visions futures	21

Deuxième partie: Génétique de l'asthme allergique

I. Analyse de liaison (Linkage)	24
II. Étude familiale	24
III. Étude d'association	24
III.1.Gènes associé à l'asthme allergique	25
III.2.Gène de l'Interleukine-4 et le polymorphisme -590C/T	28

CHAPITRE II: PATIENTS ET MÉTHODES

I. Patients	32
I.1. Populations étudiées	32
I.1.1.Critères de sélectivités des Trios : Familles (Père, mère et l'enfant asthmatique)	32
I.1.2.Population des témoins	33
I.2. Recueil des données	33
II. Méthodologie	34
II.1.Examens pour l'asthme	34

II.1.1.Examen clinique de l'asthme	34
II.1.2.Examen paraclinique	35
II.1.2.1.Téléthorax	35
II.1.2.2.Explorations fonctionnelles respiratoires (EFR)	35
II.1.2.3.Protocole	35
II.1.2.4.Test de bronchodilatation	36
II.2.Confirmation du statut allergique des patients (étude immunologique)	36
II.2.1.Tests cutanés (Prick tests)	36
II.2.2.Dosage des IgE par Quantia IgE	38
II.2.3.Dosage de l'interleukine-4 par ELISA	40
II.3.Évaluation de l'eczéma et la rhinite	43
II.4.Étude moléculaire	43
II.4.1.Extraction d'ADN à partir de sang total	43
II.4.2.PCR des régions d'intérêt des gènes étudiés	47
II.4.3.Digestion des produits de PCR par des enzymes de restriction	51
III. Analyse statistique des données	53
III.1.Analyses uni variées	53
III.2.Analyses bi variées	54
III.3.Test du déséquilibre de transmission (TDT)	54

CHAPITRE III: RÉSULTATS

I. Résultats	56
I.1. Répartition des paramètres anthropométriques, cliniques et biologiques des familles étudiées	56
I.2. Répartition des enfants asthmatiques selon les antécédents familiaux de l'asthme et de l'allergie	58
I.3. Répartition des enfants asthmatiques selon la consanguinité dans les trois dernières générations	59
I.4. Répartition des parents et leurs enfants selon le profil de la maladie (asthme allergique)	60
I.4.1.Répartition des parents et leurs enfants selon le statut asthmatique	60
I.4.2.Répartition des parents et leurs enfants selon le statut allergique	60
I.4.3.Corrélation entre les taux des IgE totales, les concentrations d'Il-4 des parents	

asthmatiques et leurs enfants	61
I.5. Répartition des parents et leurs enfants selon les facteurs environnementaux	62
I.5.1. Répartition des familles selon le type d'habitat	62
I.5.2. Répartition des parents asthmatiques et leurs enfants selon le type d'allergène au quelle ils sont sensibilisés	63
I.5.3. Répartition des enfants asthmatiques selon les éléments déclencheurs de leurs crises d'asthme	64
I.5.4. Répartition des enfants asthmatiques et non-asthmatiques selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse	65
I.6. Répartition des parents et leurs enfants selon les facteurs génétiques	66
I.6.1. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour l'asthme	66
I.6.2. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour l'eczéma et la rhinite allergique	67
I.6.3. Statut parental de l'asthme allergique et l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590 C/T chez les enfants (maternelle ou paternelle)	68
I.6.4. TDT (desequilibrium transmission test) pour la transmission parentale des allèles du polymorphisme -590C/T	70
I.6.4.1. TDT (Transmission disequilibrium test) général	70
I.6.4.2. TDT pour les mères et les pères Vs enfants	71
I.6.5. Répartition des enfants asthmatiques en fonction du sexe et des génotypes du polymorphisme -590C/T	72
I.6.6. Moyennes et écart types du taux des IgE totales et la concentration d'IL-4 sérique en fonction des génotypes du polymorphisme -590C/T (enfants vs. parents)	73
I.6.7. Interaction entre les génotypes maternels du polymorphisme -590C/T et le taux des IgE totales et d'IL-4 des enfants	78

CHAPITRE IV: DISCUSSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

Figure.1 : l'initiation et l'entretien de la réponse inflammatoire dans l'asthme.....	16
Figure.2 : Présentation schématique de l'interaction entre l'inflammation et le remodelage bronchique dans l'asthme.....	18
Figure.3 : Représentation schématique des éléments de commande connus au sein du promoteur IL-4 par rapport à le polymorphisme -590C/T.....	30
Figure.4 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 3 % des fragments amplifiés (252pb) par PCR du polymorphisme (-590 C/T) du promoteur du gène de IL-4.....	51
Figure.5 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de BsmFI I présentant différents génotypes du polymorphisme -590C/T du promoteur d'IL4.....	53
Figure.6 : La répartition des enfants asthmatiques selon les antécédents familiaux de l'asthme et de l'allergie.....	58
Figure.7 : La répartition des enfants asthmatiques selon la consanguinité.....	59
Figure.8 : La répartition des familles selon le type d'habitat.....	62
Figure.9 : la répartition des parents et leurs enfants asthmatiques selon les allergènes déclencheurs de leurs crises d'asthme.....	63
Figure.10 : La comparaison des enfants asthmatiques et les enfants sains selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse.....	65
Figure.11 : La répartition des enfants asthmatiques en fonction du sexe et des génotypes du polymorphisme -590C/T.....	72
Figure.12 : La comparaison des taux d'IgE totales des enfants et de leurs pères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T.....	74
Figure.13 : la comparaison des taux d'IgE totales des enfants et de leurs mères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T.....	75
Figure.14 : la comparaison des taux d'IL-4 sériques des enfants et de leurs pères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T.....	76
Figure.15 : La comparaison des taux d'IL-4 sériques des enfants et de leurs mères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T.....	77
Figure.16: La comparaison entre les taux d'IgE totale des enfants asthmatiques selon les génotypes maternels.....	79
Figure.17: La comparaison entre les taux sériques d'IL-4 des enfants asthmatiques selon les génotypes maternels.....	80

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau.1</u> : Classification de Gell et Coombs.....	15
<u>Tableau.2</u> : Les paramètres anthropométriques, cliniques et biologiques des parents et leurs enfants asthmatiques.....	56
<u>Tableau.3</u> : La comparaison entre les enfants et leurs parents selon le statut asthmatique.....	60
<u>Tableau.4</u> : La comparaison entre les enfants et leurs parents selon le statut allergique.....	60
<u>Tableau.5</u> : La comparaison des taux des IgE totales et les concentrations d'IL-4 entre les enfants et les parents asthmatiques.....	61
<u>Tableau.6</u> : La répartition des enfants asthmatiques selon les éléments déclencheurs de leurs crises d'asthme.....	64
<u>Tableau.7</u> : La comparaison des enfants asthmatiques et les enfants sains selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse.....	65
<u>Tableau.8</u> : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents asthmatiques.....	66
<u>Tableau.9</u> : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590 C/T chez les enfants et leurs parents pour l'eczéma.....	67
<u>Tableau.10</u> : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour la rhinite allergique.....	67
<u>Tableau.11</u> : Le statut parental et l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590C/T (maternelle ou paternelle).....	68
<u>Tableau.12</u> : Le TDT général pour la transmission parentale des allèles du polymorphisme -590C/T.....	70
<u>Tableau.13</u> : le TDT pour les mères Vs enfants et les pères Vs enfant.....	71
<u>Tableau.14</u> : La comparaison entre le taux d'IgE totale et la concentration d'IL-4 sérique et les génotypes du polymorphisme -590 C/T.....	73
<u>Tableau.15</u> : La comparaison entre le taux d'IgE totale et la concentration d'IL-4 sérique des enfants asthmatiques et les génotypes maternels.....	78

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
ARIA	Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
ATS	American Thoracic Society
AAFA	Asthma and Allergy Foundation of America
DALYs	Disability Adjusted Life Years
EFR	Explorations Fonctionnelles Respiratoires
FcεRI	Récepteurs de haute affinité pour les IgE
FCεRII	Récepteurs de faible affinité pour les IgE
GBD	Global Burden of Disease
GINA	Global Initiative for Asthma
HRB	Hyperréactivité bronchique
IL-4	Interleukine-4
IgE	Immunoglobuline E
ISAAC	International Study of Asthma and Allergy in Childhood
LB	Lymphocytes B
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
TDT	Transmission Disequilibrium Test
Th1	Type 1 t-Helper lymphocytes
Th2	Type 2 t-Helper lymphocytes
TNF	Tumor Necrosis Factor
VEMS	Volume Expiratoire Maximal par Seconde
YLD	Years of Life lived with Disability
YLL	Years of Life Lost

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le terme « asthme » apparaît, pour la première fois, au XII siècle avant notre ère dans l'Illiade de Homer lorsqu'il a décrit l'état respiratoire d'Hector. Donc le mot « asthme » vient du grec « asthma » qui fut repris au sens de « respiration difficile » [1].

L'asthme est une maladie fréquente qui représente un problème principale de santé publique, il affecte les personnes de tous les groupes d'âge avec une estimation de 339.4 million asthmatiques à travers le monde [2]. L'étude GBD (Global Burden of Disease) a estimé en 2016 que l'asthme a contribué à 23.7 millions de DALYs (Disability Adjusted Life Years) et il a été classé le 16^{ème} parmi les causes de YLD (Years of Life lived with Disability) dans le monde [2].

Vers les années 1860, l'état d'obstruction réversible des voies bronchique était considéré comme la seule manifestation clinique pour caractériser l'Asthme. Par la suite, la notion d'hyperréactivité bronchique (HRB) était ajoutée dans le profil du diagnostic de cette maladie [3]. Aujourd'hui, d'après GINA (Global Initiative for Asthma), L'asthme peut être défini comme un syndrome inflammatoire chronique de la muqueuse bronchique caractérisé par un trouble ventilatoire obstructif réversible, une hyperréactivité bronchique et des épisodes récurrents [4] résultant d'interactions complexes entre des prédispositions génétiques et des facteurs environnementaux [5].

Bien que l'Asthme ait été considéré, depuis longtemps, comme un syndrome homogène, des études récentes ont montré que l'Asthme consiste à plusieurs phénotypes ce qui confirme l'hétérogénéité de cette maladie. Parmi ces phénotypes on distingue l'Asthme allergique (atopique) [6]. De nombreuses études épidémiologiques sont arrivés à prouver que l'atopie est un facteur de risque constant de l'asthme et ils ont estimé que la proportion de l'asthme attribué à l'atopie chez les enfants est de 38% [7]. pas tout asthme est atopique et la plupart des atopies ne développent pas de l'asthme [8].

Cependant l'hérédité dans l'asthme a été démontré dès les premières études sur les familles et les jumeaux, mais aujourd'hui, et grâce au développement des progrès de la biologie moléculaire et les outils statistique les gènes de susceptibilité à l'asthme et à l'atopie ont été cartographiés [9]. Chaque gène a sa propre tendance à être influencé par des facteurs environnementaux [5] et il est intéressant de noter que la plupart de ces gènes sont

impliqués dans le processus d'inflammation et du remodelage de la maladie [4]. De nombreuses Cytokines jouent un rôle fondamentale dans le développement de l'état d'inflammation chez l'asthmatique parmi ces Cytokines nous avons : l'IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 et IL-33, dans notre étude nous allons mettre l'accent sur l'IL-4 [10] qui est un Cytokine de faible poids moléculaire (polypeptide de 129 acides aminés) codé par le gène IL-4 localisé au niveau du chromosome 5q23.31 :IL-4, elle est essentielle pour la maturation des cellules T naïves aux cellules Th2 et la production de l'IgE qui est essentiellement impliquée dans la pathogénèse de l'asthme.

Il est à noter que la présence d'un polymorphisme au niveau des régions régulatrices jouent un rôle clé dans la régulation de l'expression de gène ce qui aura une répercussion sur la quantité de cytokines produits, le meilleur exemple qu'on pourra citer ici est celui de l'hypersécrétion de l'IL-4 issue de la substitution de C par T au niveau de la position -589 du promoteur du gène codant pour l'IL-4 [5]. Cette hypersécrétion va induire un déséquilibre dans la balance TH1/TH2 en faveur des cellules TH2 et par conséquent on aura l'augmentation du taux sérique de l'IgE qui représente un facteur exacerbant de l'asthme d'origine allergique [10].

De nombreuses études d'association et familiales suggèrent également l'existence d'une empreinte maternelle ou paternelle dans la composante génétique de l'asthme en utilisant des marqueurs génétiques comme les polymorphismes situés dans des régions chromosomiques candidats.[11]

Dans ce contexte, L'objet de notre travail de mémoire consistait à répondre aux objectifs suivants :

- Evaluer l'association entre l'histoire familiale de l'asthme, l'allergie et la susceptibilité à développer l'asthme allergique.
- Tester si l'asthme est associé au statut asthmatique maternel ou bien paternel.
- Exploiter l'effet des facteurs de risques environnementaux (le type d'habitat, la sensibilisation aux allergènes et l'exposition intra-utérine au tabagisme maternel passif) sur la susceptibilité à l'asthme allergique.
- Montrer l'association du polymorphisme -590 C/T du promoteur du gène de l'IL-4 avec la triade atopique (asthme, eczéma, rhinite allergique).

- Exploiter le statut parental de l'asthme afin de déterminer l'origine de l'allèle muté T soit maternelle ou paternelle par le calcul des fréquences génotypique et alléliques et enfin la confirmation de nos résultats par le test TDT.
- Montrer l'association entre la présence de l'allèle muté T du SNP étudié et les taux élevés des IgE et d'IL-4 chez les enfants et leurs parents.
- Evaluer la relation entre le sexe et les différents génotypes du polymorphisme - 590C/T.
- Evaluer l'effet du génotype maternel sur l'environnement intra-utérin et la susceptibilité à développer l'asthme allergique chez l'enfant au cours de sa vie.

CHAPITRE I

RECHERCHE

BIBLIOGRAPHIQUE

Première partie

L'asthme allergique

I. Atopie

En 1923, Coca et Cooke proposent de réunir sous un même terme les manifestations cliniques d'allergie : ils choisissent le terme d'atopie du grec a (privatif) et topos (lieu). C'est la tendance héréditaire à avoir des réactions allergiques. Classiquement l'atopie se définit comme une prédisposition à développer une réponse IgE vis-à-vis des allergènes environnementaux qui ne provoquent aucune réaction chez les sujets ne présentant pas d'atopie [12]. Elle est caractérisée par l'activation des lymphocytes T qui induisent une production anormalement élevée d'anticorps IgE et l'activation des éosinophiles. Le diagnostic de l'atopie est habituellement fait sur base de la positivité des tests cutanés aux pneumallergènes les plus courants (pollens, acariens, phanères d'animaux). Parfois l'atopie est assimilée à l'élévation du taux d'IgE circulante indépendamment de leur réactivité aux allergènes de l'environnement. Cette sensibilisation lorsqu'elle survient, peut rester asymptomatique ou créer les conditions de survenue d'une affection atopique : l'asthme, l'allergie, la dermatite atopique, la rhinite allergique. Elle est bien évidemment liée à l'exposition aux pneumallergènes et tant qu'il n'y a pas d'exposition il n'y a pas moyen de mettre en évidence le terrain atopique même chez des sujets à risque.

II. Asthme**II.1. Définition**

L'Asthme est une maladie inflammatoire chronique de la muqueuse des voies aériennes dont ces derniers s'obstruent lorsque l'individu prédisposé est exposé à des déclencheurs spécifiques (allergènes, virus et exercice). Cette inflammation provoque des troubles fonctionnels ventilatoires de manifestations cliniques persistantes ou intermittentes tels : la toux (qui peut être sèche ou productive), Dyspnée, expectorations, intolérance à l'effort, oppression thoracique et le sifflement. Ces signes cliniques sont associés à une obstruction bronchique, généralement réversible, améliorée par un traitement (des bronchodilatateurs et des corticoïdes inhalés) ou spontanément ainsi à une hyperréactivité des voies bronchiques à divers stimuli [6].

Des études récentes ont montré que, des modifications anatomopathologiques au niveau de la muqueuse bronchique à cause de l'inflammation chronique peuvent être irréversibles et que c'est symptômes sont été observés chez des sujets décédés d'asthme [13].

En effet, la forme familiale de l'asthme allergique ajoute la notion d'hérédité comme facteur génétique qui s'accompagne de facteurs environnementaux déclenchant les crises d'asthme. Il s'agit donc, au plan étiologique, d'une prédisposition héréditaire multifactorielle hétérogène [14].

II.2. Phénotypes de l'Asthme

La détermination du phénotype de l'asthme est basé sur la combinaison des caractéristiques cliniques, pathologique et démographiques ainsi que les processus physiopathologiques et inflammatoires de l'asthme et la réponse attendue aux traitements [15]. La caractérisation de ces phénotypes est importante afin d'identifier les causes et les mécanismes étiologiques de l'asthme et de guider le développement des processus thérapeutiques [16]. Plusieurs phénotypes ont été identifiés, parmi lesquels :

II.2.1. Asthme allergique (extrinsèque)

L'asthme allergique, qui fait l'objet de notre présente étude, est le plus répandu entre les phénotypes de l'asthme qui peut se développer à un âge précoce (avant 6 ans). Il est associé à l'atopie et aux antécédents familiaux de maladies allergiques comme l'eczéma, la rhinite allergique, les allergies alimentaires et médicamenteuses et qui se caractérise par une inflammation à éosinophiles des voies respiratoires. Les patients souffrant d'asthme allergique répondent bien à la corticothérapie [17].

II.2.2. Asthme non-allergique (intrinsèque)

Survient généralement à un âge plus tardif. Il n'est pas associé à une maladie allergique mais fréquemment associé à une sinusite chronique et une polypose nasale. Le profil cellulaire des expectorations chez les patients souffrant de ce phénotype d'asthme peut être de nature neutrophilique, éosinophilique ou contenant seulement quelques cellules inflammatoires (pauci granulocytaire) avec une moins bonne réponse aux corticoïdes [17].

II.2.3. Asthme d'exercice

Bien que ce phénotype soit décrit depuis longtemps mais on sait peu sur son processus inflammatoire. Il est susceptible de se déclencher après un exercice (il y a une diminution du VEMS de 10 à 15%) et s'aggrave avec le froid et le climat sec [15].

II.3.Épidémiologie de l'asthme**II.3.1. Prévalence**

La prévalence de l'asthme a été largement étudiée à l'échelle mondiale chez les enfants et les adultes. Cependant, plusieurs études se concentrent sur la prévalence de l'asthme chez les enfants notamment les études ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood) [2].

En 2008, l'étude AIRMAG (Asthma Inside Reality in Maghreb), qui a pour but d'estimer la prévalence de l'asthme et son niveau de contrôle dans la population maghrébine (en Algérie, en Tunisie et au Maroc), a retrouvé que la prévalence de la maladie en Algérie est de 3.1 % pour les adultes et de 4.1 % pour les enfants et que le niveau de contrôle de l'asthme est de 24.1 % chez les adultes et de 31.6 % chez les enfants [18].

II.3.2. Mortalité

La mortalité à cause de l'asthme est relativement faible dans tous les âges et cela serait attribué au meilleur contrôle des symptômes ainsi que l'amélioration du traitement des exacerbations [19]. Il a été estimé que l'asthme entraîne 346 000 décès chaque année dans le monde entier [20] et représente 3.3 % des causes de mortalité parmi les maladies respiratoires avec une estimation de 5000 décès par ans en Algérie[21], [3].

II.3.3. Morbidité

L'asthme a des répercussions socio-économiques dont le coût économique global de l'asthme est vraiment considérable que ce soit le coût direct (médicaments, hospitalisation et les visites médicales) ou indirect (congé de maladie, les jours d'absences ainsi que le décès prématuré) [22]. Cependant, au-delà des coûts économiques, il a été estimé en 2016 que 23.7 millions de DALYs sont perdues chaque année. Bien que la mortalité attribuée à l'asthme est faible, l'asthme a été classé le 23^{ème} cause d'années de vie perdue (YLL) due à la mortalité prématuré parmi les autres maladies et le 16^{ème} cause d'années vécues avec l'incapacité (YLD) [2].

En 2007, l'institut national de la santé publique INSP a réalisé une enquête TAHINA et il a classé l'asthme au 3^{ème} rang parmi les maladies chroniques en Algérie [3].

II.4. Facteurs de risque de l'asthme

L'étiologie de l'asthme est multifactoriel dont ces facteurs sont complexes et interactive et pouvant être de deux types : les facteurs de susceptibilité individuelle et les facteurs environnementaux favorisant ou aggravant la maladie [20].

II.4.1. Facteurs de susceptibilité individuelle**II.4.1.1. Prédisposition génétique**

Des études familiales et jumelles indiquent que l'hérédité est un facteur de risque qui joue un rôle crucial dans la prédisposition et le développement de l'asthme. C'est une maladie polygénique dont de nombreux gènes identifiés sont impliqués dans son processus physiopathologique [23]. En effet, les recherches réalisées sur les gènes liés au développement de l'asthme sont concentrées sur quatre champs : la production des anticorps immunoglobuline E (IgE) spécifiques pour l'allergène (terrain atopique), l'expression de l'hypersensibilité des voies respiratoires, la production des médiateurs de l'inflammation comme les cytokines et les facteurs de croissance, et la détermination du rapport Th1/Th2. L'inflammation bronchique associée à l'asthme est fortement liée aux gènes localisés au niveau du chromosome 5q [20].

II.4.1.2. Sexe et âge

Le sexe influence le développement de l'asthme de manière dépendante de l'âge. Durant l'enfance, le sexe male est un facteur de risque de l'asthme dont l'incidence et la prévalence de l'asthme est plus élevée chez les garçons que chez les filles jusqu'à l'âge de 13 à 14 ans [23] et cela peut être attribué à la différence de la taille des poumons et des voies respiratoires qui sont plus petites chez les garçons que chez les filles ce qui rend l'obstruction bronchique plus importante alors que l'asthme commençant à l'âge adulte concerne plus souvent les femmes que les hommes [20].

II.4.1.3. Obésité

La prévalence de l'asthme est augmentée chez les individus obèses dont l'indice de masse corporelle est supérieur à 30 Kg/m^2 , cette augmentation est observée en particulier chez les femmes symptomatiques de l'obésité abdominale que chez les hommes [20]. Aujourd'hui, il est bien connu que l'obésité est un facteur de risque prédisposant

l'expression de l'asthme et elle est associée au mauvais contrôle et à la gravité des symptômes de la maladie constituant ainsi un phénotype de l'asthme à part entière [22].

II.4.2. Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux peuvent être des facteurs de la survenue et/ou d'aggravation des symptômes, parmi lesquels : l'exposition aux allergènes, le tabagisme, la pollution atmosphérique, les infections, l'exercice.

II.4.2.1. Exposition allergénique

La sensibilisation des voies aériennes est en relation avec l'exposition aux allergènes, cette sensibilisation allergique est en cause de l'augmentation de l'incidence de l'asthme chez les enfants et la persistance de cette maladie jusqu'à l'âge adulte [22].

Les allergènes en cause de l'asthme sont multiples, signalons en particulier : les allergènes domestiques et les allergènes extra-domestique.

II.4.2.2. Facteurs favorisants et/ou aggravants

II.4.2.2.1. Tabagisme

Le tabagisme, qu'il soit actif ou passif, est associé à la survenue et à l'aggravation de l'asthme. Chez les asthmatiques, le tabac est délétère par son action irritante sur les voies respiratoires, il contribue à la sévérité de l'asthme et rend le contrôle et la réponse au traitement plus difficile [22].

La combustion de la cigarette provoque la formation de très nombreuses substances toxiques pour l'organisme. la fumée de tabac est un mélange de gaz et de particules qui contient environ 4500 constituants différents, parmi lesquels les plus importants sont la nicotine, le monoxyde de Carbone (CO), les hydrocarbures polyaromatiques etc. [24], [25].

- ***Tabagisme passif***

Des études ont montré que le tabagisme in utéro est à l'origine de modifications structurelles et fonctionnelles importantes des bronches respiratoires dont les conséquences seront une diminution de la compliance pulmonaire, une augmentation de la résistance des voies aériennes et une hyperréactivité bronchique et donc une altération des propriétés mécaniques du système respiratoire. De ce fait, il a été associé à la survenue de l'asthme chez les enfants [25], [24].

▪ Tabagisme actif

Actuellement, il y a peu de données de la littérature concernant le rôle du tabagisme actif comme facteur de risque du développement de l'asthme mais il est évident que le tabagisme actif est un facteur aggravant. Cependant, il a été associé à la sévérité et au mauvais contrôle ainsi qu'aux nombres élevés d'hospitalisations [26].

II.4.2.2.2. Pollution atmosphérique

Plusieurs études ont démontré le rôle de l'exposition aux polluants atmosphériques dans l'exacerbation de l'asthme préexistant [27], [28].

II.4.2.2.3. Infections

Les infections des voies respiratoires peuvent contribuer au développement et à l'expression clinique de l'asthme [29]. Chez les asthmatiques, les infections, en particulier les infections virales, induites notamment par le virus respiratoire syncytial (VRS) et le rhinovirus humain et le virus de la grippe sont des facteurs d'aggravation qui pourraient exacerber la symptomatologie asthmatique [29], [30].

II.4.2.2.4. Autres facteurs d'exacerbation de l'asthme

- **L'entraînement** et le niveau élevé de **l'activité physique** [31]
- **Le reflux gastro-œsophagien (RGO)** [32].
- **Les pathologies ORL.**
- **Les hormones sexuelles** pourraient jouer un rôle dans la régulation de l'hyperréactivité bronchique et alors dans les exacerbations asthmatiques [33].
- **Les médicaments** peuvent être parfois un facteur d'exacerbation de l'asthme notamment les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui peut induire des crises de survenue rapide et sévères, les bêtabloquants et l'aspirine [33].

II.4.3. Facteurs protecteurs

En dehors des facteurs de risque nuisibles, il a été démontré que la diversité du microbiote intestinal et du microbiote pulmonaire est associée à l'apparition de l'asthme. Bien que les microbiotes ont un effet protecteur grâce à l'exposition à l'environnement dans l'enfance ou durant la grossesse mais ils sont arrivés à changer à cause de différentes expositions tels que la pollution atmosphérique, le tabac, les pesticides, etc. et dans ce cas-là,

ils pourrait devient alors des facteurs de risque du développement de l'asthme au lieu d'être des facteurs protecteurs contre cette maladie [22].

III. Allergie

III.1. Définition

Le terme « allergie » a été utilisé pour la première fois par Clemens von Pirquet pour faire la distinction entre les réponses immunitaires protectrice et celles dommageables de l'organisme [34]. L'allergie est une des maladies les plus fréquentes dans les pays développés surtout les pays industriels dont 25% de leurs populations souffrent d'allergies. Selon AAFA (Asthma and Allergy Foundation of America) en 2002, les allergies sont la sixième cause principale des maladies chroniques dans les U.S [35].

L'allergie peut être défini comme l'ensemble des manifestations cliniques apparait suite à une réponse immunologique liée à la synthèse des anticorps (IgE et autres types) spécifiques [36], cette réponse est caractérisé par l'excessivité conte des substances, appelées allergènes, qui ne sont pas inoffensifs pour la plupart des gens [35]. On devrait faire la distinction entre le terme d' « allergie » et le terme de « sensibilisation » dont l'individu prédisposé génétiquement a la tendance de développer une sensibilisation dépendante d'IgE spécifique lorsqu'il est exposé d'une manière suffisante aux allergènes. Lors d'un deuxième contact avec l'allergène, des manifestations cliniques peuvent apparaitre suite à la sensibilisation (réaction antigène-anticorps). Donc l'allergie est une expression clinique d'une sensibilisation [36].

III.2. Allergènes

Les allergènes sont des antigènes capables de déclencher une réaction immunologique spécifique, Ils sont de nature protéique [36]. On distingue deux caractéristiques pour l'allergène :

- ***Le pouvoir allergénique*** : c'est la capacité d'un allergène de développer une allergie.
- ***Le poids moléculaire*** : si on se concentre sur les pneumallergènes, les particules allergéniques de poids moléculaire supérieur à 10 μm s'arrêts dans les fosses nasales et ceux de 2 à 5 μm vont arriver et se déposer dans les bronches et les petites particules de taille inférieure à 1 μm arrive jusqu'aux alvéoles [37].

III.3. Types d'allergènes

On distingue cinq catégories d'allergènes :

- A. Les pneumallergènes ou aéro-allergènes :** Ils sont présents dans l'air ambiant et pénètrent dans l'organisme par voie respiratoire comme les acariens, les poils d'animaux, les pollens.
- B. Les trophallergènes :** pénètrent l'organisme par voie alimentaire. Ces allergènes alimentaires sont contenus dans les aliments.
- C. Les allergènes de contact :** ils sont à l'origine d'allergies lorsqu'ils sont en contact direct avec la peau comme les accessoires qui contiennent du Nickel ou du Chrome.
- D. Les venins d'hyménoptères :** certains individus sont allergiques aux venins d'hyménoptères comme les abeilles, les guêpes, les bourdons.
- E. Les médicaments :** se trouvent dans certains médicaments comme : les antibiotiques, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens ou utilisés en anesthésie comme les curares [38].

III.4. Hypersensibilité

Les réactions d'hypersensibilité correspondent à un état d'une réactivité altérée dont le corps développe une réponse immunitaire excessive vis-à-vis des antigènes [39]. Ces antigènes sont soit endogènes ou exogènes. Les réactions immunitaires contre les antigènes endogènes ont lieu dans les maladies auto-immunes. Dans l'autre côté, la plupart des réactions développées contre les antigènes exogènes sont en cause de multiples maladies comme l'asthme allergique [40].

L'hypersensibilité regroupe des mécanismes immunologiques impliquant les anticorps ou les lymphocytes qui attaquent les cellules et les tissus qui ne sont pas, normalement, les cibles de ces mécanismes [36]. En 1963, Gell et Coombs ont proposé une classification des hypersensibilités en quatre types différents. Cette classification est fondée sur la sévérité et la latence de la réaction immunitaire [39].

III.4.1. Hypersensibilité de type I

L'hypersensibilité de type I est une réaction allergique immédiate qui peut avoir des manifestations systémiques ou locales après le contact avec les allergènes [40]. Elle est induite par la présence des anticorps de type IgE spécifiques d'un antigène dans le corps [36].

III.4.2. Hypersensibilité de type II

Aussi appelés hypersensibilité cytotoxique, est une réponse immunitaire rare à médiation d'anticorps de types IgM et IgG. Dans les réactions cytotoxiques, les anticorps se lient spécifiquement aux antigènes attachés à la membrane plasmiques des cellules aboutissant à la formation d'un complexe et à l'activation du complément, qui à son tour, induit la lyse des cellules ou des tissus [39].

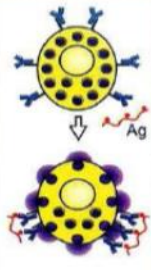
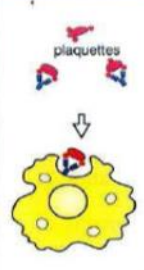

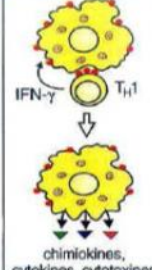
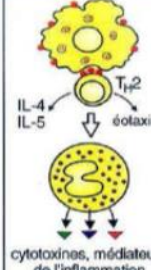
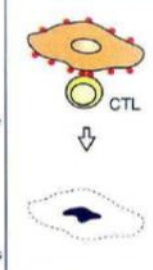
III.4.3. Hypersensibilité de type III

Comme l'hypersensibilité de type II, les réactions d'hypersensibilité de type III sont médiées par les IgG et les IgM à la différence que dans ce type de réponse, les antigènes sont solubles dans le sang et non pas attachés à la surface des cellules. Par conséquent, les anticorps se lient aux antigènes aboutissant à la formation des complexes antigène-anticorps. L'augmentation du nombre des complexes conduit à leur déposition dans divers régions du corps comme les poumons, les reins, la peau et les yeux [39].

III.4.4. Hypersensibilité de type IV

Ce type de réponses correspond à l'hypersensibilité retardée car elles se développent plus de 12 à 24 heures après le contact avec l'antigène et persistent pendant 2 à 3 jours. Les réactions de type 4 sont introduit par les lymphocytes T et d'autres types de cellules comme les macrophages et les cellules T effectrices dont l'antigène est attaché et exposé par des cellules présentatrices [40].

Tableau.1 : Classification de Gell et Coombs [41]

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
Facteur immunitaire en cause	IgE	IgG	IgG	Cellules T _H 1	Cellules T _H 2	CTL
Antigène	Antigène soluble	Antigène associé à la cellule ou à la matrice	Antigène soluble	Antigène soluble	Antigène soluble	Antigène cellulaire
Mécanisme effecteur	Activation des mastocytes	Cellules FcR ⁺ (phagocytes, cellules NK)	Cellules FcR ⁺ Complément	Activation des macrophages	Activation des éosinophiles	Cytotoxicité
						
Exemple de réaction d'hypersensibilité	Rhinite allergique, asthme, anaphylaxie systémique	Allergie à certains médicaments (e.g. pénicilline)	Maladie sérique, réaction d'Arthus	Dermatite de contact, réaction tuberculique	Asthme chronique, rhinite allergique chronique	Dermatite de contact

IV. Physiopathologie de l'asthme allergique

Comme il a été mentionné précédemment, que l'asthme est une maladie chronique complexe et multifactorielle qui implique de multiples gènes et influencée par de nombreux facteurs environnementaux responsables des manifestations cliniques hétérogènes permettant également de distinguer différents phénotypes d'asthme. Dans le plus souvent, la physiopathologie de l'asthme est abordée sous l'angle de l'allergie dont 75 % à 80 % des cas d'asthme sont générés à cause de réponses allergiques suite à l'expositions à des allergènes inhalés [4]. En effet, l'hétérogénéité phénotypique de l'asthme partage des mécanismes physiopathologiques communs impliqués dans le développement de cette maladie :

- **L'inflammation bronchique.**
- **Le remodelage bronchique.**
- **L'hyperactivité bronchique.**

IV.1. Inflammation bronchique

L'inflammation bronchique observée chez les sujets asthmatiques reflète un déséquilibre dans les interactions entre les cellules inflammatoires et les cellules de structure de l'arbre bronchique qui conduit à un ensemble de modifications structurelles regroupée

sous le terme de remodelage bronchique qui participent à l'épaississement de la paroi bronchique et donc à l'aggravation de l'obstruction des voies respiratoires et le développement de l'asthme [42].

Dans ce contexte, il est intéressant de décrire tout d'abord les principaux acteurs du processus inflammatoire bronchique avant d'aborder son mécanisme physiopathologique.

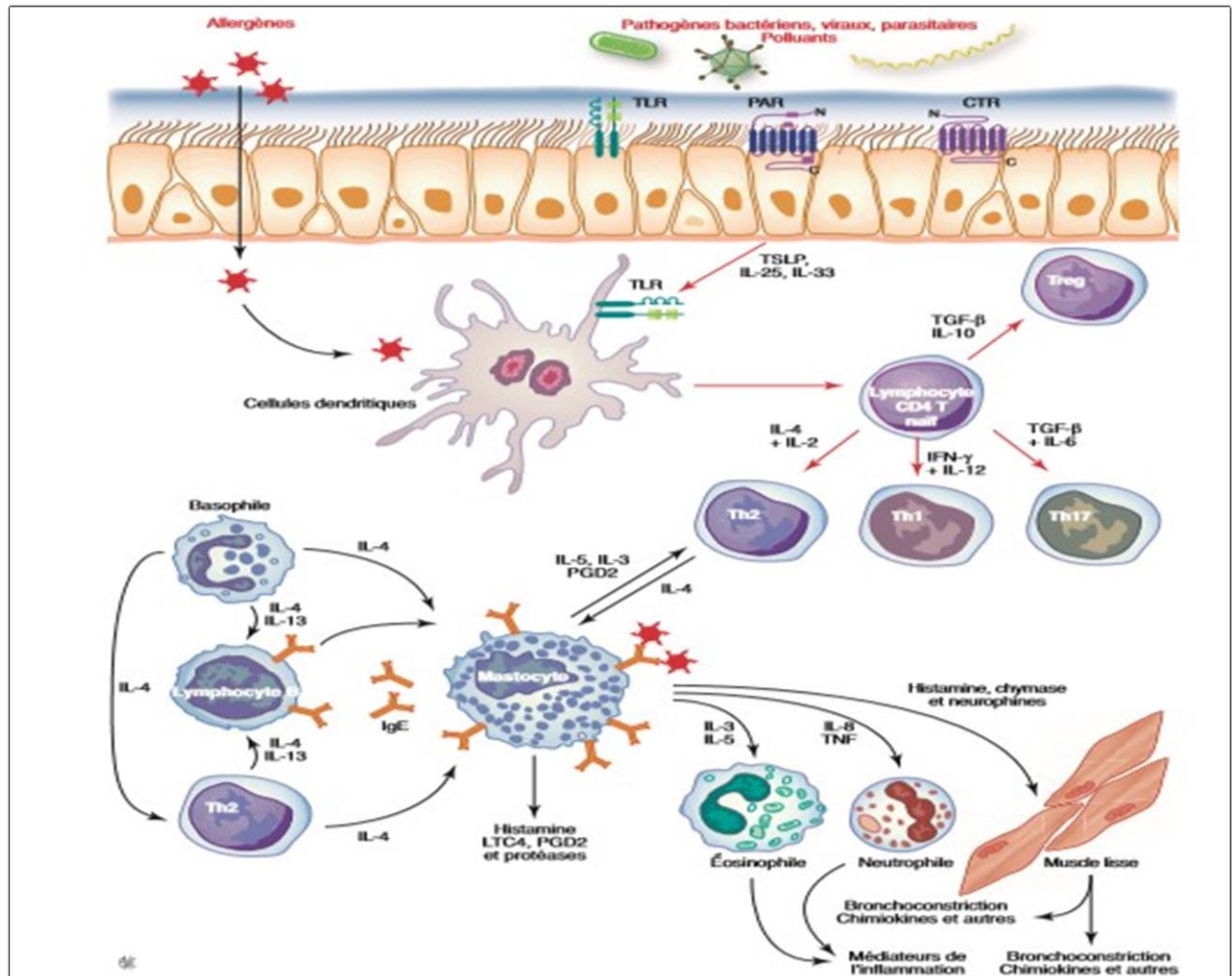


Figure.1 : l'initiation et l'entretien de la réponse inflammatoire dans l'asthme [42]

Lorsque un individu asthmatique est réexposé à un allergène sensibilisant (poils d'animaux, poussière, pollens, etc.) et que ce dernier pénètre dans les voies respiratoire et devient en contact avec la muqueuse bronchique, l'allergène interagit via son complexe protéique avec les IgE spécifiques exprimés à la surface des mastocytes et des basophiles par les récepteurs FcεRI. Cette interaction conduit au déclenchement d'un processus effecteur durant lequel une variété de médiateurs sera libérée tels que l'histamine, des leucotriènes, des prostaglandines et des cytokines dont IL-4 par des cellules inflammatoires

(mastocytes, éosinophiles, monocytes, lymphocytes) et des cellules non-inflammatoires. Ces médiateurs vont déclencher une cascade de réactions inflammatoires au niveau des voies aériennes qui sont à l'origine du développement de l'asthme.

On distingue plusieurs phases de la réponse inflammatoire dans l'asthme allergique :

- **Phase d'initiation** de la réponse allergique appelée aussi de **sensibilisation** dépendante de cellules dendritiques.
- **Phase effectrice** caractérisé par la libération de plusieurs catégories de médiateurs inflammatoires qui vont coordonner la réponse inflammatoire.
- **Phase de réparation** qui apparaît dans le cas d'asthme chronique [43].

IV.2. Remodelage bronchique

Le remodelage bronchique est l'ensemble des remaniements de la paroi des voies aériennes qui conduit chez les personnes asthmatiques à un déclin progressif et irréversible de leur fonction respiratoire. Il se caractérise, sur le plan histopathologie, par des lésions au niveau de l'épithélium bronchique à cause d'une desquamation de celui-ci accompagnée d'une fibrose sous-épithéliale, d'une hypertrophie, d'une hyperplasie du muscle lisse bronchique [43]. Ces modifications associant une infiltration par des cellules inflammatoires, une hypertrophie des cellules glandulaires associé à une hypersécrétion de mucus et une augmentation de la vascularisation [42].

Cependant, l'ensemble de ces altérations structurales sont observé dans les bronches segmentaires des personnes asthmatiques, participants à l'épaississement de la paroi des voies aériennes et donc à une obstruction bronchique [43].

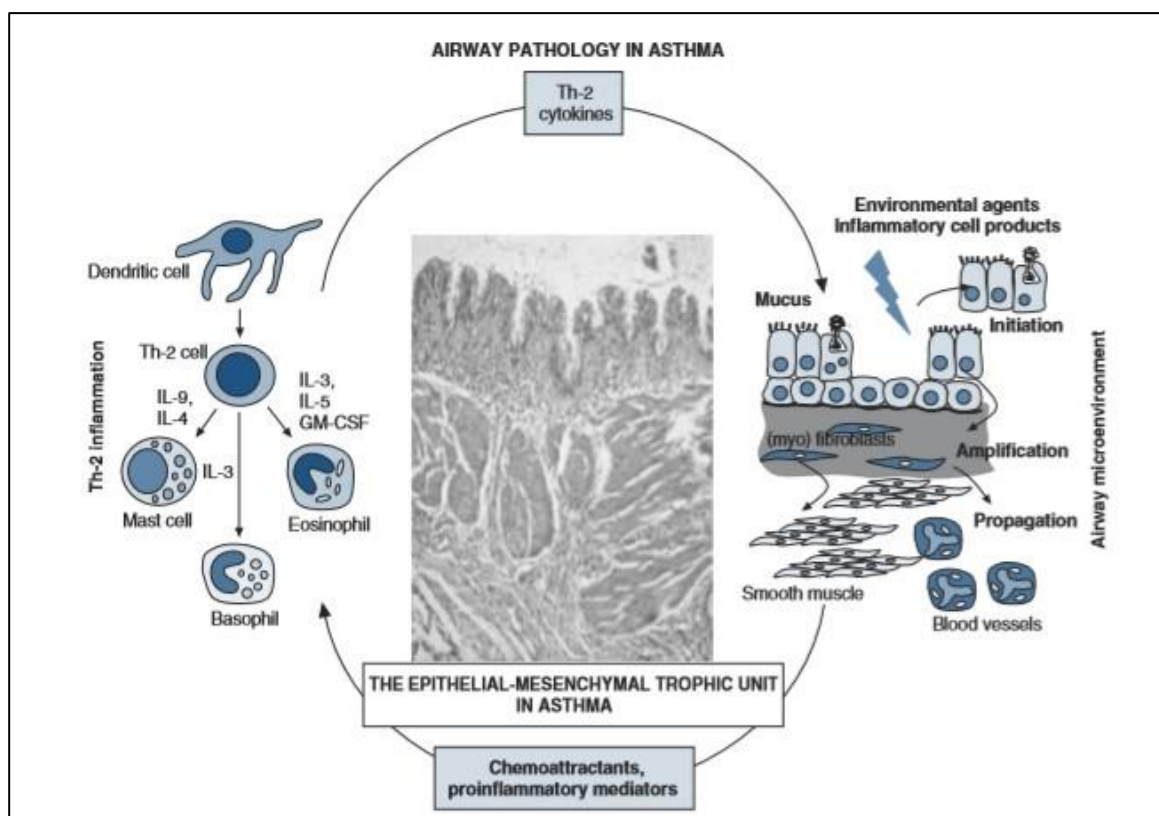


Figure.2 : Présentation schématique de l'interaction entre l'inflammation et le remodelage bronchique dans l'asthme [44]

IV.3. Hyperactivité bronchique

C'est l'aptitude des voies aériennes de développer une obstruction bronchique, il s'agit donc d'une bronchoconstriction en réponse à une stimulation (allergènes, air froid, polluants, effort physique) [43]. En effet, il faut faire la distinction entre l'HRB non spécifique, observée fréquemment dans l'asthme et d'autres pathologies et l'HRB spécifique observée uniquement chez les personnes ayant un asthme allergique.

L'HRB spécifique se déclenche suite à l'inhalation d'un allergène contre lequel le patient asthmatique est sensibilisé [45]. Des études ont montré que la desquamation épithéliale résultante du remodelage bronchique facilite l'accès de l'allergène inhalé aux terminaisons nerveuses de la paroi bronchique qui contrôlent la contraction du muscle lisse en favorisant alors l'hyperactivité bronchique [46].

V. Diagnostic**V.1. Diagnostic clinique**

Le diagnostic de l'asthme est essentiellement clinique. Les symptômes de l'asthme ont été définis depuis 2008 par le groupe GINA : les sibilants, la toux, la dyspnée sifflante, la gêne respiratoire parfois grave (asthme aigu grave ou crise d'asthme sévère), les symptômes surviennent surtout le soir qui sont Généralement réversibles sous bronchodilatateurs.

V.2. Examens complémentaires

- **Radiographie du thorax** : utilisé à la recherche de signes de distension afin d'éliminer une compression extrinsèque des bronches (Tumeur).
- **Radiographie des sinus** : la radiographie des sinus permet de rechercher une sinusite notamment allergique se manifestant par un épaississement en cadres des deux sinus maxillaires.
- **Les tests cutanés** : les tests cutanés sont un examen avantageux, sensible et spécifique pour déterminer l'aspect allergique de l'asthme. Dont surtout le test épicutané et le skin-prick-test. Les tests cutanés peuvent confirmer la présence ou l'absence de sensibilisation. Un test cutané positif doit absolument être mis en relation avec les symptômes anamnestiques.

V.3. Exploration fonctionnelle respiratoire EFR (Spirométrie)

Basés sur la spirométrie. Grâce à la mesure des débits et volumes pulmonaires et la courbe débit volumes, l'obstruction bronchique est mise en évidence et chiffrée. L'obstruction bronchique se caractérise par une augmentation des résistances des voies aériennes à l'écoulement gazeux et elle est définie sur le plan fonctionnel par un rapport VEMS/CV appelé rapport de Tiffeneau < 0.7 ou $<$ à la limite inférieure de la norme, contrairement à la BPCO l'obstruction bronchique dans l'asthme est totalement réversible. La réversibilité est évaluée en utilisant des bronchodilatateurs de courte durée d'action (Ventoline). D'un point de vue pratique, on administre 400 mg ou 04 bouffées et on refait l'examen après 15 mn. L'obstruction est réversible s'il y'a une augmentation du VEMS et ou de la CVF de 12% et 200 ml par rapport à la valeur initiale avec normalisation du rapport de Tiffeneau. Mais le suivi de l'asthme se fait uniquement par la mesure du VEMS (GINA 2008- 20015). Parfois dans certains asthmes sévères, il est souhaitable de mesurer les

volumes pulmonaires à l'aide d'une pléthysmographie pour objectiver une distension pulmonaire et surtout si elle est visible radiologiquement.

V.4. Diagnostic Biologique

Si l'asthme est allergique un bilan allergologique s'impose :

V.4.1. Recherche d'hyperéosinophilie

Il est recommandé au départ de demander une formule sanguine complète, une glycémie, les tests hépatiques et rénaux. Chez l'asthmatique non traité, il peut y avoir une discrète éosinophilie périphérique. Si elle est toujours importante, il faut penser au syndrome de l'hyperéosinophilie. Certaines infections parasitaires s'accompagnent d'une éosinophilie et de difficultés respiratoires. Mais l'examen du sang est souvent peu parlant dans l'asthme non infectieux non exacerbé. En fonction du diagnostic différentiel et du moment, il faut penser spécifiquement à doser la protéine C-réactive (CRP), les hormones thyroïdiennes (TSH, fT4), la créatinine, et à demander une formule sanguine. L'asthme en lui-même ne fait pas augmenter la CRP. La CRP est donc un élément du diagnostic d'une infection, en fonction de la situation clinique. Une hyperéosinophilie sanguine modérée (inférieure à $1000/\text{mm}^3$) est fréquente au cours de l'asthme atopique ; elle peut être importante dans certains cas d'asthme intrinsèque.

V.4.2. IgE sériques globales

Le dosage des IgE globales explore les IgE circulantes et non celles fixées sur les mastocytes qui seules ont un rôle immunologique. Ce dosage ne doit pas être un examen de routine dans l'exploration du sujet asthmatique, à l'exception du nourrisson. Un taux d'IgE élevé peut s'observer en dehors de l'asthme et à l'inverse un sujet authentiquement atopique peut avoir un taux normal d'IgE. La valeur normale pour l'adulte est inférieure à 150 KUI/L.

V.4.3. Dosage des IgE spécifiques

Ils explorent les IgE spécifiques contre un allergène donné (RAST, CAP SYSTEM) ou contre un panel d'allergènes, faisant appel à des techniques radio-immunologiques ou surtout immuno-enzymatiques. Leur dosage doit être orienté en fonction des données cliniques. Ces tests très coûteux doivent être réservés aux cas discordants ou difficiles. Il existe actuellement des tests multiallergéniques de dépistage (TMA) pour les pneumallergènes (ex Phadiatop) et les trophallergènes usuels. Ces tests qui apportent

uniquement une réponse qualitative (positive ou négative) sont des tests de dépistage. Leur apport dans le diagnostic étiologique est limité et leur coût élevé.

V.5. Diagnostic de l'asthme : visions futures

L'asthme est un syndrome clinique fait d'inflammation (plusieurs étiologies possibles) et d'hyperactivité bronchique, qui pose de grandes exigences diagnostiques. Il n'y a actuellement encore aucun examen parfaitement fiable, diagnostique ou pronostique. Nous espérons que les nouveaux marqueurs géniques, ou la détermination des polymorphismes et de l'expression géniques combleront cette lacune. La biologie Moléculaire offre de grande possibilité d'amélioration du diagnostic, il existe actuellement des polymorphismes géniques favorisant la survenue d'un asthme chez les porteurs de ces caractéristiques (polymorphisme de la famille génique protéine-phosphatase (PPP), interleukine- 1, tumor necrosis factor, glutathion-Stransférase). D'autres polymorphismes ont été décrits pouvant expliquer les réponses différentes des patients à un certain traitement, ou les prédire. Cela surtout pour le traitement par bêta-2 mimétiques et antagonistes des leucotriènes.

L'analyse de l'expression génique par «genchips » est très prometteuse. Il a par exemple été possible de définir un score génique diagnostique, permettant de prouver une atopie avec une sensibilité et une spécificité de près de 95%. Nous pouvons imaginer mettre au point des scores spécifiques pour le degré de l'inflammation et de dérégulation des gènes cortico-dépendants, pour la gravité de l'asthme et le «remodelling» [47].

Deuxième partie

Génétique de

l'asthme allergique

Deuxième partie : La génétique de l'asthme allergique

Introduction

Comme nous l'avons déjà mentionné dans la première partie de notre travail que l'asthme est une maladie multifactorielle à prédisposition génétique dans laquelle interviennent des facteurs environnementaux pour l'exprimer ou l'aggraver. Cependant, plusieurs évidences indiquent la ressemblance familiale de l'asthme et que le risque qu'un enfant développe de l'asthme dont l'un des parents est atteint est d'environ 25%, alors que le risque si les deux parents sont atteints est d'environ 50% [48]. En réalité, l'hérédité dans l'asthme a été démontré depuis longtemps par des études familiales et de jumeaux [9]. De plus, de nombreuses études de jumeaux ont montré que le risque de récurrence de l'asthme est beaucoup plus élevé chez les jumeaux monozygotes (environ 75%) que chez les jumeaux dizygotes ce qui augmente significativement le rôle de la génétique comme facteur de risque de l'asthme[48].

Aujourd'hui, et grâce aux nouvelles progrès de la biotechnologie et de la génétique moléculaire et les outils statistiques, les chercheurs ont pu arriver à identifier l'asthme comme syndrome polygénique dont plusieurs gènes déterminés sont incriminés [9]. En effet, la majorité des études génétiques ont été faite sur des gènes associés au processus physiopathologique de l'asthme et donc sur des gènes liés au système immunitaire [49]. Les analyses de ségrégation confirment le déterminisme génétique de la maladie d'asthme malgré leurs difficultés à réaliser car elles nécessitent un très grand nombre de patients. Ces analyses ont proposé également deux modes de transmission génétique l'un est monogénique autosomique dominant alors que l'autre est polygénique autosomique récessif [9].

Bien que le facteur génétique a été démontré dans la survenue de la maladie, l'expression phénotypique de l'asthme est relativement associée à un petit nombre de déterminants génétiques (gènes) sur lesquels peuvent agir d'autres gènes et facteurs environnementaux modificateurs aboutissant ainsi à l'apparition de traits complexes [48]. Dans l'étude génétique, plusieurs approches expérimentales sont utilisées pour établir le lien entre la maladie tel que l'asthme et les déterminants génétiques associés. Parmi les plus importants sont : les **analyses de liaisons**, les **études familiales** et les **analyses d'association**.

I. Analyse de liaison (Linkage)

Les analyses de liaisons ou linkage, ont pour objectif de déterminer et d'analyser la ségrégation des allèles mutés dans des régions chromosomiques différentes à l'intérieur des familles porteurs d'une maladie ou un phénotype comme l'asthme. Ces études visent de identifier les déterminants génétiques responsables de l'expression de la maladie[50]. Dans les maladie complexe tel que l'asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie, il est à noter que les études de liaison sont pas efficaces à cause de l'hétérogénéité génétique les interaction entre les différents gènes et entre les gènes et l'environnement[50] .

En effet, la relation entre l'asthme et des polymorphismes situés sur des régions chromosomiques différentes a été identifié par de nombreux criblages génomiques. Ces régions sont : 5q 31-33, 12q15-24, 11q13 et 15q23.6 [9].

II. Étude familiale

Les études familiales sont très efficaces dans les projets qui visent à déterminer s'il y a concentration familiale d'une pathologie, et dans les études de ségrégations pour déterminer le mode de la transmission génétique de la maladie. cependant, la concentration familiale de l'asthme a été démontré par de nombreux études familiales dont la prévalence de l'asthme est de 13% chez les apparentés d'individus atteints et de 4% chez un groupe témoins composé d'individu non atteints [51].

Cooke et Van ont réalisé une étude familiale en 1916 sur 504 familles et ils ont suggéré un mode de transmission autosomique dominant de l'asthme [50]. C'est en 1954 que Lips a proposé que l'asthme soit une maladie polygénique dans laquelle plusieurs gènes peuvent intervenir [50].

III. Étude d'association

La détermination des gènes associés aux maladies humains représente l'intérêt majeur de multiples recherches actuelles. Ces recherches utilise plusieurs méthodes, entre autre, Les études d'associations qui sont des outils statistiques majeurs utilisés afin d'établir la corrélation entre l'expression phénotypique et la variation génétique en identifiant les déterminants génétiques associés à la susceptibilité des traits complexes [52]. Cependant, deux approches sont utilisé dans les analyses d'association : les gènes candidats et le clonage positionnel [53].

- ***Le clonage positionnel***

Au début des années 1980, le clonage positionnel a été introduit dans les recherches expérimentales afin de définir la région chromosomique transmise dans la famille responsable de l'apparition d'un phénotype d'une pathologie génétique. Il représente potentiellement une des étapes fondamentales dans ce domaine [54]. Néanmoins, la stratégie du clonage positionnel commence d'abord par l'identification du déterminant génétique associé à la maladie en faisant appel à l'approche du gène candidat [55].

- ***Les gènes candidats***

Les études d'association utilisent les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNPs pour Single Nucleotide Polymorphisms) des gènes candidats comme marqueurs génétiques dans les enquêtes de clonage positionnel reposant cependant sur la démonstration que il existe des allèles précis sont associées à l'expression phénotypique de la maladie [56]. Dans l'asthme, il existe plusieurs gènes candidats comme les gènes impliqués dans le mécanisme inflammatoire, les gènes codants pour les protéines effectrices et des facteurs de transcriptions.

III.1. Gènes associés à l'asthme allergique

Le nombre de gènes associés à l'asthme est très important, étant donné les mécanismes physiopathologiques complexes impliqués dans cette maladie et à ce jour plus de trois cents études d'association ont été publiées. Hoffjan et coll. [57] qui ont réalisé en 2003 une compilation de toutes les études d'association publiées dans la littérature concernant l'asthme et des phénotypes associés à l'asthme (HRB, atopie, tests cutanés, IgE) ou d'autres pathologies allergiques (dermatite atopique), les éosinophiles et le VEMS ne faisant pas partie de leurs critères de recherche .

Au total, 199 études rapportant au moins une association significative ont été identifiées. Ainsi, 64 gènes ont été rapportés associés à l'asthme ou aux phénotypes intermédiaires. Parmi ces gènes, 33 ont été mis en évidence par au moins deux études indépendantes tandis que 22 n'ont fait l'objet que d'une seule publication. [57]

Depuis cette revue, d'autres études d'association ont été publiées, portant à 70 le nombre de gènes associés à l'asthme ou à un phénotype intermédiaire.[58]

Selon la compilation d'Hoffjan et coll, quelques gènes sont apparus associés à l'asthme et aux phénotypes intermédiaires de manière constante selon les études et selon les populations. En particulier, des polymorphismes de huit gènes sont associés aux phénotypes de l'asthme dans au moins cinq études : les gènes des interleukine-4 (IL4) et interleukine-13 (IL13), le gène codant pour la chaîne α du récepteur de l'IL-4 (IL4R), le gène du récepteur β 2 adrénergique (ADRB2), le gène HLA-DRB1 , les gènes du Tumor Necrosis Factor (TNF) et de la lymphotoxine-alpha (LTA) et le gène du récepteur à haute affinité pour les IgE (FCER1B). À noter que ces gènes sont ceux qui, historiquement, ont été rapportés par les premières études d'association. [57]

Les gènes IL4 et IL13 font partie du cluster des gènes codant pour les interleukines situés dans la région 5q34. L'IL-4, une cytokine clef impliquée dans le développement de l'atopie, a un rôle majeur dans la production d'IgE par les lymphocytes B.

Des polymorphismes de l'IL4 ont été rapportés associés à l'asthme mais une association plus forte a été établie entre des variants de l'IL13 et le taux d'IgE, l'atopie et l'asthme. Outre son rôle dans la production d'IgE, l'IL-13 est impliquée dans la régulation de l'inflammation au niveau des voies aériennes, la sécrétion de mucus et l'HRB[59] . Le gène IL4R, situé dans la région 16p21, code pour la chaîne α du récepteur de l'IL-4 qui sert aussi de chaîne α au récepteur de l'IL-13. Les polymorphismes décrits au niveau de l' IL4R apparaissent intervenir dans la transduction du signal de l'IL-4 et la production d'IgE par différents mécanismes [60]. Le récepteur β 2 adrénergique (ADRB2), situé dans la région 5q31-32, est une protéine trans-membranaire qui après liaison avec un agoniste active un signal de transduction aboutissant à la relaxation des muscles lisses bronchiques. Des polymorphismes de ce gène sont associés à l'asthme nocturne ou l'asthme sévère et d'autres variants ont un effet sur la modulation de la réponse au traitement par les β 2-mimétiques chez les asthmatiques[57] . Bien que moins fréquemment rapportés par les études d'association, d'autres gènes d'intérêt sont situés dans la région 5q : CD14 qui code pour un récepteur à haute affinité pour les endotoxines bactériennes et qui joue un rôle important dans l'immunité innée [61], la famille des gènes TIM récemment caractérisés qui codent pour des protéines transmembranaires exprimées sur les cellules Th2 (TIM1) ou Th1 (TIM3) [59].

Les gènes du complexe HLA, dans la région 6p21, codent pour des protéines transmembranaires qui jouent un rôle crucial dans la réponse immunitaire en se liant aux peptides dérivés des antigènes et en les présentant aux lymphocytes T via le récepteur des cellules T. C'est le polymorphisme HLA-DRB1 qui est apparu principalement associé à la réponse spécifique aux allergènes dans de très nombreuses populations. La région 6p21 contient aussi les gènes des cytokines proinflammatoires TNF α (Tumor Necrosis Factor) et LTA (lymphotoxin-alpha) qui ont fait l'objet de plusieurs études rapportant des associations avec l'asthme et l'HRB[57] .

Le gène du récepteur à haute affinité des IgE (FCER1B) est situé dans la région 11q13, la première région trouvée liée à l'atopie. La molécule FC ϵ RI joue un rôle dans le processus allergique en initiant la libération par les mastocytes de médiateurs de l'inflammation et de cytokines qui augmentent en amont la production d'IgE.

Outre les régions et gènes candidats précédemment décrits, on peut citer d'autres gènes situés dans des régions fréquemment trouvées liés à l'asthme et aux phénotypes intermédiaires. Le gène CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), dans la région 2q33, code pour une molécule exprimée sur les cellules T activées qui se lie aux ligands CD80 et CD86 des cellules présentatrices d'antigènes et transmet un signal négatif aux cellules T. Des associations de polymorphismes de CTLA4 ont été décrites avec l'atopie, les IgE totales et l'HRB [57] . Le gène du facteur de transcription STAT6, dans la région 12q13, joue un rôle central dans transduction du signal par IL-4/IL-13 et le développement des cellules Th2, et est associé à l'asthme atopique et au taux d'IgE . La région 12q contient de nombreux autres gènes candidats dont le gène de l'interféron-gamma (IFNG) et le gène NOS1 (nitric oxide synthase 1) associé à l'asthme et au taux d'IgE [62]. Le cluster des gènes, CCL4, CCL5, CCL11 dans la région 17q11-17q12, codent pour des chimiokines qui sont impliquées dans l'inflammation allergique et interagissent avec leurs récepteurs (CCR1 , CCR3 , CCR5) dont les gènes sont situés dans la région 3p21-24 ; des polymorphismes de ces gènes sont associés à l'atopie [60]. D'autres gènes candidats ne sont pas situés dans des régions de liaison mais jouent un rôle clef dans l'immunité innée ou acquise et ont été récemment rapportés associés à l'asthme. C'est le cas du gène TLR2 (Toll-like receptor2), un des gènes impliqués dans l'immunité innée, qui est apparu associé à l'asthme chez des enfants vivant dans des fermes[63] et du gène de l' IL-10 , cytokine anti-inflammatoire régulant à la fois l'immunité humorale et cellulaire, qui est associé au taux

d'IgE, au VEMS et à l'asthme [64]. Notons que la plupart des gènes candidats étudiés jusqu'à présent sont majoritairement impliqués dans la réponse immunitaire et que d'autres gènes pouvant jouer un rôle dans des mécanismes tels que l'inflammation, le stress oxydant ou le remodelage bronchique n'ont été encore que peu explorés. Tu mets la référence de mon article

L'association entre le polymorphisme -590C/T et l'asthme atopique chez la population Constantinoise a été menée par D. I. Dahmani en 2016.[10]

Dans la présente étude, on vise de réaliser une étude sur des familles constantinoises afin de déterminer l'origine du polymorphisme -590C/T soit paternelle ou maternelle.

III.2. Gène de l'Interleukine-4 et le polymorphisme -590C/T

En 1982, Howard et al ont découvert l'IL-4 et il a été nommé officiellement en 1986 par la communauté internationale [65]. Le gène IL-4 localisé au niveau du chromosome 5q31-q33 et code pour l'Interleukine-4 une cytokine pléiotrope de faible poids moléculaire (129 acides aminés) produite par les cellules Th2, les mastocytes, les basophiles, les éosinophiles et les macrophages alvéolaires [5], [65], [66]. L'IL-4 est impliqué dans de nombreuses activités biologiques dont il agit sur différentes cellules en se fixant sur les récepteurs IL-4R α exprimés à la surface des lymphocytes T, lymphocytes B, éosinophiles, macrophages, cellules endothéliales, fibroblastes pulmonaires, cellules épithéliales des voies aériennes, les cellules musculaires lisses bronchiques ce qui lui confère un rôle crucial dans le développement de l'inflammation allergique dans les bronches respiratoires et donc la pathogénèse de l'asthme allergique [66]. En effet, les personnes asthmatiques présentent un taux élevé de protéines d'IL-4 dans le sérum et le liquide de lavage broncho-alvéolaire et une quantité augmentée d'ARNm du gène IL-4 dans la biopsie bronchique. L'IL-4 dans l'asthme, joue un rôle notable dont il intervient dans l'induction de la différenciation des cellules T CD4⁺ naïves en cellules Th2 effectrices, la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes productrices des IgE et dans le recrutement des mastocytes dans la réponse inflammatoire bronchique [66].

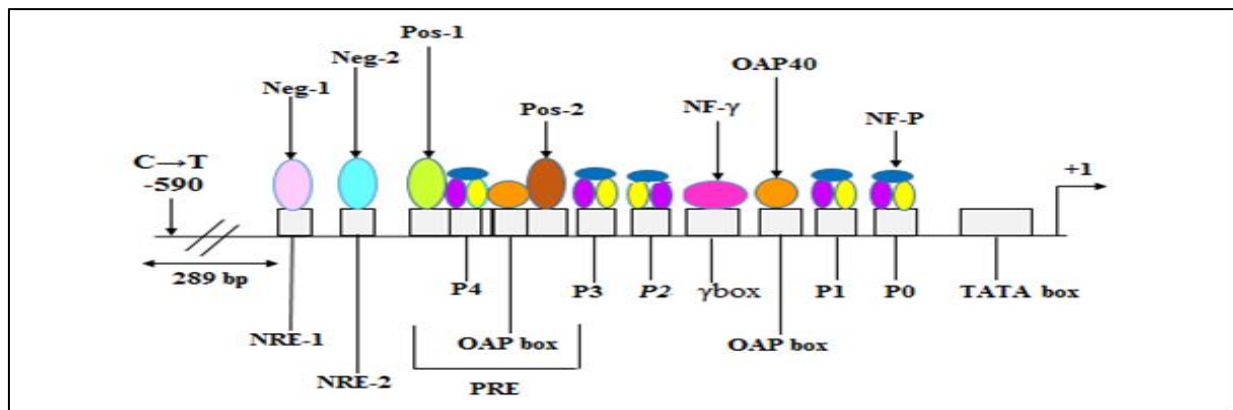
Dans la présente étude, on va s'intéresser à un polymorphisme situé dans la région promotrice du gène de l'IL-4 (-590 C/T) (rs2243250) qui est un polymorphisme nucléotidique simple (SNP) caractérisé par la substitution d'une cytosine par une thymine.

La région promotrice est étendue sur une longueur d'environ 500 pb à partir de la boîte "TATA". Ce polymorphisme est présent chez des personnes asthmatiques avec une fréquence élevée ($35/95=0.37$) dont il est associé à l'augmentation de l'expression d'IL-4 et à l'augmentation de la concentration sérique des IgE [67]. Des études phylogénétiques ont indiqué que ce polymorphisme est situé dans une région conservée chez tous les primates à l'exception de l'être humain.

Le polymorphisme -590C / T est situé en amont des cinq sites de liaison (appelé P0 à P4) (**Figure.3**) du facteur nucléaire des lymphocytes T activé (NFAT) dans le promoteur IL-4 jouent un rôle clé dans la transcription de plusieurs gènes codant pour des cytokines [68]. Ce SNP est situé à l'intérieur d'une séquence palindromique allant de -603 à -588 qui pourrait expliquer l'augmentation de l'accessibilité du dimère NFAT-1 au site créé par le polymorphisme qui a pour rôle d'amorcer la transcription induisant l'augmentation de la production de l'IL-4 dans les cellules T CD4 + et l'élévation sérique des d'IgE totale et des IgE spécifiques de poussière de maison et la survenue d'une dermatite atopique [69].

Le polymorphisme de l'IL-4 (-590 C/T), qui influence la transcription du gène IL4 a été décrit par [70]. Ce variant est associé à l'eczéma chez des Japonais [71]. Cependant, la plupart des autres études n'ont trouvé que peu d'évidence en faveur d'un rôle de ce variant dans la réponse spécifique aux acariens, ou l'asthme [72] ou une mesure de la fonction respiratoire .

Une analyse combinée ségrégation-liaison a même exclu ce polymorphisme comme pouvant rendre compte d'une partie de la variabilité des IgE [73]. Il n'est donc pas clair que le variant -590 C/T influencent les phénotypes associés à l'asthme ou l'atopie, mais il pourrait être en déséquilibre de liaison avec un autre variant dans le gène IL-4 avec un autre gène situé à proximité.



NRE-1 = Negative Regulatory Element 1, **NRE-2** = Negative Regulatory Element 2, **Neg1** = Nuclear factor that suppresses IL-4 transcription, **Neg2** = Second nuclear factor that suppresses IL-4 transcription, **PRE** = Positive Regulatory Element, **NF-P** = Nuclear Factor P, **NF-Y** = Nuclear Factor Y, **Y Box** = NF-Y recognition sequence, **P0, P1, P2, P3, P4** = NF-P recognition sequences, **OAP40** = Oct-i associated protein, **OAP box** = OAP40 recognition sequence, **TATA** = Transcription initiation signal. Le classement des chiffres est basé sur leurs positions par rapport à la position +1 le nucléotide du premier codon de la protéine de l'interleukine-4. NF-P a été considéré comme un facteur nucléaire complexe pour l'activation des lymphocytes T (NF-ATC) lié à un hétéro dimère c-Fos-c-Jun, mais il existe certaines données qui ont prouvé que le NF-ATC seul est suffisant pour activité. P2 est en italique par ce que la séquence est dans l'orientation inverse par rapport aux quatre autres éléments P.

Figure.3 : Représentation schématique des éléments de commande connus au sein du promoteur IL-4 par rapport à le polymorphisme -590C/T [74]

CHAPITRE II
PATIENTS
ET MÉTHODES

I. Patients**I.1. Population étudiée**

L'étude que nous avons entreprise est transversale :

- **Population Trios (Familles : Père, mère et l'enfant asthmatique) :** effectué sur 50 familles composées du père de la mère et de l'enfant et 50 personnes saines.

- Notre étude s'est étendue de décembre 2010 à Mai 2019 dans le cadre d'une thèse de doctorat et a été achevée avec le mémoire de master actuel.

I.1.1. Critères de sélectivité des Trios (Père, mère et l'enfant asthmatique)**➤ Critères d'inclusion :**

Nous avons inclus dans notre étude les familles convaincues pour participer à notre étude ayant au moins un enfant atteint d'asthme atopique depuis 2 ans ou plus et ayant reçu un traitement de fond.

Il faut qu'il soit sensibilisé au moins à deux des 15 allergènes de la batterie (100 IR/ml, Laboratoires Stallergènes® Paris, France) utilisée lors des tests cutanés.

➤ Critères de non inclusion :

Ils n'ont pas été inclus dans l'étude, les personnes qui participaient à une autre étude et les femmes enceintes, ainsi que les fumeurs puisqu'ils sont plus sujets à souffrir de maladie pulmonaire obstructive chronique (BPCO).

Les personnes présentant un diagnostic différentiel (Mucoviscidose, Bronchiectasies, Bronchiolites, rhinosinusite, Reflux gastro-œsophagien, Toux post-infectieuse), des sujets atteints d'un asthme intrinsèque et l'asthme dû à l'effort ont également été écartées.

➤ Critères d'exclusion :

Nous avons exclu de notre étude :

- Les enfants qui n'ont pas coopéré lors de la réalisation de EFR ou ceux qui sont sous traitement et qui ne peuvent pas l'interrompre.
- Les parents non convaincus pour participer à notre étude.
- Les personnes qui participaient à une autre étude.

- Les femmes enceintes ont été exclues de l'étude, vu que le suivi médical chez celles-ci serait forcément différent de celui des autres participants.
- Les fumeurs ont également été exclus puisqu'ils sont plus sujets à souffrir de maladie pulmonaire obstructive chronique (BPCO).
- Les personnes présentant un diagnostic différentiel (Mucoviscidose, Bronchiectasies, Bronchiolites, rhinosinusite, Reflux gastro-œsophagien, Toux post-infectieuse).
- Les sujets atteints d'un asthme intrinsèque et l'asthme dû à l'effort ont également été écartés.
- Les personnes qui étaient sous Corticostéroïdes locaux sur les avant-bras depuis 10 jours.
- Les patients qui refusent le prélèvement, et ont été considérés comme des répondeurs défensifs sur le questionnaire, ce qui indique que leurs réponses peuvent ne pas être fiables, et donc ils ont été exclus de l'étude.

I.1.2. Population des témoins

➤ **Critères d'inclusion :**

Les critères pour les contrôles sains étaient : l'absence de réactions allergiques (des tests cutanés négatifs, et l'immunoglobuline sérique totale de type E (IgE) des niveaux inférieurs à 100 UI / ml d'E). Il faut que les sujets soient non-asthmatique non-fumeurs sans antécédents d'asthme ou d'atopie, et n'ayant jamais présenté une maladie pulmonaire ni infection respiratoire.

➤ **Critères de non-inclusion :**

On n'a pas inclus dans l'étude les personnes qui ont eu au moins une crise de dyspnée, les fumeurs et ceux qui ont refusé les prélèvements.

I.2. Recueil des données

➤ **Questionnaire :**

La première visite consistait d'abord pour les participants a signé un consentement éclairé (**Annexe A**) et compléter un questionnaire (**Annexe B**) sur leur âge, leur santé respiratoire, actuelle et passée, standardisée selon les critères de l'American Thoracic Society (ATS) ("Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. This official statement of the American Thoracic

Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986” 1987), modifié pour inclure le mariage consanguin dans les trois générations précédentes, l'histoire de réactions allergiques ou des symptômes d'asthme, suite à l'exposition à des allergènes spécifiques la sévérité de l'asthme et de l'atopie ainsi que l'histoire familiale de l'asthme et des autres maladies respiratoires, ce questionnaire inclus ainsi le profil de crise et leur gravité, le nombre de visites à l'urgence et les facteurs furent une admission à l'hôpital au cours des 12 mois, médicaments pris, le tabac, les expositions professionnelles. Avec la précision des manifestations associées : laryngite, rhinite, conjonctivite, urticaire, eczéma.

Dans la présente étude, nous nous sommes particulièrement intéressés à la triade de l'atopie (asthme, la rhinite allergique et l'eczéma), (American Thoracic Society, 1987) **(Questionnaire disponible à l'Annexe B)**

II. Méthodologie

Les patients recrutés pour notre étude sont des asthmatiques connus orientés par leurs médecins traitants (pédiatres pneumologues) au service de physiologie et exploration cardiorespiratoire (CHU-Constantine) et l'EPSP el-Khroub pour contrôle d'asthme. Après avoir signé le consentement éclairé pour être volontaire et participer à l'étude, les patients et les parents ont été examinés par le même médecin pour contrôle d'asthme atopique.

II.1.Examens pour l'asthme

II.1.1. Examen clinique de l'asthme

Comprend un interrogatoire détaillé concernant : l'âge (année), la taille (m) et le poids (kg) ont été relevés, sans se fier aux valeurs déclarées par le sujet lui-même. La taille a été mesurée à l'aide d'une toise chez un sujet déchaussé, se tenant droit, avec la tête positionnée dans le plan horizontal de Frankfort, l'histoire de la maladie, les antécédents personnels et familiaux, la recherche du terrain atopique, la rhinite allergique, dermatite atopique (eczéma) et l'évaluation clinique durant les quatre 04 dernières semaines selon les critères GINA 2008 qui sont : Les symptômes diurnes et nocturnes, utilisation des bronchodilatateurs de courte durée d'action, la limitation de l'activité physique et exacerbation. (Le même examen clinique a été réalisé chez les parents et les témoins).

II.1.2. Examen paraclinique

Au terme de l'examen clinique représenté par l'interrogatoire sur les critères de contrôle de l'asthme selon les critères GINA2008, permet généralement de définir le niveau de contrôle de l'asthme. Un certain nombre d'examens complémentaires sont néanmoins nécessaires.

II.1.2.1. Téléthorax

Doit être systématique au cours du bilan initial. Elle montre généralement une distension thoracique. Elle permet surtout d'éliminer une cause infectieuse (pneumopathie) ou une complication mécanique (pneumothorax).

II.1.2.2. Explorations fonctionnelles respiratoires (EFR)

L'EFR a été réalisée à l'aide d'un spiromètre de type (BTL-08 Spiro) qui répond aux critères ATS/ERS 2005 [75]. Il est à signaler que le même médecin supervise et vérifie les manœuvres spirométriques et insiste sur le respect des recommandations selon les critères ATS/ERS 2005 [75]. Cet examen permet d'explorer, de manière objective et quantifiée, les débits aériens et les volumes pulmonaires.

II.1.2.3. Protocole

Avant d'effectuer le test, il est recommandé d'éviter de fumer pendant les 4 heures qui précèdent l'examen. Il sera éventuellement demandé au patient de ne pas prendre son traitement habituel (sevrage de 8h à 18h du bronchodilatateur à courte durée d'action). La manœuvre a été réalisée selon les recommandations ATS/ERS (2005) [75].

Les courbes débits/volumes ont été retenues selon les critères d'acceptabilité d'une courbe/volume ATS/ERS (2005) :

- Bon départ ;
- Pas de toux pendant l'expiration ;
- Pas de fin prématurée ;
- Temps d'expiration > 6 secondes ;
- Reproductibilité.

Les paramètres mesurés par la spirométrie étaient : CVL, VEMS, CVF, DEP, VEMS/CV, DEM 25-75% CVF, DEM 25%, DEM 50% et DEM 75%.

Le diagnostic de l'obstruction bronchique (Trouble ventilatoire obstructif) est posé devant un rapport de Tiffeneau VEMS1/CVF inférieur à 0.7 ou inférieur à la limite inférieure de la norme (LIN), avec ou non un VEMS amputé de 20% de sa valeur théorique ou inférieure à la LIN (GINA 2008). Le trouble ventilatoire périphérique est retenu devant une diminution des DEM 25,50, 75 et DEM 25-75% de la CV à condition que la CVF et le Tiffeneau soient normaux.

II.1.2.4. Test de bronchodilatation

Devant un Trouble ventilatoire obstructive la mesure de la réversibilité s'impose, celle-ci est réalisée à l'aide d'un bronchodilatateur de courte durée d'action BD. La dose totale administrée est 4 bouffées de BD (Ventoline 400µg). Les bouffées doivent être espacées de 30 s) dans une chambre d'inhalation, en lui demandant de retenir sa respiration pendant 10 secondes avant d'expirer.

La spirométrie est refaite 10 à 15 minutes après le BD (ATS/ERS 2005) [75]. Le TVO est réversible Si la VEMS /CV se normalise ou si le VEMS et ou la CVF s'améliorent de 12% et de 200 ml par rapport à leurs valeurs initiales (ATS/ERS 2005) [75] témoignant d'une hyperactivité bronchique.

II.2. Confirmation du statut allergique des patients (étude immunologique)

II.2.1. Tests cutanés (Prick tests)

Tous nos patients ont été orienté vers le même allergologue afin de confirmer le statut allergique de l'asthme.

II.2.1.1. Principe des tests cutanés

Le principe des tests consiste à reproduire sur la peau une réaction allergique par le recrutement des mastocytes cutanés porteurs d'IgE, ils mettent en évidence une sensibilisation. Pour faire la preuve de l'allergie, il faut une concordance avec la clinique.

II.2.1.2. Technique

Pour effectuer les tests cutanés dans des conditions optimales, il faut sevrer le patient en antihistaminiques par voie orale, 10 jours avant si possible.

L'avant-bras a été désinfecté et dégraisser préalablement avec une solution d'éthanol 75° suivis du dépôt d'une goutte de témoins positif et négatif présentés respectivement

parchlorhydrate d'histamine à 10 mg/ml et phosphate de codéine à 9 % (le témoin négatif évalue l'absence de dermographisme responsable de faux positifs) et une goutte de chacun des 15 pneumallergènes de la batterie Stallergène (Laboratoires Stallergènes® Paris, France), (Dermatophagoïdes pteonyssinus, Dermatophagoïdes farinae, Pollen de Pariétaire, pollen, Armoise, Mélange5, Quatre céréales, pollen d'olivier, pollen de Cupressacées, Alternaria, Cladosporium, Chat, Chien, Blatte, Cheval, Hévée Brasiliensis).

Ils consistent en une effraction épidermique réalisée à l'aide des lancettes Stallerpointes® (Laboratoires Stallergènes® Paris, France). Les gouttes de pneumallergène ont été déposées, à 4 cm du pli du coude et du poignet et à un intervalle de 2 cm entre elles pour éviter que les éventuelles réactions ne se superposent. Les emplacements des gouttes ont été déterminés par un trait de stylo-bille et en peau saine.

Par la suite les gouttes ont été absorbées avec un mouchoir en papier ou avec des cotons différents (sans mélanger les allergènes).

II.2.1.3. Valeur clinique des tests cutanés utilisés

Les tests cutanés sont recommandés par de nombreuses lignes directrices internationales comme principale méthode pour le diagnostic de l'allergie, car ils sont simples, peu coûteux, sans douleur et les résultats sont rapides, ces tests ont l'avantages de sensibilité et spécificité, la flexibilité, une bonne tolérabilité et la démonstration claire pour les patients de leur allergie.

II.2.1.4. Précautions et contre-indications à respecter

Le patient ne doit pas prendre d'antihistaminiques durant les 5 à 10 jours précédant les tests allergologiques, délai variable selon l'antihistaminique considéré.

Le jour des tests, le patient ne doit pas avoir d'infection. Certains patients sont considérés comme des patients à risque de réactions pendant les tests cutanés. Ce sont les sujets ayant eu une réaction clinique sévère, ou une pathologie concomitante : maladie cardio-vasculaire, respiratoire, ou un traitement par β -bloquant, des lésions cutanées au niveau de la zone de réalisation des tests (urticaire, dermatite atopique, eczéma, psoriasis). Allergie (hypersensibilité) au phénol.

II.2.1.5. Facteurs influençant les tests

- La qualité de l'extrait allergénique ;
- La taille de la réaction diminue avec l'âge ;
- On observe des variations saisonnières dans les allergies polliniques : la sensibilité de la peau augmente tout au long de la saison pollinique pour décroître progressivement par la suite ;
- Drogues inhibant la réaction cutanée : antihistaminiques, imipraminiques, phénothiazines, glucocorticoïdes systémiques au long cours et topiques ;
- Pathologies cutanées : risque de dermographisme.

II.2.1.6. Source et concentrations des allergènes utilisés

Les allergènes étaient des extraits allergéniques glycérisés dosés à d'une concentration de 100 IR/ml conservés au réfrigérateur +2°C et +8°C.

II.2.1.7. Lecture des prick-tests

Les tests ont été lus l'après 15 à 20 minutes et leurs résultats ont été rapporté aux témoins négatif et positif et à la clinique. Une réaction positive avec un allergène se manifeste par une papule, un petit bouton comme une piqûre d'ortie d'au moins 4 mm de diamètre chez l'adulte et 3 mm chez l'enfant, et d'au moins 2/3 de la papule obtenue par le test positif.

II.2.1.8. Interprétation des TC

Les tests cutanés ont été interprétés et avant tout en se basant premièrement sur l'histoire clinique. Avant de retenir un test comme positif ou négatif, il était impératif d'envisager, comme pour tous tests, ses risques de faux positifs et de faux négatifs. Après élimination de ces deux derniers, l'interprétation des résultats requiert sur l'histoire clinique. Un test positif sans expression clinique ne nous a pas amenés à conclure un diagnostic d'allergie, mais plus tôt témoigne une simple sensibilisation.

II.2.2. Dosage des IgE par Quantia IgE**II.2.2.1. Principe**

Les réactifs Quantia IgE (Biokit, S. A., Barcelona, Spain) sont utilisés pour la détermination quantitative d'immunoglobuline E (IgE) dans le sérum ou le plasma humain, sur l'analyseur (ARCHITECT cSystems™).

Le réactif Quantia IgE (Biokit, S. A., Barcelona, Spain) est une suspension de particules de polystyrène de dimension uniforme sensibilisée avec anticorps mono clonal anti-IgE humaine. Quand un échantillon, qui contient IgE, est mélangé avec ce réactifs une agglutination évidente a lieu qui peut être mesurée par turbidimétrie les résultats sont exprimés en UI/ml d'IgE par rapport à la 2e préparation internationale de référence OMS.

II.2.2.2. Préparation des réactifs Quantia IgE

▪ **IgE R1 (tampon) :** tampon glycine 170mM pH8.3 avec albumine sérique bovine. Ce Réactif est prêt à l'emploi. On le place le compartiment réactifs 1 dans l'ARCHITECT ci 8200 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)

▪ **IgE R2 (réactif) :** Suspension de particules de polystyrène latex sensibilisé avec l'anticorps monoclonal anti-IgE humaine dans un tampon de glycine avec albumine sérique bovine. Ce réactif est également prêt à l'emploi, on le mélange seulement par inversion avant le premier tout en évitant la formation de mousse. On place le réactif dans le compartiment réactif 2. Tous les réactifs contiennent <0.1% d'azide de sodium.

II.2.2.3. Échantillon

Prélever le sang et le mettre rapidement dans le tube à température ambiante. Laisser reposer environ 15 minutes (formation du caillot) Centrifuger 10min à 4.500 tours/min.

Le sérum obtenu est divisé en deux tubes secs étiquetés pour le dosage des IgE totales par l'analyseur ARCHITECT ci 8200 sein du laboratoire de biochimie CHU-Constantine, tandis que l'autre tube est conservé à -80°C pour le dosage de IL-4.

II.2.2.4. Lecture

Les résultats sont apparus sur l'écran de l'ordinateur lié à cet automate doté ainsi d'une imprimante. En interprétant les résultats chez les enfants, il faut tenir compte que les concentrations normales d'IgE varient selon âge.

Sa concentration augmente durant les premières années de vie, en atteignant une pointe à l'âge de 10-15 ans, pour baisser par la suite chez les adultes. Ces concentrations sont indicatives pour le réactif Quantia IgE (Biokit, S. A., Barcelona, Spain) utilisé pour notre échantillon.

Age	1-12 mois	1-5 années	6-9 années	10-15 années	Adulte
Concentration	<15	<60	<90	<200	<100

Alors que pour confirmer le statut atopique il faut que le taux des IgE totales varie entre (100 - 400) UI/ml ou plus) pour de nombreux articles [69]. Tandis que notre étude, nous avons choisis la valeur 300 UI / ml comme un indicateur de l'hyperproduction des IgE [76].

II.2.3. Dosage de l'interleukine-4 par ELISA

Le dosage de l'IL-4 a été effectué sur le sérum recueilli et conservé à -80°C au sein du Laboratoire El RIDAH. Cette analyse a été faite sur deux plaques une pour les patients et l'autre pour les témoins. Il est à signalé que ce dosage a été refait deux fois afin d'éviter les erreurs de manipulation et les échantillons en suspect dont leurs valeurs sont très différentes on les a refait à part.

II.2.3.1. Principe

La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

- Dans le kit interleukine 4 (human) ELISA (DRG International, Inc., USA).
- IL-4 humaine présente dans l'échantillon et les standards se lie ou à des anticorps présents dans micropuits.
- Une biotine conjugué à un anticorps anti IL-4 humaine est ajoutée et se lie à l'IL-4 humaine capturée par le premier anticorps.
- Après incubation la biotine conjuguée à un anticorps humain anti-IL-4 non liée est éliminé lors du lavage.
- La streptavidine-HRP est ajoutée et se lie à la biotine conjuguée à anticorps humain antil'IL-4.

▪Après incubation la streptavidine-HRP non lié au complexe est éliminé lors de l'étape du lavage et une solution de substrat réactif avec HRP est ajoutée aux puits.

▪Un produit coloré est formé en fonction de la quantité d'IL-4 humaine présente dans l'échantillon ou le standard.

La réaction est arrêtée par addition d'acide et on mesure l'absorbance à 450 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de 7 dilutions standard d'IL-4 humaine.

II.2.3.2. Préparation du réactif

▪**Concentration des tampons** : ce dernier devrait être porté à température ambiante et être dilué avant de commencer la procédure de test.

1. Pour le tampon d'essai ajoutez 100 ml de l'eau distillée au 5ml du kit du tampon d'essai.

2. Ajoutez 1000ml de l'eau distillée au 50ml de tampon de lavage.

3. On ajoute 930µl de l'eau distillée au standard reconstitué et on le laisse se reposer 10 min.

4. Pour la dilution du standard externe : commencez d'abord par étiqueter 7 tubes, un pour chacun des points de la norme : S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7. Ensuite, préparez une série de dilutions 1: 2 de la courbe standard comme suit : 225 µl du tampon d'essai dans chaque tube suivie de 225 µl standard reconstitué (concentration 1000pg/ml) dans le premier tube étiqueté S1 (dont sa concentration est de 500pg/ml) et mélanger soigneusement à l'aide de la pipette. Prenez 225 µl de ce mélange et le rajouter au standard 2 étiqueté (S2) et le abondamment avant le transférer dans le standard 3(S3) répétez cette étape jusqu'au S7. On a utilisé le tampon d'essai comme un blanc.

▪**Préparation de la biotine conjuguée** : Ajoutez 60 µl de biotine à 594 µl de tampon d'essai.

▪**Préparation de la streptavidine-HRP** : Ajoutez 60 µl de la streptavidine-HRP au 11940 µl du tampon d'essai.

II.2.3.3. Protocole

- Lavez les micropuits deux fois avec 400µl du tampon de lavage tout en aspirant le tampon de lavage.
- Éliminer le surplus sur des micropuits en inversant la plaque sur un papier absorbant pendant 15 min.
- Répartir les standards (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, et le blanc) dans le premier rang de la plaque.
- Mettre 50 µl du tampon d'essai et 50 µl du sérum dans chaque puits (sauf au substrat) dont chaque puits correspond à un malade.
- Ajouter 50 µl de biotine conjuguée à tous les puits y compris les substrats.
- Laisser agir 2h.
- Faire le lavage 3 fois par (MINDRAY-microplatewasher MW-12H).
- Ajouter 100 µl de la streptavidine-HRP dans tous les puits.
- Couvrir la plaque avec le film adhésif à une température (18°C-25°C) pendant 1h.
- Laver encore la plaque 3 fois par (MINDRAY-microplatewasher MW-12H).
- Ajouter 100 µl du substrat TMB dans tous les puits.
- Incuber la plaque à une température (18°C-25°C) pendant 10min.
- Ajouter 100 µl de la solution-stop.

II.2.3.4. Lecture

Pour la lecture de la plaque, on a utilisé le lecteur de densité optique (MINDRAY-Microplate READER MR-96A) afin d'obtenir des résultats quantitatifs. Dans la présente étude on a utilisé la longueur d'onde 450 nm comme la longueur d'onde primaire.

II.2.3.5. Concentration

La concentration est obtenue par la règle de trois comme suit :

500 pg/ml (la concentration du standard S1) → **1.96** (la densité optique DO à 450nm)

X (la concentration d'IL-4 dans le puits) → **V** (la DO par lecteur de densité optique)

II.3.Évaluation de l'eczéma et la rhinite

L'eczéma et la rhinite ont été diagnostiqués par leur médecin traitant qui a évalué la rhinite selon Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) dans la présente étude nous avons recruté uniquement les patients avec une rhinite allergique intermittente [77]. En revanche l'eczéma a été établi selon les critères de diagnostic Hanifin et Rajka [78], et l'Index/Indice d'étendue et de gravité de l'eczéma a été déterminé par le SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis) [79], [80]. La moyenne des scores atopiques de l'eczéma des sujets sélectionnés était de $12,60 \pm 2,91$ (ces informations ont été recueillies du dossier médical du patient lors du questionnaire).

II.4.Étude moléculaire

Enfin pour l'étude moléculaire on a effectué l'extraction au sein du laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire, Faculté de médecine-Université de Constantine³ et la RFLP-PCR au Centre de recherche, Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie de Québec, Université Laval, Québec, Canada et au Groupe de Recherche en Écologie Buccale, Faculté de Médecine Dentaire, Université Laval, Québec, Canada.

II.4.1. Extraction d'ADN à partir de sang total

Lors de la deuxième visite, nous avons prélevé 10ml de sang sur des tubes vacutenaies à EDTA pour l'extraction de l'ADN génomique des leucocytes (technique Na Cl) qui a été effectuée au sein du Laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire, Faculté de médecine-Université de Constantine³.

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. l'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées et éliminées par précipitation au Na Cl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation à l'éthanol [81].

II.4.1.1. Principe

Lors de la deuxième visite, nous avons prélevé 10 ml du sang sur des tubes vacutenaies à EDTA pour l'extraction de l'ADN génomique utilisé comme matrice d'amplification pour les réactions PCR. La méthode d'extraction employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, le Na Cl. Le sang doit être initialement

vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges par une solution hypotonique TE20 :5 (Tris 20 mM pH7.5/ MgCl₂ 5 mM SDS à 10 %). Le lysat est centrifugé et, après élimination du surnageant, le culot cellulaire contenant les leucocytes est traité par une solution de lyse des blancs (Na cl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8.2) et une solution de protéinase. La protéinase K +digère les protéines cellulaires.

Ces dernières seront par la suite relarguées par l'intermédiaire d'une force ionique du NaCl (4 M). Enfin, la précipitation de l'ADN génomique est effectuée en utilisant une solution d'éthanol absolu à froid (-20 °C).l'extraction est faite selon le protocole expérimental suivant.

II.4.1.2. Lyse des globules rouges

Après avoir enlevé le plasma sanguin, on complète le tube Falcon à 50 ml avec le TE 20 :5 pour faire éclater les globules rouges. La lyse est réalisée à 4 °C pendant 10 à 15 minutes. Le lysat est centrifugé pendant 15 min à 3000 tours/min à température ambiante.

Après élimination avec précaution du surnageant, on répète l'opération précédente 2 fois. S'il y a des hématies qui persistent dans le culot, on effectue un lavage supplémentaire jusqu' à avoir un culot de blanc blanchâtre dépourvu des globules rouges.

II.4.1.3. Lyse des leucocytes

Au culot des blancs, on ajoute 3ml de tampon de lyse (Na cl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10mM, pH 8.2) et 200 µl de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H₂O) pour la micro méthode afin de solubiliser les membranes des leucocytes et de100 µl de protéinase K à 10mg/ml.

La suspension obtenue, fortement agitée est placée sur une roue à 37°C pendant une nuit. Après refroidissement dans la glace, on ajoute à l'extrait 1ml de NaCl 4 M tout en agitant vigoureusement.

II.4.1.4. Précipitation des protéines

La suspension obtenue est remise 5 min dans la glace jusqu'à avoir un aspect laiteux. Cette dernière est par la suite centrifugée 10 minutes à 2500 tours/min. Afin de précipiter les protéines. On obtient ainsi un culot au fond du tube organique contenant les débris

(protéines, lipides...), un surnageant au fond du tube contenant de l'ADN et l'interface contient en majorité des protéines et peu l'ADN. Le surnageant, contenant l'ADN dispersé, est récupéré dans un tube de 50 ml.

II.4.1.5. Précipitation de l'ADN

On transvase le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, on lui ajoute 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi on laisse l'ADN se précipiter par agitation douce en retournant délicatement le tube jusqu'à ce que les filaments d'ADN forment une méduse visible à l'œil nu. (Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas). L'ADN est récupéré dans un tube Eppendorf (0,5 ml) ; la méduse d'ADN ainsi condensée est lavée 2 fois à l'éthanol 70% afin d'éliminer les traces de sels : à chaque lavage, ajouter 1 ml l'éthanol 70% afin d'éliminer les traces de sel et elle est séchée dans un lyophilisateur pendant 30 mn.

II.4.1.6. Quantification et dilution de l'ADN : Dosage des acides nucléiques

II.4.1.6.1. Dissolution de l'ADN

L'ADN séché est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 μl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée. Cette solubilisation nécessite une agitation continue sur un agitateur rotatoire à 37°C et à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jours). Après dissolution complète, la DO de la solution d'ADN obtenu est mesurée à 260 nm et à 280 nm afin de déterminer la concentration et la pureté de l'ADN extrait. L'ADN dissout peut être conservé à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant quelques jours ou à -20°C pour une conservation à plus long terme. D'ailleurs, l'ADN pur se conserve à -20°C , plus de 10 ans.

II.4.1.6.2. Estimation de la concentration de l'ADN

La méthode de spectrophotométrie est utilisée pour une quantification précise de l'ADN. Ainsi, la concentration en ADN est déterminée par mesure de la DO au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 260 nm pour des solutions diluées au 1/100 dans l'eau distillée (10 μl de l'ADN solubilisé dans 990 μl de l'eau stérile). Sachant que l'ADN a un spectre d'absorption dans l'UV maximum à 260 nm. La DO est proportionnelle à la concentration de l'ADN (une unité de densité optique (DO) à 260 nm correspond à 50 μg d'ADN doubles brin ou à 25 μg ADN ou d'ARN simple brin par μl) en tenant compte de la dilution réalisée.

L'estimation de la concentration de l'ADN est déterminée selon la formule suivante :

1 unité de DO260 nm on a 50 µg / ml d'ADN

N unités de DO 260nm × N µg / ml d'ADN

[C d'ADN] (µg / ml) = Facteur de dilution x DO 260 nm x 50µg / ml

Facteur de dilution = volume total / volume d'ADN

Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000 µl de TE 10 :1 ayant une DO260 nm = 0.139

1 unité de DO 260 nm	→	50µg/ml	}
0.139 de DO260 nm	→	X	

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100, donc 6.95 x 100 = 695 µg/ ml

II.4.1.7. Critères d'évaluation du procédé d'extraction

II.4.1.7.1. Estimation du degré de pureté d'ADN

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée. Les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation.

II.4.1.7.1.1. Principe

- l'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.
- L'échantillon est dilué aux 1/100 dans l'eau distillée (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µl de l'eau stérile).
- Les DO sont lus à 260 (des acides nucléiques) et 280nm (longueur d'onde d'absorption et des protéines).
- Par le moyen du rapport de DO 260nm/do280nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

- On considère que :
- L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO260/DO280$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).
- L'ADN est contaminé par les protéines si : $DO260/DO280 < 1.6$.
- L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO260/DO280 > 2$.

II.4.2. PCR des régions d'intérêt des gènes étudiés

II.4.2.1. PCR (Polymérase Chaîne Réaction) in vitro

La Polymérase Chain Réaction est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985 par Karry Mullis et développée par Henri A. Herlich et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA) en 1985.

La PCR permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorce. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier.

Une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre, une copie du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (Taq polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5' → 3' d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié. La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible considérée.

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- une étape de dénaturation de l'ADN ;
- Une étape d'hybridation des amorces sur les séquences d'ADN cible ;
- Une étape d'extension des amorces par l'ADN polymérase.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

II.4.2.2. Préparation du milieu réactionnel(ou mix) de la PCR

Pour préparer le milieu réactionnel, multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN.

Pour le polymorphisme (-590 C / T) du promoteur du gène de IL-4 nous avons utilisé les amorces suivantes :

Oligo F (forward primer) 5' à 3' : ACTAGGCCTCACCTGATACG

OligoR (reverse primer) 5' à 3' : GTTGTAATGCAGTCCTCCTG

II.4.2.3. Préparation de la solution mère

La préparation de la solution mère de chaque amorce se fait par la dilution les oligonucléotides de 100 n mol dans 100 µl d'eau stérile.

II.4.2.4. Dilutions des solutions mères utilisées

▪ **Des amorces** : La solution fille est obtenue par la suspension de 2µl de la solution mère de l'Oligo nucléotide additionné de 98µl H₂O distillés.

▪ **dNTP solution mère** : Pour avoir une solution fille dNTP d'une concentration de 2.5 mM, nous avons fait une dilution au 1/10 de la solution mère et cela par l'ajout de 90 µl d'H₂O à 10 µl de dNTP solution mère.

▪ **MgCl₂ solution mère** : La dilution MgCl₂ 50 mM à une concentration de 25 Mm on mélange 50µl de MgCl₂ avec 50ml H₂O distillée

II.4.2.5. Préparation de la PCR

Préparer le Mix de la PCR en ajoutant les réactifs suivants dans un tube Eppendorf de 1.5 ml et pour l'étude de chaque gène il faut ajouter l'amorce qui lui est spécifique :

Réactif	Mix	Concentration
H2O	12µl	/
Tampon 1 X	5 µl	10mM
dNTP	2.75 µl	20nM
MgCl2	2 µl	25mM
Taq polymérase	0.25 µl	5µ/µL
Primer F	1.5 µl	20picomol/µl
Primer R	1.5 µl	20picomol/µl

- Vortexer le mélange Mix.
- Pipeter 25µl du Mix dans chaque tube Eppendorf.
- Ajouter 3µl d'ADN à (20ng) du patient.

L'amplification du gène du promoteur de IL-4(le polymorphisme (-590 C / T)) s'effectue en :

Cycle préliminaire :

94 °C pour les 5 min

94 °C pendant 45 sec

60 °C pendant 45 sec

72 °C pendant 50 sec

} 35 cycles

Extension final :

72°C pour 10 min

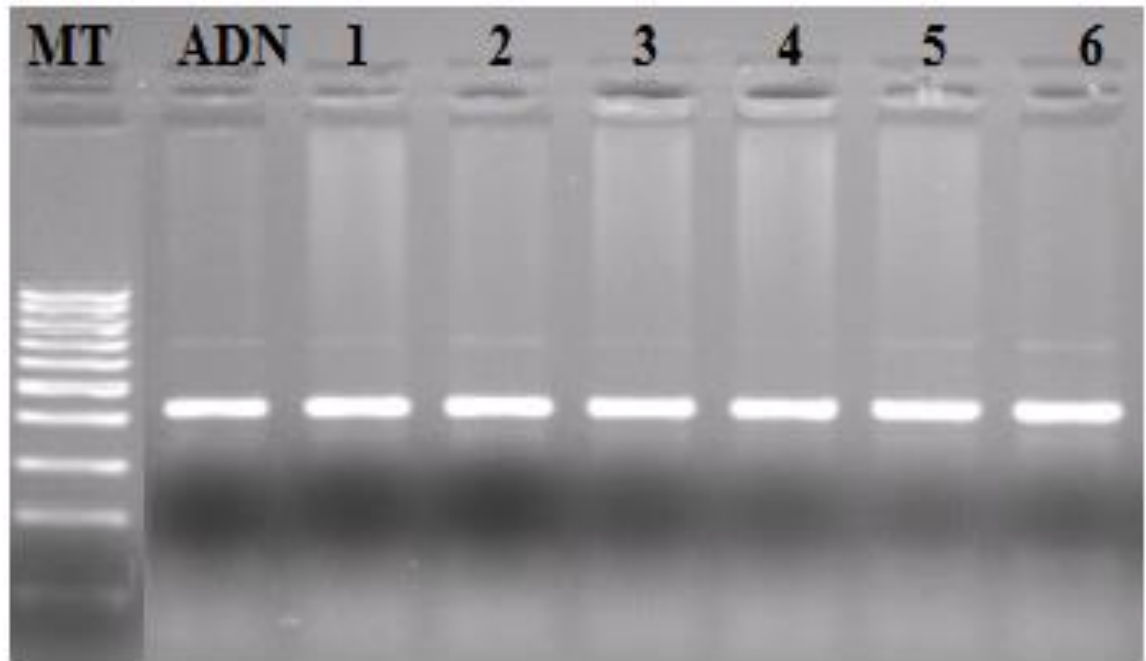
II.4.2.6. Préparation du gel d'agarose pour le contrôle de la PCR

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 3 % (3 g d'agarose + 100 ml TBE 1X) additionné a 10 µl de BET (Bromure d'éthidium), ce dernier est un réactif intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV (le gel est ensuite coulé sur la plaque d'une cuve horizontale).

II.4.2.7. Contrôle des produits de PCR

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

- 10 µl de produit d'amplification + 3 µl BBP (Bleu de Bromophénol) ([Tris 0.5M : 2ml + Glycérol : 5ml à PH 7.5] Qsp 10 ml H₂O) qui permet de suivre le front de migration.
- 3 µl de marqueur de taille (PM 100pb LADDER) + 10µl H₂O + 2µl BBP. Les dépôts se font du côté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 60 à 120 volts pendant 45 min cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN survenue au cours de la PCR.
- Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.



1-2-3-4-5-6 : Produits de PCR de 5 patients ; MT : marqueur de taille (PM 50 pb LADDER);
ADN : ADN sans PCR

Figure.4 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 3 % des fragments amplifiés (252pb) par PCR du polymorphisme (-590 C/T) du promoteur du gène de IL-4

II.4.3. Digestion des produits de PCR par des enzymes de restriction

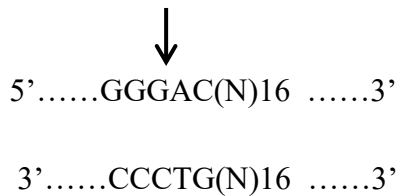
Les produits d'amplification (5µl de chacun) sont digérés avec des enzymes de restriction spécifique au gène amplifié. Les produits de PCR sont incubés dans une étuve pendant 16 heures à 37 °C. Les produits digérés et les marqueurs d'ADN de différents poids moléculaires sont séparés sur un gel d'agarose (3% agarose/1xTBE gel), contenant 10µl du bromure d'éthidium.

II.4.3.1. Préparation du gel d'agarose pour la digestion

- Mélanger 100ml de tampon TBE 1 X à 3 g d'agarose.
- Faire fondre l'agarose au four à micro.
- Agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange. Rajouter 10 µl de BET (bromure d'éthidium).
- Laisser refroidir, enlever le peigne. Le gel sera prêt ainsi pour le dépôt des échantillons.

II.4.3.2. Digestion par BSMF1 pour le polymorphisme (-590 C / T) du promoteur du gène de IL-4

L'E. Coli souche qui porte le gène de BsmFI clonée à partir de Bacillus stearotherophilus F (ER2683) qui agit dans le site suivant :

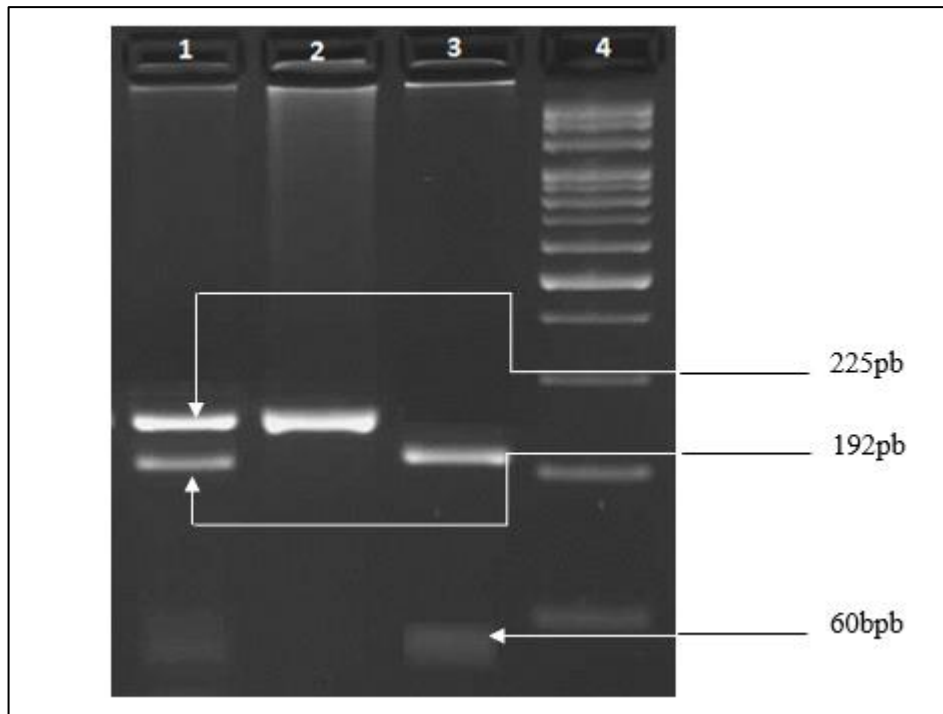


▪ **Préparation de l'échantillon :**

Le milieu de digestion de l'enzyme BsmFI I est préparé comme suit :

Réactifs	Volume µl
BsmFI I	1 µl
Tampon Bsmf1	3 µl
BSA	0.3 µl
H2O stérile	9.7 µl

La présence de la mutation -590 C/T issu du remplacement d'une base cytosine par une thymine crée un site de coupure pour l'enzyme de restriction BsmFI I, les fragments d'ADN obtenu seront de 225-pb pour le gène muté TT, 192-pb, pour l'homozygote de type sauvage (Wild type) CC et 225-pb,192-pb et 60pb pour l'hétérozygote CT. Les produits de digestion sont ensuite séparés sur gel d'agarose 3%.



1 : hétérozygote CT ; 2 : TT homozygote muté ; 3 : CC Wild type (homozygote) ;
4 : Marqueur de taille (PM 100pbLADDER)

Figure.5 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de BsmFI I présentant différents génotypes du polymorphisme -590C/T du promoteur d'IL-4

III. Analyse statistique des données

Les données ont été analysées en utilisant le programme SPSS (version 20.0). Les paramètres quantitatifs sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type et les paramètres qualitatifs par l'effectif suivi du pourcentage.

Pour l'analyse statistique de nos paramètres biologiques, on a utilisé le test de Spearman pour étudier la corrélation entre des différents paramètres biologiques. Et le test d'ANOVA pour évaluer la différence des paramètres biologiques entre les deux groupes ; témoins et asthmatiques.

L'équilibre de Hardy-Weinberg a été évalué par le test de Chi-2 (X²).

III.1. Analyses uni variées

Les variables qualitatives sont obtenues par estimation de la fréquence en pourcentage (%). Tandis que les variables quantitatives sont exprimées en moyennes \pm écarts-types.

III.2. Analyses bi variées

Pour la comparaison du pourcentage on a appliqué le test de Chi 2 de Pearson et le test de Fisher.

La comparaison des moyennes est réalisée à travers des tests paramétriques à savoir le test T de Student et le test ANOVA et des tests non paramétriques, il s’agit du test de U de Mann Whitney et le test de Krushkal Wallis.

III.3. Test du déséquilibre de transmission (TDT)

Comme les marqueurs génétiques ne sont pas toujours disponibles dans le gène candidat, on peut utiliser des marqueurs génétiques situés près du locus candidat et dont on connaît la position; alors il s'agit de montrer qu'il y a une liaison entre ces marqueurs génétiques et le statut de la maladie C’est-à-dire On cherche à voir s'ils jouent un rôle dans le développement de la maladie. En termes génétiques, on cherche à trouver, s'il y a ou non, présence d'un déséquilibre de liaison.

Pour cette raison, un test appelé, TDT (Transmission Disequilibrium Test) qui a été proposé par Spielman et al. Et il a pour objectif de tester la liaison en présence d’une association allélique entre le marqueur et la maladie. Pour utiliser le test TDT il suffit de disposer de familles ayant au moins un enfant malade [82].

• **Exemple illustratif :**

Nous avons calculé le Chi deux comme suit :

$$\chi_1^2 = (B-C)^2 / B+C \quad \text{et} \quad \text{ddl} = k(k-1)/2 = 1$$

Dont :

K : nombre d’allèles étudiés (T et C).

		Allèles non transmis	
		C	T
Allèles transmis	C	A	B
	T	C	D

P : on a calculé la P-value à l’aide d’un fichier Excel créé par Siegel, S (1956) [83].

CHAPITRE III

RÉSULTATS

I. Résultats

I.1. Répartition des paramètres anthropométriques, cliniques et biologiques des familles étudiées

Ce tableau représente les moyennes des caractères anthropométriques des enfants et de leurs parents : âge, poids, taille, IMC et sexe. Les résultats montrent que les enfants asthmatique de sexe féminin sont plus susceptible à développer l'asthme allergique (66%) que ceux du sexe masculin (34%) avec une P- value = 0.024.

Pour le paramètre physiologique sélectionné qui est le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) les moyennes révèlent que le VEMS des enfants asthmatiques (2.02 ± 0.72) ainsi que leurs mères (2.61 ± 0.47) sont réglées à la basse comparativement aux normes (3.00 L). Cependant, le VEMS des pères est dans l'énorme avec une moyenne de (3.45 ± 0.7).

Passant maintenant aux paramètres environnementaux représentés par le tabagisme (actif et passif) et l'allergie. Commençant par le tabagisme actif, nos résultats montrent que 2% de nos patients asthmatique sont des fumeurs et 78% des pères le sont aussi, alors qu'aucune maman n'est fumeuse (cela revient à nos traditions et coutumes). Pour le tabagisme passif nos données révèlent que 66% des enfants, 66% des mères et 78% des pères sont exposés à la fumée secondaire.

De plus, ce tableau comporte les fréquences et les pourcentages des paramètres cliniques de la triade atopique : l'asthme, l'eczéma et la rhinite chez les trios (enfant asthmatique, mères et pères) dont il est bien montrer que les mamans sont plus atteintes de maladies atopiques (58% asthmatiques, 38% atteints d'eczéma et 22% ont une rhinite allergique) que les papas (20% asthmatiques, 40% atteints d'eczéma et 16% ont une rhinite allergique).

A la fin du tableau.2, les valeurs des paramètres biologiques des enfants et leurs parents sont représentés par les moyennes du taux des IgE totales et la concentration de l'IL-4 dont la moyenne des IgE était de 1040.47 ± 428.45 UI/ml chez les enfants et de 674.48 ± 610.52 UI/ml chez les mères et de 162.96 ± 264.05 UI/ml chez les pères. Pour la concentration de l'IL-4, les résultats étaient comme suit : 1007.66 ± 419.04 pmol/ml chez les enfants, 740.44 ± 669.06 pmol/ml et de 163.77 ± 276.90 pmol/ml chez les mères et les pères respectivement. Ces valeurs nous ont conduits à déduire qu'il existe une augmentation

importante des taux des IgE totales et d'IL-4 chez les enfants et les mères comparativement aux pères. Il est à signaler que 58% des mères contre 20% des pères sont des asthmatiques.

Tableau.2 : Les paramètres anthropométriques, cliniques et biologiques des parents et leurs enfants asthmatiques

Caractéristiques		Enfants	Mères	Pères
Effectif		50	50	50
Age (Années) ↑		14.28 ± 8.99	42.96 ± 9.17	48.28 ± 8.73
Sexe	Féminin n (%)	33 (66%)	50 (100%)	-
	Masculin n (%)	17 (34%)	-	50 (100%)
P-value		0.024*	-	-
Taille ↑		1.45 ± 0.19	1.62 ± 0.07	1.73 ± 0.07
Poids ↑		45.38 ± 20.88	80.48 ± 14.19	79.40 ± 12.58
IMC ↑		20.13 ± 5.45	30.12 ± 4.51	26.35 ± 3.93
VEMS ↑		2.02 ± 0.72	2.61 ± 0.47	3.45 ± 0.79
Tabagisme actif n (%)	Oui	1(2%)	-	39 (78%)
	Non	49 (98%)	50 (100%)	11 (22%)
Tabagisme passive n (%)	Oui	33 (66%)	33 (66%)	39 (78%)
	Non	17 (34%)	17 (34%)	11 (22%)
Allergie n (%)		50 (100%)	31 (62%)	11 (22%)
Asthme n (%)		50 (100%)	29 (58%)	10 (20%)
Eczéma n (%)		23 (46%)	19 (38%)	20 (40%)
Rhinite n (%)		20 (40%)	11 (22%)	8 (16%)
Taux des IgE totales UI/mL ↑		1040.47 ± 428.45	674.48 ± 610.52	162.96 ± 264.05
Taux de l'IL-4 sérique pmol/mL ↑		1007.66 ± 419.04	740.44 ± 669.06	163.77 ± 276.90
↑ ($\bar{x} \pm \sigma$) : moyenne ± écart-type ; n (%) : l'effectif suivi du pourcentage ; (*) différence significative P<0.05.				

I.2. Répartition des enfants asthmatiques selon les antécédents familiaux de l’asthme et de l’allergie

La Figure.6 montre que 90% des enfants ayant des antécédents familiaux de l’asthme contre 10% seulement qui ne l’ont pas. Cette différence est statistiquement très hautement significative avec un P-value <0.0001. De même, pour l’allergie nous avons remarqué que l’histoire familiales de l’allergie chez les enfants est vraiment important qui est de l’ordre de 92% avec aussi un P-value <0.0001.

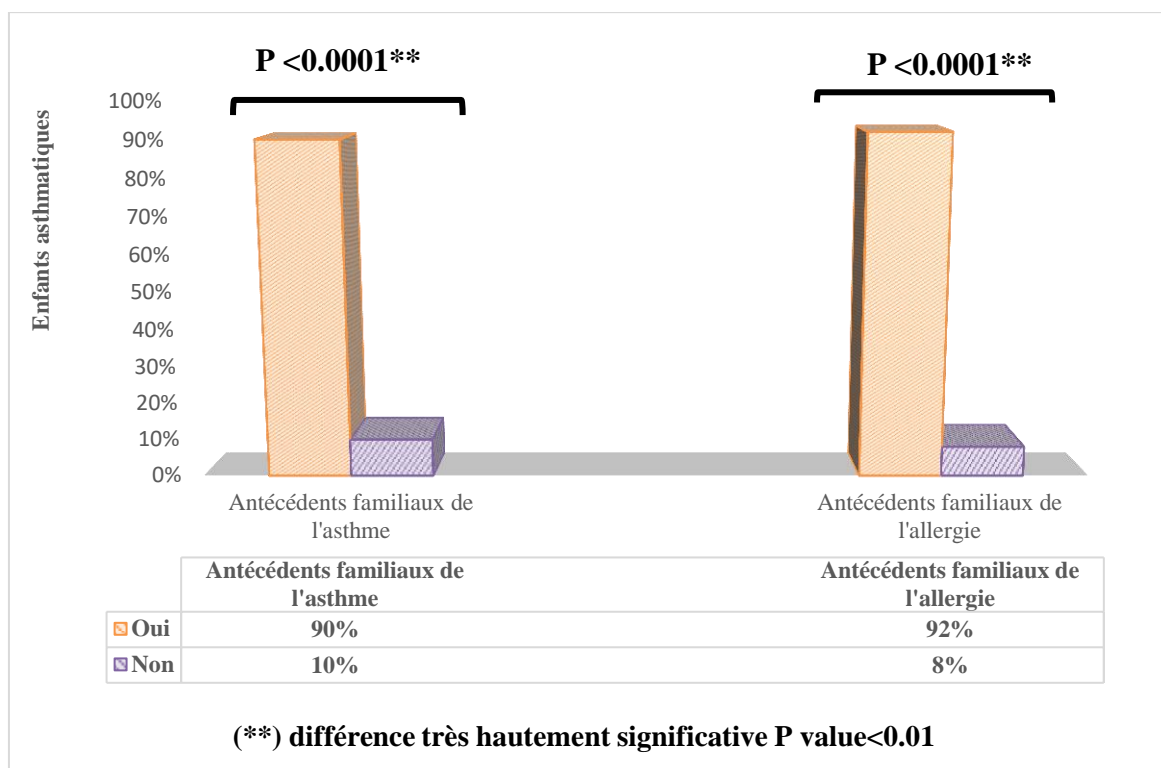


Figure.6 : La répartition des enfants asthmatiques selon les antécédents familiaux de l’asthme et de l’allergie

I.3. Répartition des enfants asthmatiques selon la consanguinité dans les trois dernières générations

Nous avons remarqué que 40% des enfants asthmatiques ont au moins un mariage consanguin dans les trois dernières générations ce qui peut être un des facteurs favorisant la transmission de l'asthme (P-value = 0.157) (Figure.7).

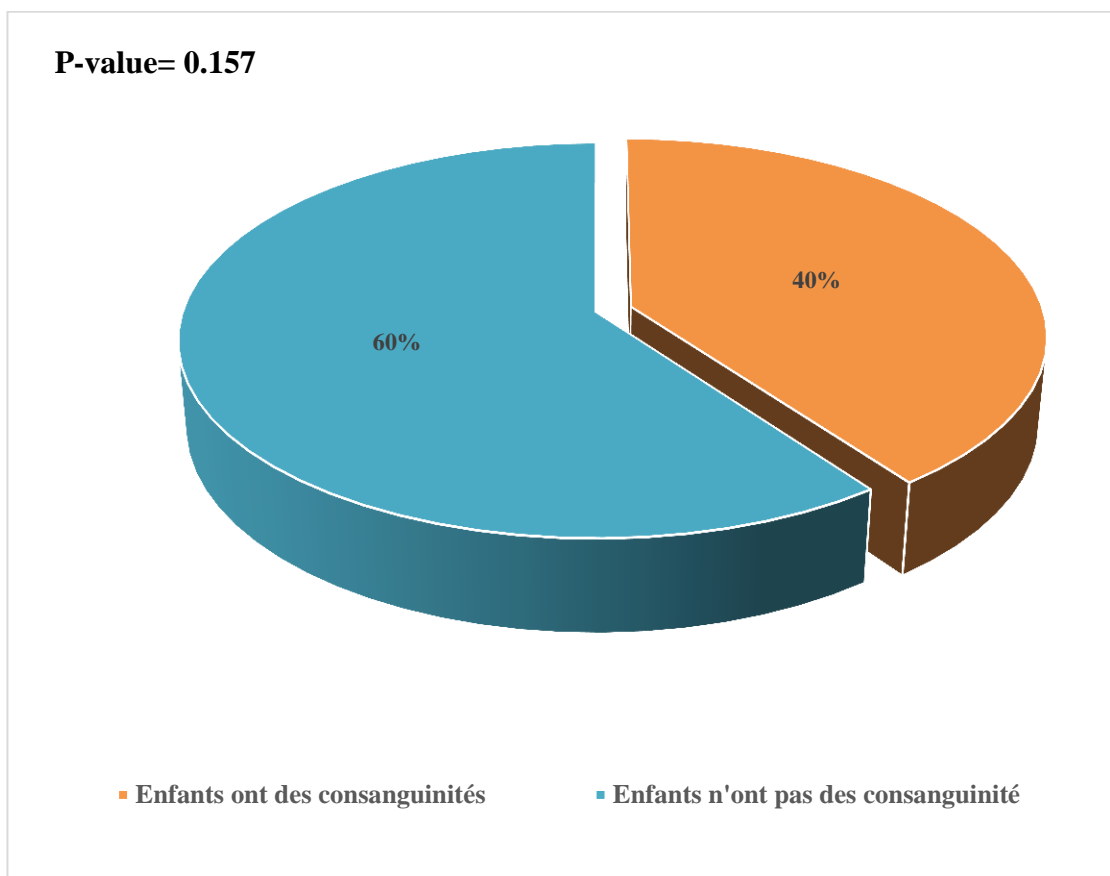


Figure.7 : La répartition des enfants asthmatiques selon la consanguinité

I.4. Répartition des parents et leurs enfants selon le profil de la maladie (asthme allergique)

I.4.1. Répartition des parents et leurs enfants selon le statut asthmatique

Le tableau.3 a pour objectif de montrer si la présence de l'asthme chez les parents joue un rôle causal pour l'apparition de l'affection chez la descendance. Les résultats révèlent une différence hautement significative ($P < 0.0001$) entre la présence de l'asthme chez les pères (20%) et l'apparition de l'asthme chez l'enfant avec un risque relative égale à 5 soit une chance de 1/5 de développer l'asthme si le père est asthmatique. De même pour les mamans dont une différence hautement significative est observé ($P < 0.0001$) avec $RR = 1.72$ Soit 1/1.72 à le risque de développer l'asthme si la maman l'est.

Tableau.3 : La comparaison entre les enfants et leurs parents selon le statut asthmatique

Caractère	État	Enfants n (%)	Pères n (%)	RR (95% CI)	P-value	Enfants n (%)	Mères n (%)	RR (95% CI)	P-value
Asthme	Oui	50 (100%)	10 (20%)	5.00 (2.87-8.70)	<0.0001**	50 (100%)	29 (58%)	1.72 (1.36-2.18)	<0.0001**
	Non	0 (0%)	40 (80%)			0 (0%)	21 (42%)		
n (%) : l'effectif suivi du pourcentage ; (**): différence très hautement significative. RR : Risque relatif									

I.4.2. Répartition des parents et leurs enfants selon le statut allergique

Les résultats révèlent une différence hautement significative ($P < 0.0001$) entre la présence de l'allergie chez les pères (11%) et l'apparition de l'allergie chez l'enfant avec un risque relative égale à 4.54 soit une chance de 1/4.54 de développer l'allergie si le père est allergique. De même pour les mamans dont une différence hautement significative est observé ($P < 0.0001$) avec $RR = 1.61$ Soit 1/1.61 à le risque de développer l'allergie si la maman l'est.

Tableau.4 : La comparaison entre les enfants et leurs parents selon le statut allergique

Caractère	État	Enfants n (%)	Pères n (%)	RR (95% CI)	P-value	Enfants n (%)	Mères n (%)	RR (95% CI)	P-value
allergie	Oui	50 (100%)	11 (22%)	4.54 (2.69-7.66)	<0.0001**	50 (100%)	31 (62%)	1.61 (1.29-2.00)	<0.0001**
	Non	0 (0%)	39 (78%)			0 (0%)	19 (38%)		
n (%) : l'effectif suivi du pourcentage ; (**): différence très hautement significative. RR : Risque relatif.									

I.4.3. Corrélation entre les taux des IgE totales, les concentrations d’IL-4 des parents asthmatiques et leurs enfants

Le tableau.5 représente l’analyse statistique des résultats de dosage des IgE totales et d’IL-4 des enfants et de leurs parents asthmatiques qui ont montré une différence hautement significative entre le taux des IgE des enfants et ceux des pères (P = 0.0006) et une différence non-significative entre les mères et leurs enfants (P = 0.4253).

De même pour la concentration d’IL-4 sérique dont nous avons remarqué que son niveau chez les enfants et leurs pères est significativement différent (P = 0.0003) et non significative entre les enfants et les mères (P = 0.7996).

Tableau.5 : La comparaison des taux des IgE totales et les concentrations d’IL-4 entre les enfants et les parents asthmatiques

Paramètre allergologique	Enfants asthmatiques		Pères asthmatiques		P-value	Enfants asthmatiques		Mères asthmatiques		P-value
	N°	($\bar{x} \pm \sigma$)	N°	($\bar{x} \pm \sigma$)		N°	($\bar{x} \pm \sigma$)	N°	($\bar{x} \pm \sigma$)	
Taux des IgE totales (UI/ml)↑	10	1302.79 ± 599.38	10	475.77 ± 203.94	0.0006**	29	1148.45 ± 460.79	29	1053.8 ± 436.50	0.4253
La concentration d’IL-4 sérique (pmol /ml) ↑	10	1368.98 ± 620.51	10	455.51 ± 207.18	0.0003**	29	1140.35 ± 447.24	29	1172.02 ± 496.92	0.7996

N° : l’effectif ; ↑ : ($\bar{x} \pm \sigma$) : moyenne ± écart-type ; (**) différence très hautement significative P<0.01.

I.5. Répartition des parents et leurs enfants selon les facteurs environnementaux

I.5.1. Répartition des familles selon le type d'habitat

La figure.8 nous a permis d'évaluer la relation entre le type d'habitat comme étant un facteur environnemental influençant l'apparition de l'asthme chez les enfants. Les données révèlent que (24%) des enfants asthmatiques habitent dans des villas, 26% habitent dans des appartements et que la moitié des enfants (50%) habitent dans des logements insalubres (constitués de plusieurs rangées de baraques construites en parpaing et coiffées de tôles proches des égouts auxquels s'ajoute l'humidité) ($P = 0.043$).

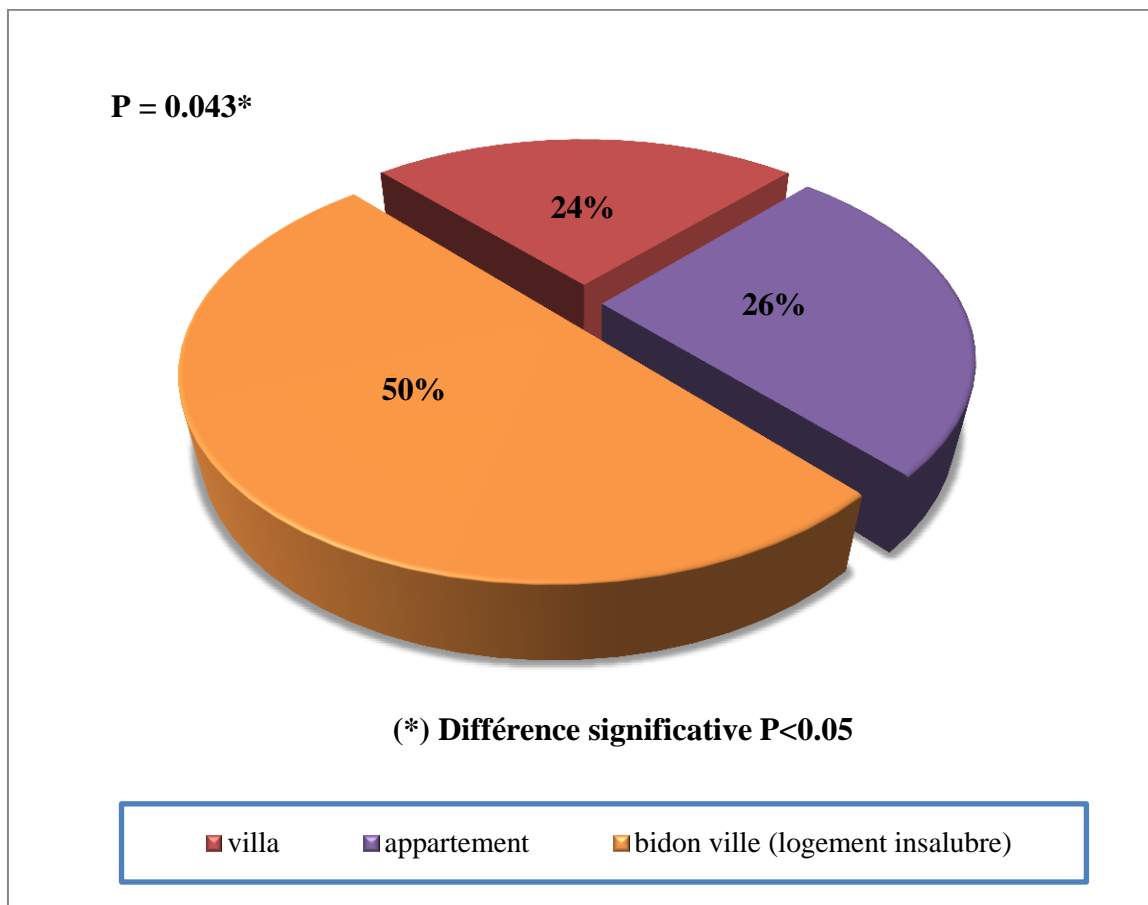


Figure.8 : La répartition des familles selon le type d'habitat

I.5.2. Répartition des parents asthmatiques et leurs enfants selon le type d’allergène au quelle ils sont sensibilisés

Cet histogramme représente la répartition des enfants et de leurs parents asthmatiques selon six allergènes auxquelles notre population étudié est sensibilisé sélectionnés de la batterie utilisée lors des tests cutanés (des 15 allergènes). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure.9 dont ils montrent qu’il y a une distribution non homogène entre les enfants et leurs parents bien qu’ils partagent le même habitat (P = 0.000).

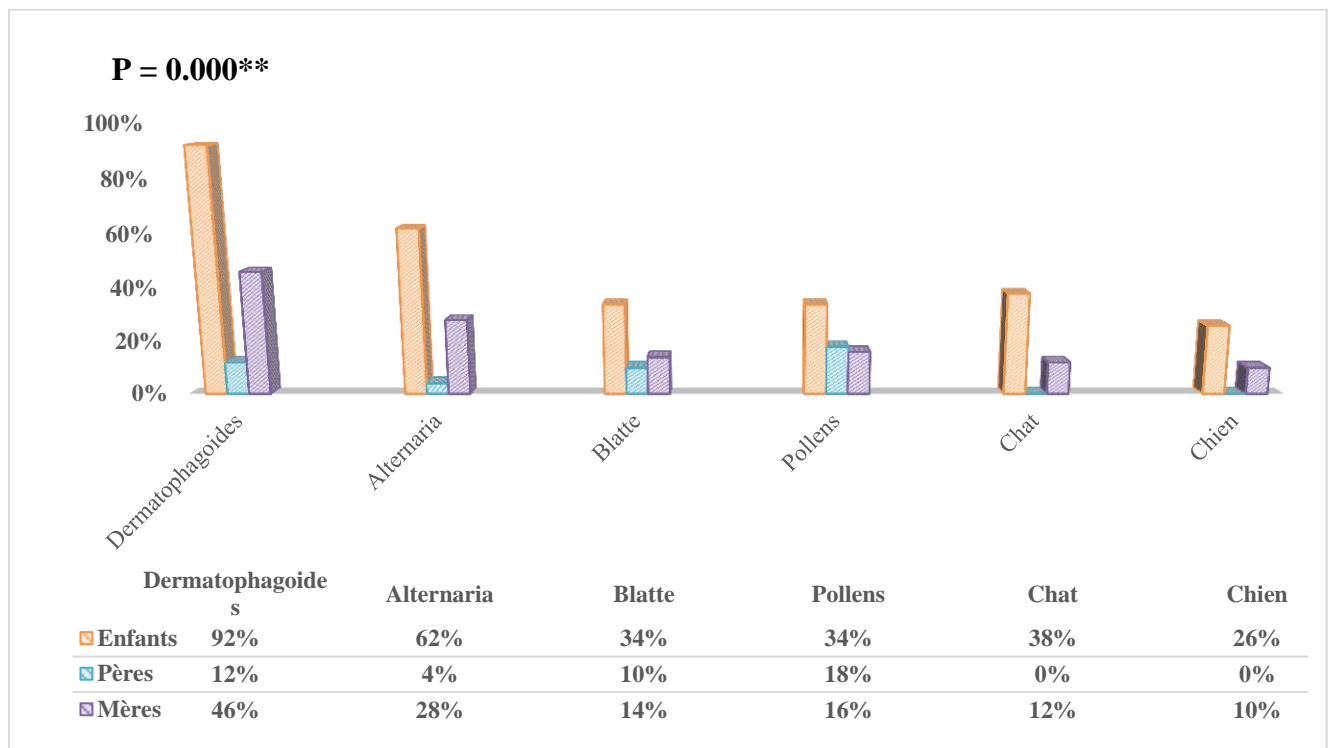


Figure.9 : la répartition des parents et leurs enfants asthmatiques selon les allergènes déclencheurs de leurs crises d’asthme

I.5.3. Répartition des enfants asthmatiques selon les éléments déclencheurs de leurs crises d'asthme

Dans le tableau.6, nous avons remarqué que la majorité des enfants asthmatiques (92%) sont sensibilisés aux Dermatophagoïdes ($P = 0.000$), 64% à l'Alternaria ($P = 0.048$), 34% aux blattes et les pollens avec une p -value= 0.024), 38% aux poils de chat ($P = 0.05$) et 26% aux poils de chien ($P = 0.001$).

Tableau.6 : La répartition des enfants asthmatiques selon les éléments déclencheurs de leurs crises d'asthme

Caractéristiques	Enfants asthmatiques n (%)	P value
Dermatophagoïdes		
Oui	46 (92%)	0.000**
Non	4 (8%)	
Alternaria		
Oui	32 (64%)	0.048*
Non	18 (36%)	
Blatte		
Oui	17 (34%)	0.024*
Non	33 (66%)	
Pollens		
Oui	17 (34%)	0.024*
Non	33 (66%)	
Chat		
Oui	19 (38%)	0.05
Non	31 (62%)	
Chien		
Oui	13 (26%)	0.001**
Non	37 (74%)	
n (%): l'effectif suivi de pourcentage ; (*): différence significative $p < 0.05$; (**): différence hautement significative $P < 0.01$.		

I.5.4. Répartition des enfants asthmatiques et non-asthmatiques selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse

Afin de montrer l'effet de l'exposition intra-utérine au tabagisme passif maternel sur la possibilité de l'expression de l'asthme chez les enfants nous avons comparé les enfants asthmatiques avec les enfants sains selon l'exposition ou non de leurs mères. Les résultats montrent une différence hautement significative ($P < 0.0001$) entre la distribution des enfants asthmatiques et non-asthmatiques avec un risque de 2.57 plus élevé d'avoir des enfants asthmatiques si la maman est exposée à la fumée du tabac pendant la grossesse (Tableau.7).

Tableau.7 : La comparaison des enfants asthmatiques et les enfants sains selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse

	Mères exposées à la fumée du tabac	Mères non-exposées à la fumée du tabac	RR (95% IC)	P-value
Enfants asthmatiques	33 (66%)	17 (34%)	2.57 (1.67-3.95)	<0.0001**
Enfants sains	10 (20%)	40 (80%)		

RR : risque relatif ; (**) différence hautement significative $P < 0.01$.

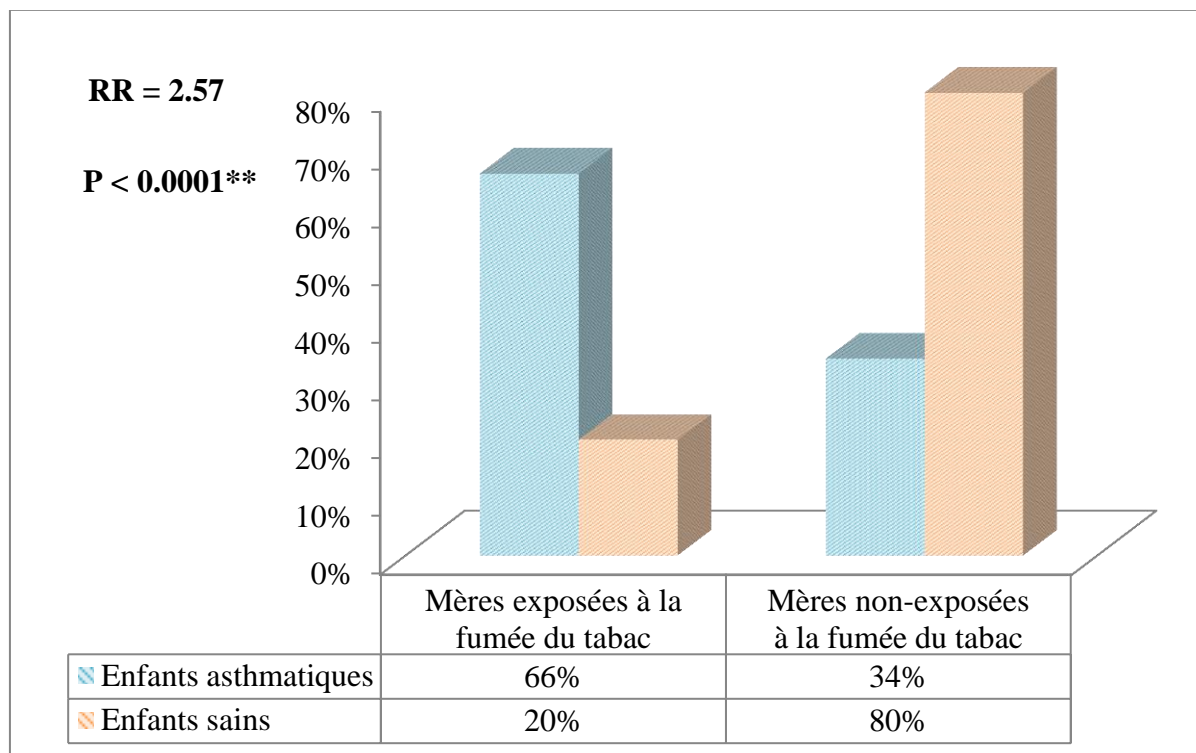


Figure.10 : La comparaison des enfants asthmatiques et les enfants sains selon l'exposition passive de leurs mères au tabac durant la grossesse

I.6. Répartition des parents et leurs enfants selon les facteurs génétiques

I.6.1. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour l'asthme

Les résultats de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590 C/T des enfants et de leurs parents selon le statut asthmatique n'ont montré aucune différence significative. Ces résultats sont obtenus après la comparaison des génotypes : CT vs. CC (OR, 0.65 ; IC à 95% 0.14-2.88 ; P = 0.57), TT vs. CC (OR, 0.53 ; IC à 95% 0.11-2.60 ; P = 0.44) et CC vs. TT+CT (OR, 1.63 ; IC à 95% 0.38-7.00 ; P = 0.50).

Pour les fréquences alléliques les résultats sont comme suit : pour l'allèle T ils sont de (62.82%) chez les parents asthmatiques et de (58%) chez les enfants (OR, 0.81 ; IC à 95% 0.44-1.49; P = 0.51) et pour l'allèle C est de (37.18%) chez les parents et est de (42%) chez les enfants (OR, 1.22 ; IC à 95% 0.66-2.24; P = 0.51) (Tableau.8).

Tableau.8 : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents asthmatiques

	N°	Fréquences génotypiques			Fréquences alléliques	
		CT n (%)	TT n (%)	CC n(%)	C allèle n (%)	T allèle n (%)
Parents	39	23 (58.98%)	13 (33.33%)	3 (7.69%)	29 (37.18%)	49 (62.82%)
Enfants	50	30 (60%)	14 (28%)	6 (12%)	42 (42%)	58 (58%)
P-value		0.57	0.44	0.50	0.51	0.51
OR (95% CI)		0.65 (0.14-2.88)	0.53 (0.11-2.60)	1.63 (0.38-7.00)	1.22 (0.66-2.24)	0.81 (0.44-1.49)
n (%) : l'effectif suivi de pourcentage ; (*) : différence significative P<0.05 selon le test de Fisher.						

I.6.2. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour l'eczéma et la rhinite allergique

Ce tableau représente la distribution des fréquences génotypiques et alléliques des enfants et de leurs parents ayant été atteints de l'eczéma et les résultats n'ont révélé aucune différence significative après la comparaison des génotypes : CT vs. CC (OR, 3 ; IC à 95% 0.77-11.60 ; P = 0.11), TT vs. CC (OR, 2.22 ; IC à 95% 0.51-9.59 ; P = 0.28) et de CC vs. TT+CT (OR, 0.37 ; IC à 95% 0.10-1.32 ; P = 0.12).

Pour la distribution des allèles T et C les résultats étaient : (46.15%) chez les parents et de (56.52%) chez les enfants pour l'allèle T (OR, 1.51 ; IC à 95% 0.72-3.15 ; P = 0.26) et pour l'allèle C les fréquences étaient de (53.85%) chez les parents et de (43.48%) chez les enfants (OR, 0.65 ; IC à 95% 0.31-1.37 ; P = 0.26) (Tableau.9).

Tableau.9 : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590 C/T chez les enfants et leurs parents pour l'eczéma

	n	Fréquences génotypiques			Fréquences alléliques	
		CT n (%)	TT n (%)	CC n(%)	C allèle n (%)	T allèle n (%)
Parents	39	14 (35.89%)	11 (28.22%)	14 (35.89%)	42 (53.85%)	36 (46.15%)
Enfants	23	12 (52.18%)	7 (30.43%)	4 (17.39%)	20 (43.48%)	26 (56.52%)
P-value		0.11	0.28	0.12	0.26	0.26
OR (95% CI)		3 (0.77-11.60)	2.22 (0.51-9.59)	0.37 (0.10-1.32)	0.65 (0.31-1.37)	1.51 (0.72-3.15)
n (%) : l'effectif suivi de pourcentage, (*) : différence significative P<0.05 selon le test de Fisher.						

Nos résultats pour la distribution des fréquences génotypiques et alléliques en fonction de l'attente par la rhinite allergique chez les enfants et de leurs parents n'ont montré aucune différence significative après la comparaison des génotypes : CT vs. CC (OR, 0.66 ; IC à 95% 0.09-4.73 ; P = 0.68), TT vs. CC (OR, 0.66 ; IC à 95% 0.07-5.87 ; P = 0.71) et CC vs. TT+CT (OR, 1.50 ; IC à 95% 0.22-10.14 ; P = 0.67).

Concernant les fréquences alléliques les résultats sont comme suit : (57.89%) chez les parents et de (55%) chez les enfants pour l'allèle T (OR, 0.88 ; IC à 95% 0.36-2.17 ; P = 0.79) et de (42.11%) chez les parents et de (45%) chez les enfants pour le C (OR, 1.12 ; IC à 95% 0.45-2.75 ; P = 0.79) (Tableau.10).

Tableau.10 : Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme -590C/T chez les enfants et leurs parents pour la rhinite allergique

		Fréquences génotypiques			Fréquences alléliques	
	n	CT n (%)	TT n (%)	CC n(%)	C allèle n (%)	T allèle n (%)
Parents	19	12 (63.16%)	5 (26.31%)	2 (10.53%)	16 (42.11%)	22 (57.89%)
Enfants	20	12 (60%)	5 (25%)	3 (15%)	18 (45%)	22 (55%)
P-value		0.68	0.71	0.67	0.79	0.79
OR (95% CI)		0.66 (0.09–4.73)	0.66 (0.07-5.87)	1.50 (0.22-10.14)	1.12 (0.45-2.75)	0.88 (0.36-2.17)

n (%) : l'effectif suivi de pourcentage ; (*) : différence significative P<0.05 selon le test de Fisher.

I.6.3. Statut parental de l'asthme allergique et l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590C/T chez les enfants (maternelle ou paternelle)

Tableau.11 : Le statut parental et l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590C/T (maternelle ou paternelle)

		Fréquences génotypiques			Fréquences alléliques	
	n	CT n (%)	TT n (%)	CC n (%)	C allèle n (%)	T allèle n (%)
Père	50	26 (52%)	4 (8%)	20 (40%)	66 (66%)	34 (34%)
Enfants	50	30 (60%)	14 (28%)	6 (12%)	42 (42%)	58 (58%)
P-value		0.01*	0.008**	0.002**	0.0008**	0.0008**
OR (95% CI)		3.84 (1.34-11.02)	11.66 (2.77-49.13)	0.20 (0.07-0.56)	0.37 (0.21-0.66)	2.68 (1.51-4.75)
Mère	50	27 (54%)	12 (24%)	11 (22%)	49 (49%)	51 (51%)
Enfants	50	30 (60%)	14 (28%)	6 (12%)	42 (42%)	58 (58%)
P-value		0.21	0.23	0.18	0.32	0.32
OR (95% CI)		2.03 (0.66-6.25)	2.13 (0.60-7.52)	0.48 (0.16-1.42)	0.75 (0.43-1.31)	1.32 (0.75-2.31)

n (%) : l'effectif suivi de pourcentage ; (*) : différence significative P<0.05. (**): Différence hautement significative P<0.01.

Ce tableau montre que parmi les 50 enfants nous avons 30 (60%) qui ont le génotype CT, 14 (28%) ont le génotype TT et 6 (12%) ont le génotype CC.

Alors que pour les pères il y a 26 (52%) qui ont le génotype CT, 20 (40%) ont le génotype CC et 4 (8%) ont le génotype TT.

Cependant, pour les mamans nous avons 27 (54%) qui ont le génotype CT, 12 (24%) ont le génotype TT concernant les mamans qui ont le génotype CC ils sont en nombre de 11 (22%).

Par la suite, et afin de déterminer l'origine de l'allèle muté T (paternelle ou maternelle) nous avons effectué une comparaison entre les fréquences génotypiques et alléliques des enfants avec ceux des pères et des mères séparément (Tableau.11).

Les résultats de la comparaison des fréquences génotypiques des pères avec leurs enfants ont montré une différence significative pour le génotype CT ($P=0.01$), qui était prédominant chez les enfants asthmatiques avec une fréquence de (60%) par rapport à leurs pères (52%). Vraisemblablement au génotype TT dont nous avons remarqué une différence hautement significative ($P=0.008$) et que ce génotype est très abondant chez les enfants asthmatiques (28%) par rapport aux pères (8%). De même pour le génotype CC une différence significative est également observé ($P=0.002$) dont il est notable que ce génotype est prédominant chez les pères avec une fréquence de (40%) que chez leurs enfants (12%).

Ces différences significatives observées dans la distribution des fréquences génotypiques vont se refléchi automatiquement sur les résultats de la comparaison des fréquences alléliques chez les pères et les enfants dont nous avons remarqué une différence hautement significative pour les deux allèles ($P=0.0008$) avec une fréquence de (66%) chez les pères contre (42%) chez les enfants pour l'allèle C et une fréquence de (58%) chez les enfants contre (34%) chez les pères pour l'allèle T (Tableau.11).

La deuxième partie du Tableau.11 représente les résultats de la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques des mères avec ceux de leurs enfants asthmatiques, dans cette section nous n'avons remarqué aucune différence significative dans la distribution des fréquences génotypique et allélique. En effet, le génotype CT ($P=0.21$) est présent chez les enfants avec une fréquence de (60%) contre (54%) chez les mères. Pour le génotype TT ($P= 0.23$) les fréquences sont de (28%) chez les enfants contre (24%) chez les mères et

observe pour le génotype CC (P=0.18) une fréquence de (12%) chez les enfants et (22%) chez les mères.

Idem pour les fréquences alléliques (P=0.32) des mères et leurs enfants asthmatiques (Tableau.11).

Afin de confirmer nos constatations nous avons utilisé un test génétique spécifique qui est le disequilibrium transmission test (TDT) pour étudier la possibilité d’une association significative au sens statistique entre la présence du variant génétique T et la présence de l’asthme. Ce test a pour but aussi de comparer la fréquence de transmission de l’allèle T étudié et d’évaluer s’il existe une sur-transmission d’un allèle en particulier, des parents à leur enfant affecté.

I.6.4. TDT (disequilibrium transmission test) pour la transmission parentale des allèles du polymorphisme -590C/T

I.6.4.1. TDT (Transmission disequilibrium test) général

Dans le Tableau.12 nous avons utilisé le TDT général pour démontrer la sur-transmission de l’allèle T du SNP étudié des parents à leurs enfants asthmatiques. Ce tableau montre une différence très hautement significative (P= 2^E-05) entre le nombre d’allèles T et C transmis. Nos données révèlent que 58 allèles T ont été transmis aux enfants asthmatiques contre 27 non transmis et que 42 allèles C ont été transmis à la descendance atteinte contre 73 allèles C non transmis.

Tableau.12 : Le TDT général pour la transmission parentale des allèles du polymorphisme -590C/T

		TDT général					
		Allèles non transmis		Totale	χ^2	Ddl	P
		C	T				
Allèles transmis	C	31	11	42	18.13	1	2 ^E -05**
	T	42	16	58			
Totale		73	27	100			

(**) différence hautement significative P<0.01 test de Chi deux

I.6.4.2. TDT pour les mères et les pères Vs enfants

Dans le tableau.13 nous avons calculé le TDT pour les mères et les pères séparément dans le but de déterminer l'origine de l'allèle muté T de SNP -590C/T soit paternel ou maternel. Sachant que nous avons déjà tester l'association et la transmission de cet allèle des parents aux enfants malades par le TDT général.

Ce tableau montre que l'allèle C du SNP -590C/T est transmis 16 fois sur 49 de la mère à son enfant et que l'allèle T à son tour est transmis 34 fois sur 51. Ces résultats montrent que l'allèle T est transmis aux enfants atteints d'asthme allergique dans 68% des cas [(X₂ = 10.70) à un ddl = 1]. Ceci suggère que cet allèle T est associé à la maladie et hérité préférentiellement de la mère.

Cependant, pour les pères nous remarquons que l'allèle C est transmis 26 fois sur 66 à leurs enfants et que l'allèle T est transmis 24 fois sur 34. Pour cela nos données montrent que les allèles T et C sont transmis des pères aux enfants asthmatique d'une façon presque similaire [(X₂= 7.53, ddl=1)]. Cependant, nous remarquons que la valeur des C non-transmis est 4 fois plus que les T non-transmis avec un X₂>3.84. TDT n'a montré aucune transmission préférentielle de l'allèle T des pères aux enfants affectés.

Tableau.13 : Le TDT pour les mères Vs enfants et les pères Vs enfant

		TDT pour les mères Vs enfants					TDT pour les pères Vs enfants						
		Allèles non transmis		Totale	χ ²	ddl	P-value	Allèles non transmis		Totale	χ ²	ddl	P-value
		C	T					C	T				
Allèles transmis	C	11	5	16	10.70	1	0.001**	20	6	26	7.53	1	0.006**
	T	22	12	34				20	4	24			
Totale		33	17	50				40	10	50			

(**) différence hautement significative P<0.01 test Chi deux.

I.6.5. Répartition des enfants asthmatiques en fonction du sexe et des génotypes du polymorphisme -590C/T

Pour cette répartition nous avons visé d'évaluer la relation génotype-sexe. Les résultats montrent que 70% des enfants sont de sexe féminin ayant un génotype CT contre 30% de sexe masculin. Cette répartition représente une différence significative avec une P-value = 0.028. Pour le génotype TT, nous remarquons également la prédominance du sexe féminin (64.28%) par rapport au sexe masculin (35.71%) avec une P = 0.285 et nous avons remarqué une égalité dans la distribution du génotype CC entre les deux sexes (P = 1). pour les fréquences alléliques ils ont été distribués comme suit : 64.29% C contre 35.71% C (P = 0.064) et 67.24% T contre 32.76% T (P = 0.009) pour le sexe féminin et masculin respectivement (Figure.11).

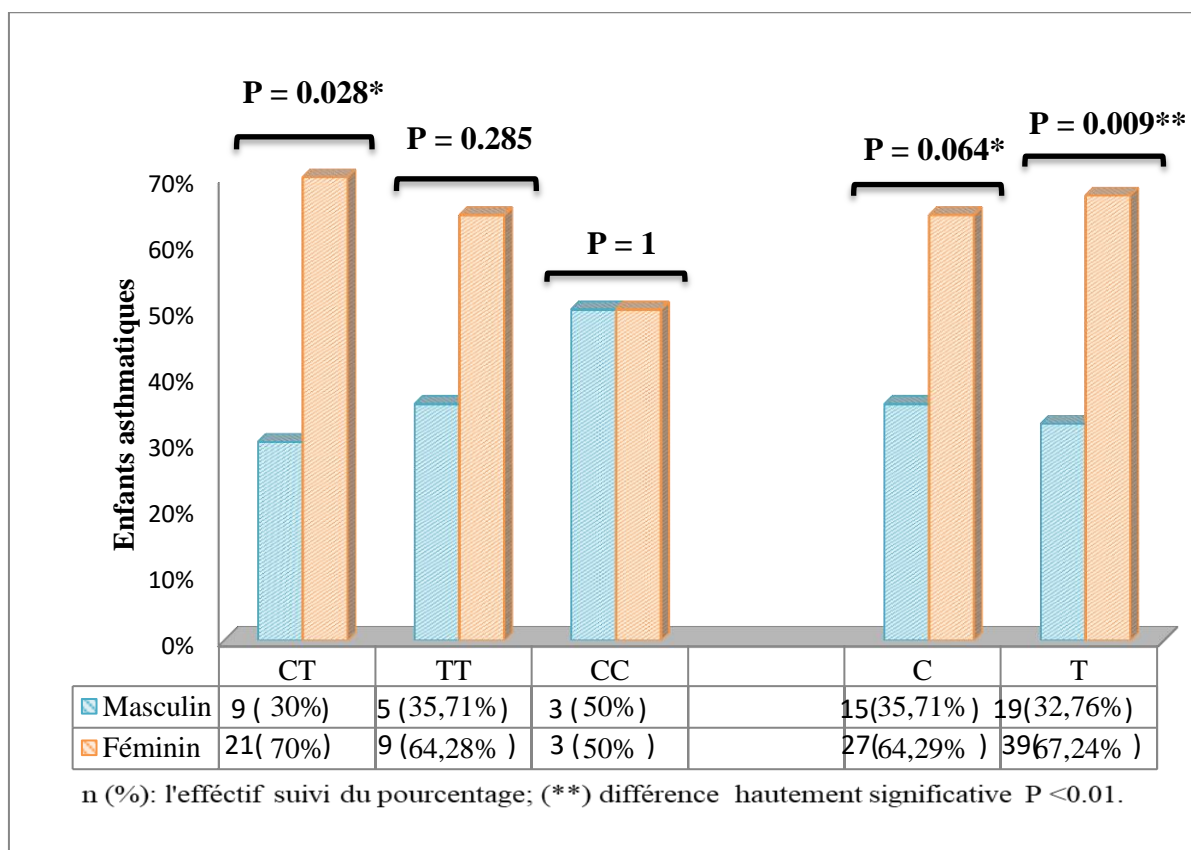


Figure.11 : La répartition des enfants asthmatiques en fonction du sexe et des génotypes du polymorphisme -590C/T

I.6.6. Moyennes et écart types du taux des IgE totales et la concentration d’IL-4 sérique en fonction des génotypes du polymorphisme -590C/T (enfants vs. parents)

Le tableau.14 représente les résultats de la comparaison des taux d’IgE totales et la concentration d’IL-4 sérique des enfants asthmatiques et de leurs parents selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T. Pour cela nous n’avons remarqué aucune différence significative entre les enfants et leurs pères soit pour les IgE ou pour l’IL-4. Les résultats de la comparaison des enfants avec leurs mères n’ont montré aucune différence significative pour les génotypes CC et CT avec les P-values suivent : P = 0.9863 et P = 0.2496 respectivement.

Alors que des différences hautement significatives sont observé pour le génotype TT pour les IgE et l’IL-4 (p-value=0.0018) et (p-value=0.0024) respectivement.

Tableau.14 : La comparaison entre le taux d’IgE totale et la concentration d’IL-4 sérique et les génotypes du polymorphisme -590 C/T

	Le taux des IgE totales (UI/ml) ↑			La concentration d’IL-4 sérique (pmol/ml) ↑		
	CT	TT	CC	CT	TT	CC
Enfants	852.22 ± 206.53	1552.72 ± 281.87	786.46 ± 565.95	807.62 ± 152.71	1510.95 ± 323.25	833.48 ± 572.86
Pères	196.16 ± 260.32	544.62 ± 491.16	43.46 ± 73.15	201.69 ± 266.91	517.82 ± 569.25	43.66 ± 96.36
P value	<0.0001**	0.0001**	<0.0001**	<0.0001**	0.0003**	<0.0001**
Enfants	852.22 ± 206.53	1552.72 ± 281.87	786.46 ± 565.95	807.62 ± 152.71	1510.95 ± 323.25	833.48 ± 572.86
Mères	514.21 ± 390.25	1554.45 ± 215.10	107.90 ± 166.91	580.87 ± 471.73	1654.05 ± 289.64	135.45 ± 222.76
P value	0.0001**	0.9863	0.0018**	0.0157*	0.2496	0.0024**

↑ ($\bar{x} \pm \sigma$) : moyenne ± écart-type ; (**): Différence hautement significative P<0.01.

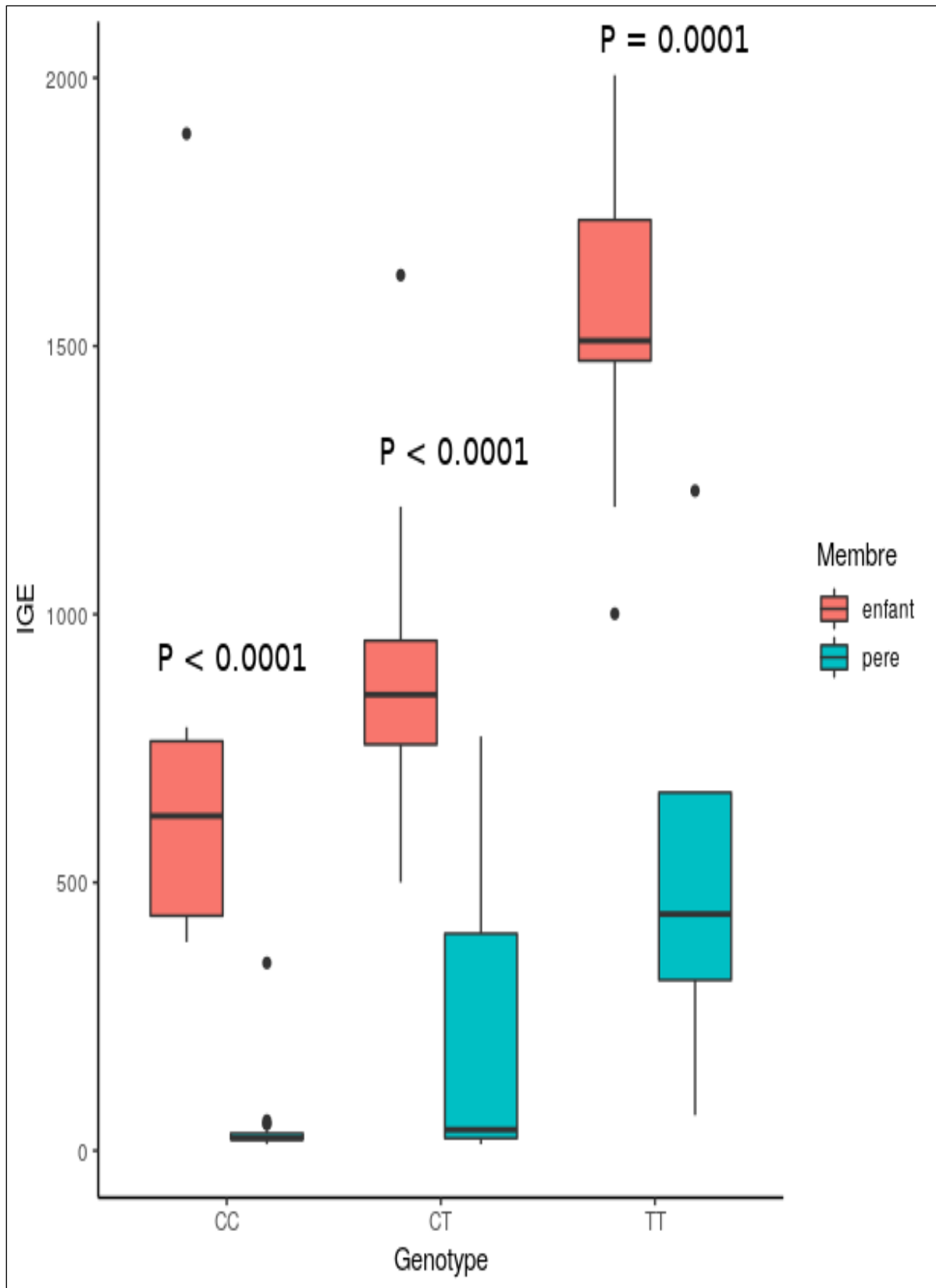


Figure.12 : La comparaison des taux d'IgE totales des enfants et de leurs pères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T

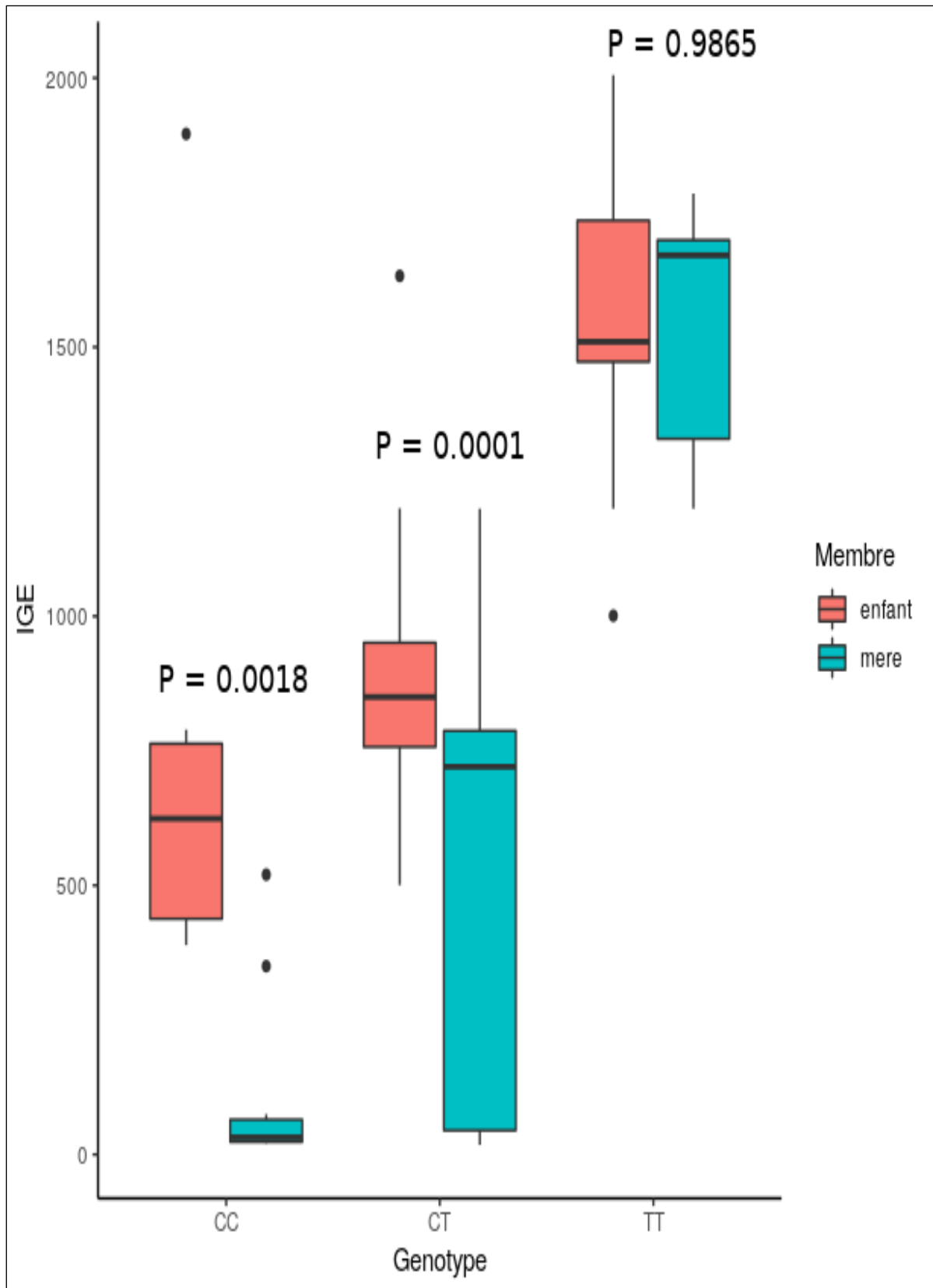


Figure.13 : la comparaison des taux d'IgE totales des enfants et de leurs mères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T

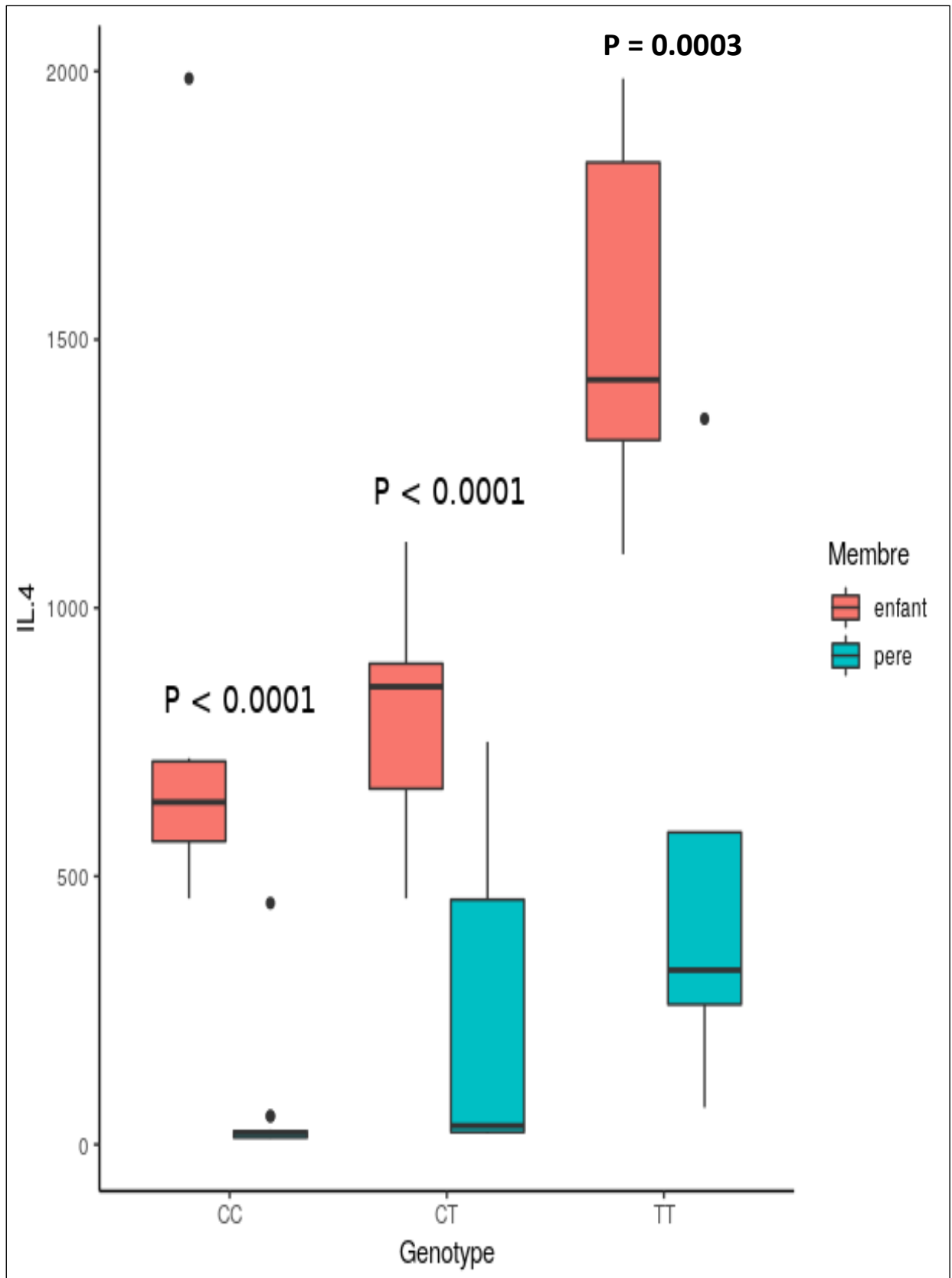


Figure.14 : la comparaison des taux d'IL-4 sériques des enfants et de leurs pères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T

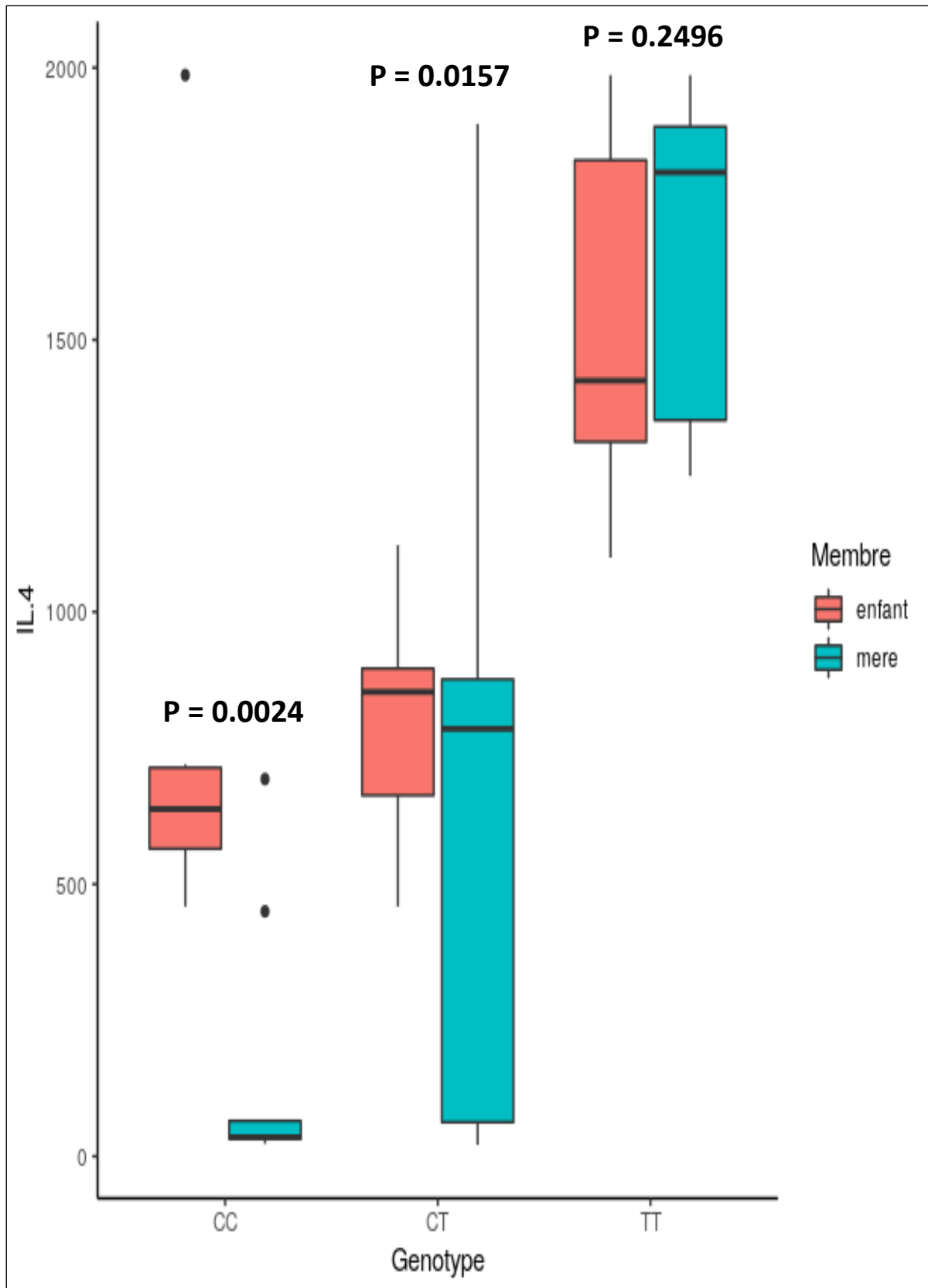


Figure.15 : La comparaison des taux d'IL-4 sériques des enfants et de leurs mères selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T

I.6.7. Interaction entre les génotypes maternels du polymorphisme -590C/T et le taux des IgE totales et d'IL-4 des enfants

Nous avons comparé les taux d'IgE totales et la concentration de l'IL-4 des enfants selon les génotypes de leurs mères afin de tester l'effet du génotype maternel sur l'environnement intra-utérin de l'enfant et donc sur l'expression de l'asthme chez lui. Les résultats sont présentés dans le Tableau.15. Ces derniers représentent une différence hautement significative entre les IgE des enfants selon les génotypes maternels avec un P-value de 0.009 et un P-value de 0.003 pour l'IL-4.

Tableau.15 : La comparaison entre le taux d'IgE totale et la concentration d'IL-4 sérique des enfants asthmatiques et les génotypes maternels

Caractères de l'enfant asthmatiques	Les génotypes maternels			P value
	CT	TT	CC	
Le taux des IgE totales (UI/ml) ↑	1189.53 ± 494.16	977.50 ± 273.47	743.29 ± 142.97	0.009**
La concentration d'IL-4 sérique (pmol/ml) ↑	1163.67 ± 482.46	954.32 ± 223.50	682.89 ± 122.95	0.003**
↑ ($\bar{x} \pm \sigma$) : moyenne ± écart-type ; (**) différence hautement significative P<0.01.				

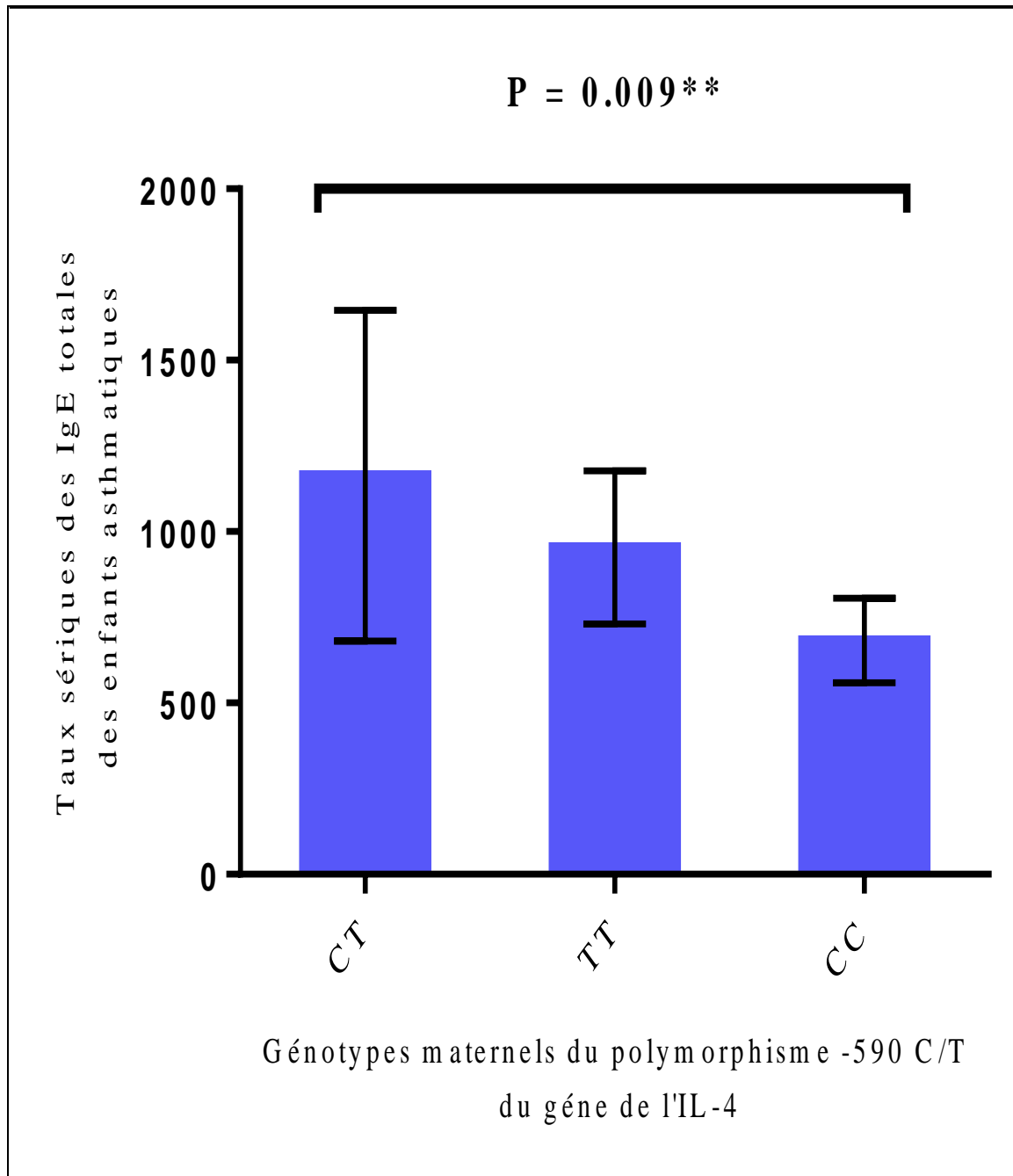


Figure.16 : La comparaison entre les taux d'IgE totale des enfants asthmatiques selon les génotypes maternels

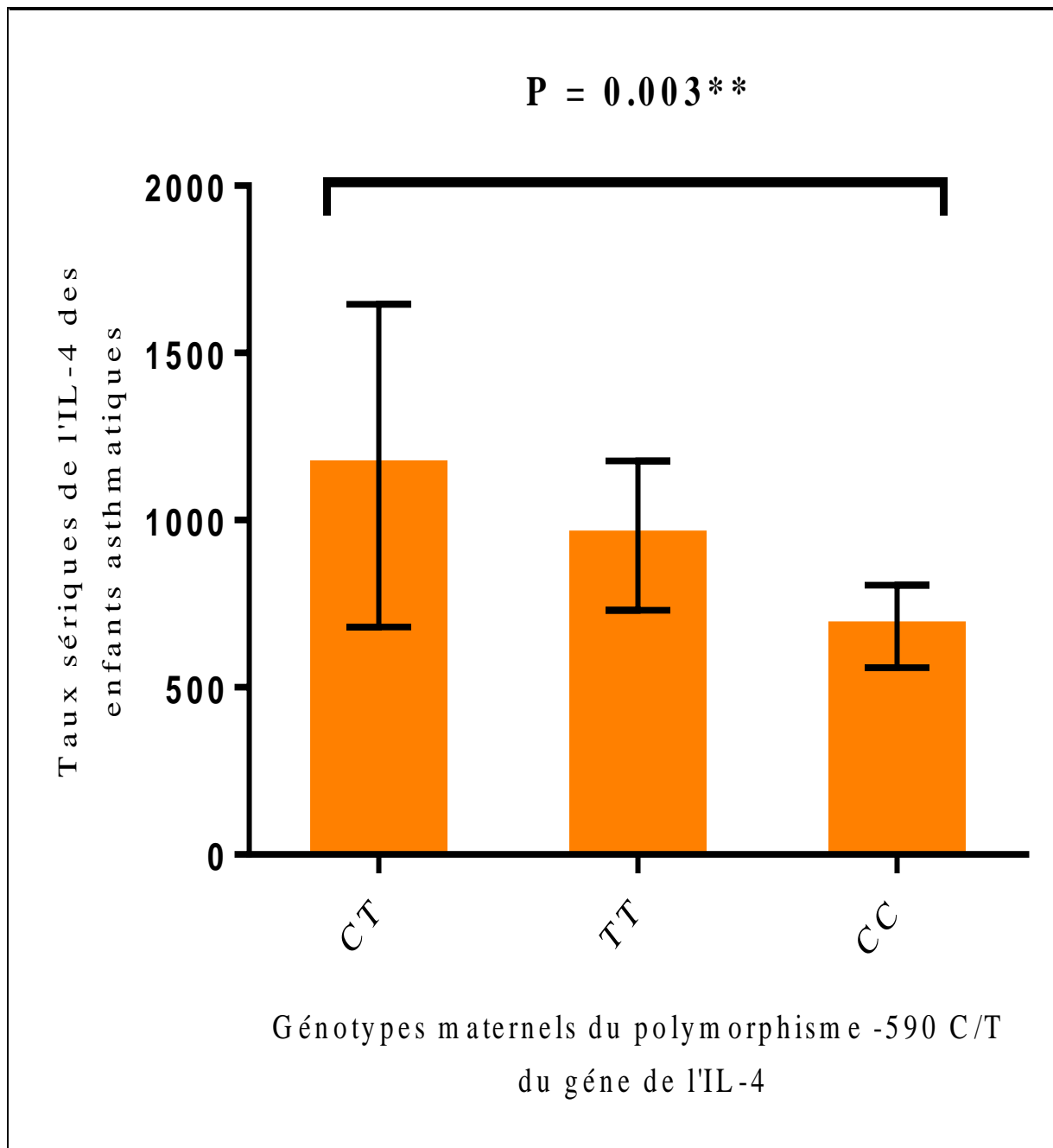


Figure.17 : La comparaison entre les taux sériques d'IL-4 des enfants asthmatiques selon les génotypes maternels

CHAPITRE IV
DISCUSSION

Discussion

L'asthme est un trait complexe qui est influencé par plusieurs gènes (polygénique) ainsi que par l'environnement [4]. En effet, le caractère familial de l'asthme a été mis en évidence par de nombreuses études familiales et de jumeaux. De plus, ces études ont suggéré l'existence d'un effet maternel pour la réponse spécifique aux allergènes [11].

À ce propos, nous avons étudié le polymorphisme -590 C/T du promoteur du gène de l'IL-4 et les taux sériques de l'IgE totales et d'IL-4 chez 50 familles constantinoises ayant au moins un enfant atteint d'asthme allergique.

Dans le premier volet de notre étude, nous avons exploité l'association entre l'histoire familiale de l'asthme, l'allergie et la susceptibilité à développer ces affections chez la descendance. En effet et conformément aux travaux réalisés par London et al. en 2001 [84] et par Paaso et al. en 2014 [85] sur le rôle de la prédisposition familiale à l'asthme, aux maladies allergiques qui suggèrent que l'histoire familiale de l'asthme et de l'allergie est un facteur de risque prédisposant au développement de l'asthme allergique chez la descendance. Partant de ce fait, nos résultats illustrés par la Figure. 6 montrent que 90% des enfants incriminés dans notre étude ont des antécédents familiaux de l'asthme et que 92% entre eux ont des parents allergiques.

Il est à noter que le risque de cette prédisposition familiale à la maladie augmente si la mère ou le père est atteint, à cet égard nos résultats montrent qu'il y a un risque de 1/5 soit 20% de développer l'asthme si le père est asthmatique (P-value <0.0001) contre un risque de 1/1.72 soit 58.13% si la maman l'est (P-value <0.0001) (Tableau.3) cela nous a conduit à bien dire que le risque d'avoir un asthme chez l'enfant est lié beaucoup plus à la présence de la maladie asthmatique chez la mère plus que le père. Nos constatations rejoignent celles de nombreuses études épidémiologiques suggérant que l'asthme maternel confère un risque plus élevé d'asthme à la progéniture que l'asthme paternel avec un (OR = 3.04 ; IC à 95% :2.59-3.56) chez les enfants de mères asthmatiques contre un (OR =2.44 ; IC à 95% :2.14-2.79) chez les enfants de pères asthmatiques [86]. De même pour l'allergie, nos données montrent que le risque d'être allergique est lié à la prédisposition familiale et que cette dernière est héritée préférentiellement de la mère avec un risque de 1/1.61 soit 62.11% si la maman est allergique (P-value <0.0001) contre un risque de 1/4.54 soit 22.02% si le père l'est (P-value <0.0001) comme le montre le Tableau.4.

Afin de confirmer ces résultats nous avons réalisé des tests biologiques qui sont le dosage des IgE totales et d'IL-4. Les résultats de la comparaison des taux des IgE totales des enfants avec ceux de leurs parents asthmatiques ont montré que le taux des IgE des enfants est significativement associé aux taux des IgE de leurs mères asthmatiques ($P = 0.4254$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0006$). De même pour l'IL-4, nous avons trouvé que le taux sérique de l'IL-4 des enfants est significativement associé aux taux d'IL-4 de leurs mères asthmatiques ($P = 0.7996$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0003$) (Tableau.5). Cette association a été mise à l'exploit par des études antérieures réalisées par Bonnelykke et al. en 2010 [87] et par Nabavi et al en 2013 [88] qui ont pu montrer qu'il y a une relation de cause à l'effet du taux élevé des IgE chez la maman sur l'environnement intra-utérin durant la grossesse et par conséquent le développement de l'asthme chez l'enfant après la naissance. Ces résultats confirment de plus que l'asthme est associé au statut asthmatique maternel que le statut asthmatique paternel.

Pour vue que l'asthme est une maladie héréditaire comme nous avons pu montrer auparavant, il est probable que la consanguinité va accroître le risque du développement de l'asthme. Certaines études ont prouvé que ce dernier est un facteur de risque pour le développement de l'asthme[89], OR, les résultats de notre étude montrent que 40% des enfants asthmatiques ont au moins un mariage consanguin dans les trois dernières générations de leurs ascendants avec un P-value = 0.157 (Figure.7) ce qui signifie que le mariage consanguin a un effet sur l'apparition de l'asthme chez la descendance. Nos constatations concorde avec celles de Bijanzadeh et al en 2010 [90].

En outre, il existe aussi des facteurs environnementaux qui interviennent dans l'étiologie de l'asthme. Ces derniers peuvent être des facteurs déclencheurs et/ou d'aggravation de l'asthme. De là, notre étude évalué l'effet de l'environnement intérieur sur l'apparition de l'asthme chez les sujets partageant le même habitat (Figure.9) ainsi que l'effet de l'environnement extérieurs.

À savoir, le type d'habitat pourrait jouer un rôle causal dans les maladies atopiques et les atteintes fonctionnelles respiratoires. Nos résultats révèlent que 50% des familles étudiées habitent dans des logements insalubres (constituées de plusieurs rangées de baraques construites en parpaing et coiffées de tôles proches des égouts auxquels s'ajoute l'humidité) contre 26% qui habitent dans des appartement bien entretenus et 24% dans des villas avec un P-value = 0.043 (Figure.8). Nos résultats rejoignent ceux menés par de James

Krieger et al. qui suggèrent que les mauvaises conditions de logement sont associées à un large éventail de problème de santé, y compris les infections respiratoires, l'asthme, l'empoisonnement au plomb, d'intoxications, d'allergies et les troubles mentaux [91].

De surcroît l'augmentation de la prévalence des maladies atopiques comme l'asthme allergique au cours de ces dernières années et selon des études [92] est probablement due en grande partie à la modification des facteurs de l'environnement. Partant de ce fait, plusieurs types de facteurs environnementaux ont été mis en cause dans notre étude parmi lesquels on cite: l'exposition au tabagisme passif, fumée de cheminée, les allergènes (comme les Dermatophagoïdes, Alternaria, blatte, pollens, les poils de chat et de chien). Pour ce dernier les résultats obtenus révèlent que l'asthme chez les enfants des trios étudié est associé de façon hautement significative à deux allergènes qui sont les Dermatophagoïdes (92%) avec un P-value 0.000 et à l'Alternaria (64%) avec un P-value = 0.048 comparativement aux autres allergènes (blatte (34%) avec un P-value = 0.024, pollens (34%) avec un P-value = 0.024, poils de chat (38%) avec un P-value = 0.05 et poils de chien (26%) avec un P-value 0.001). Dans ce contexte il est indispensable de noter que la signification pour les Dermatophagoïdes revient au matelas remplis de laine de mouton qui représente un véritable foyer pour les acariens présents dans leurs maisons et aux quelle ils ne peuvent s'en passer, car ces derniers représentent une des traditions ancestrales conservées à ce jour en Algérie [93]. Et aussi l'Alternaria cette hypersensibilité est due à la nature agricole de la ville Constantine qui dispose ainsi de plusieurs oueds ce qui favorise la reproduction de l'Alternaria tout en émettant des spores dans l'atmosphère qui se dispersent dans l'air. Une fois inhalées, ces spores déclenchent les symptômes allergiques et des crises d'asthme [94] (Tableau.6).

En outre, nous avons évalué le risque de l'exposition intra-utérine au tabagisme passif maternel sur le développement antérieur de l'asthme chez l'enfant. Nos résultats corroborent avec les travaux menés par Lee et al. en 2012 [95] qui indiquent que l'exposition intra-utérine au tabagisme passif maternel était associée de manière significative à la respiration sifflante (OR 2.05 ; IC à 95% : 1.58-2.67) ce qui est similaire à nos constatations dont nous avons trouvé que le risque d'avoir un enfant asthmatique est plus élevés si la maman a été exposée passivement à la fumée secondaire pendant la grossesse (RR = 2.57 ; IC à 95% 1.67-3.95) (Tableau.7) (Figure.10).

Dans un autre ordre nous allons entamer la partie génétique qui vise à étudier l'association du polymorphisme -590 C/T du promoteur du gène de l'IL-4 avec l'apparition de la triade atopiques (asthme, eczéma et rhinite allergique) chez les enfants et leurs parents tout en se basant l'histoire familiale que nous avons exploité dans la section précédente.

D'abord, nous avons commencé par l'étude de l'association du polymorphisme -590 C/T avec l'asthme chez les enfants et les parents. La distribution des fréquences génotypiques des enfants (100%) et leurs parents asthmatique(78%) est homogène, dont aucune différence significative n'a été observée (OR, 0.65 avec un P-value= 0.57 et OR, 0.53 avec un P-value= 0.44 et OR, 1.63 avec un P-value= 0.50) pour les différents génotypes du polymorphisme -590C/T soit : CT, TT, CC respectivement avec les fréquences suivantes: (CT (60%), TT (28%) et CC (12%)) pour les enfants asthmatiques et (CT (58.98%), TT (33.33%) et CC (7.69%)) pour leurs parents. De même, aucune différence significative n'a été observé pour la distribution des fréquences alléliques des enfants ((42%) pour l'allèle C et (58%) l'allèle T) et leurs parents ((37.18%) pour l'allèle C et (62.82%) pour l'allèle T) avec des (OR, 1.22 ; P-value= 0.51) et (OR, 0.81 ; P-value= 0.51) respectivement (Tableau.8). Par la suite nous avons comparé les fréquences génotypiques et allélique des enfants et leurs parents ayant étaient atteints de l'eczéma. Nos résultats étaient semblables au statut asthmatique dont la distribution des fréquences génotypes de ce SNP chez enfants (46%) (CT (52.18%), TT (30.43%), CC (17.39%)) et leurs parents (78%) qui ont étaient atteints (CT (35.89%), TT (28.22%), CC (35.89%) était presque similaire dont nos données n'ont révélé aucune différence significative (OR, 3 ; P-value=0.11 et OR, 2.22 ; P-value=0.28 et OR, 0.37 ; P-value= 0.12). Pareillement aux fréquences allélique des enfants (C (43.48%), T (56.52%)) et leurs parents (C (53.85%), T (46.15%)) avec des (OR, 0.65 ; P-value= 0.26 et OR, 1.51 ; P-value= 0.26 respectivement) (Tableau.9). Enfin pour la rhinite allergiques la distribution des fréquences génotypiques et alléliques était comme suit: CT (60%), TT (25%), CC (15%) et C (45%), T (55%) chez les enfants (40%) qui sont atteints de cette affection et CT (63.16%), TT (26.31%), CC (10.53%) et C (42.11%), T (57.89%) chez leurs parents (38%)atteints aussi avec des différences statistiquement non significatives (OR, 0.66 ; P-value= 0.68 et OR, 0.66 ; P-value= 0.71 et OR, 1.50 ; P-value= 0.67 pour les fréquences génotypiques et OR, 1.12 ; P-value= 0.79 et OR, 0.88 ; P-value= 0.79 pour les fréquences allèles respectivement (Tableau.10). Dans ce concept, il consiste à signaler qu'il existe une prédominance des génotypes CT et TT par rapport au génotype CC. Avec une abondance de l'allèle T chez la population atteinte comparativement à l'allèle C. Pour cette

section les p-valeurs obtenues sont $>0,05$ cela signifie statistiquement qu'il n'y aucune différence significative ce qui reflète le fait que l'apparition de la triade atopique (asthme, eczéma et rhinite allergique) chez les enfants est hérité des parents et pourrait être transmise par l'allèle T. Cela nous a conduits à dire que cet allèle est un facteur prédictif au développement des maladies atopique chez les familles constantinoises. Nos résultats rejoignent ceux des quatre travaux réalisés sur l'association du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 avec l'atopie décrite par Dahmani et al. en 2016 [10] et par Micheal et al. en 2013 [96], en 2008 par Li et al.[97] et par hosseini-Farahabadi et al. en 2007 [98] qui ont pu démontrer que ce polymorphisme est associé à l'asthme allergique ainsi qu'aux autres maladies atopiques telles que l'eczéma et la rhinite allergique.

Par la suite, nous avons étudié le statut parental de l'asthme afin de déterminé l'allèle associé à la maladie d'asthme allergique et son origine soit maternelle ou paternelle. Pour cela nous avons comparé les fréquences génotypiques et alléliques des enfants avec ceux de leurs parents séparément. Les résultats ont montré une différence significative entre la distribution génotypique et alléliques des enfants et de leurs pères pour le génotype CT (OR, 3.84 ; IC à 95% :1.34-11.02 ; P = 0.01) avec une fréquence de (52%) chez les pères contre (60%) chez leurs enfants et aussi pour le génotype TT (OR, 11.66 ; IC à 95% :2.77-49.13 ; P = 0.008) avec une fréquence de (8%) chez les pères contre (28%) chez les enfants. La signification a été observé aussi pour le génotype CC (OR, 0.20 ; IC à 95% : 0.07-0.56 ; P = 0.002) avec une fréquence de (40%) chez les pères et (12%) chez les enfants. Pour la comparaison des génotypes des mères avec celui de leurs enfants, les données révèlent que la distribution génotypique et allélique est similaire entre les mères et les enfants dont les résultats étaient comme suit : pour le génotype CT, les fréquences étaient de 54% et de 60% chez les mères et leurs enfants respectivement avec un (OR, 2.03 ; IC à 95% :0.66-6.25 ; P = 0.21) et pour le TT (OR, 2.13 ; IC à 95% :0.60-7.52 ; P = 0.23) dont les fréquence étaient de (24%) chez les mères et de (28%) chez les enfants. Pour le CC (OR, 0.48 ; IC à 95% : 0.16-1.42 ; P = 0.18) avec une fréquence de (22%) chez les mères et de (12%) chez les enfants. Il est à noter qu'il y a une dominance de l'allèle T chez les mères (51%) que chez les pères (34%) et que la distribution de cette allèle est homogène entre les mères et les enfants (OR, 1.32 ; IC à 95% :0.75-2.31 ; P = 0.32) avec une fréquence de (51%) et de (58%) chez les mères et leurs enfants respectivement et non-homogènes entre les pères et les enfants (OR, 2.68 ; IC à 95% : 1.51-4.75 ; P = 0.0008) avec une fréquence de (34%) et de (58%) chez les pères et les enfants respectivement (Tableau.11). Ceci signifie que l'allèle muté T est associé

à l'asthme allergique et qu'il est hérité préférentiellement de la mère que du père. Ces résultats rejoignent ceux de Rosenwasser et al. en 1995 [70] et de Miyake en 2013 [99].

Afin de confirmer nos constatations nous avons utilisé le TDT général qui a montré la sur-transmission de l'allèle T en particulier, des parents à leurs enfants affectés. Les résultats sont présentés dans le Tableau.12 dont nous remarquons l'existence d'une différence très hautement significative ($P= 2E-05$) en faveur de l'allèle T, dont 58 allèles T ont été transmis des parents aux enfants asthmatiques contre 27 non transmis. Pour ce qui est de l'allèle C nos résultats montrent 42 allèles C ont été transmis à la descendance atteinte contre 73 allèles non transmis [$X^2 = 18.13$ à un ddl = 1]. Les résultats de ce test génétique confirment de plus la présence d'une association entre l'allèle T du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 et l'apparition de l'asthme allergique.

Afin de confirmer l'origine de cet allèle nous avons réalisé le Test de déséquilibre de transmission (TDT) pour les pères vs. enfants et pour mères vs. enfants séparément. Le Tableau.13 montrent que l'allèle C du SNP -590C/T est transmis 16 fois sur 49 de la mère à son enfant et que l'allèle T à son tour est transmis 34 fois sur 51. Ces résultats montrent que l'allèle T est transmis aux enfants atteints d'asthme allergique dans 68% des cas [$X^2 = 10.70$, ddl = 1]. Quant aux pères nous remarquons que l'allèle C est transmis 26 fois sur 66 à leurs enfants et que l'allèle T est transmis 24 fois sur 34. Pour cela nos données montrent que les allèles T et C sont transmis des pères aux enfants asthmatiques d'une façon presque similaire [$X^2= 7.53$, ddl=1]. Cependant, nous remarquons que la valeur des C non-transmis est 4 fois plus que les T non-transmis avec un $X^2>3.84$, ceci justifie la signification de nos résultats qui suggèrent que l'allèle C est plus transmis des pères (26 C) aux enfants que des mères (16 C). En revanche les résultats du TDT des mères révèlent que le X^2 de la mère > 3.84 . À cet effet là nous pouvons dire qu'il n'y a aucune transmission préférentielle de l'allèle T des pères aux enfants et que l'allèle muté T est transmis préférentiellement de la mère [3].

Relativement au sexe, nos résultats rejoignent ceux des autres études qui ont pu montrer que le sexe féminin est plus susceptible à développer l'asthme que le sexe masculin avec une probabilité de 10% [100]. Selon certains auteurs, il existe une influence potentielle des hormones sexuelles féminines sur la fonction immunitaire [101], [102]. À ce propos et en vue d'évaluer la relation génotype-sexe. Nos données révèlent qu'il y a 66% des enfants asthmatiques de sexe féminin distribués comme suit 50% CC, 70% CT et 64.28 % TT pour

les fréquences génotypiques et 64.29% C, 67.24T pour les fréquences alléliques contre 34% de sexe masculin dont les fréquences génotypiques sont: (50% CC, 30% CT et 35.71% TT) et les fréquences alléliques sont: 35.71% pour l'allèle C et 32.76% pour l'allèle T (Figure.11). Ceci nous a conduit à dire que l'allèle muté T est plus transmissible aux filles qu'aux garçons. Cela pourrait être aussi une source d'affirmation que l'allèle muté T est d'origine maternelle.

Par ailleurs, nous avons comparé les taux d'IgE totales et d'IL-4 sériques des enfants et de leurs parents selon les génotypes du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 sous prétexte de connaître si les taux des IgE et d'IL-4 chez l'enfant sont associés à l'allèle muté T. Nos résultats montrent une différence hautement significative entre les IgE, l'IL-4 des enfants et de leurs pères pour le génotype CT dont la concentration des IgE étaient de (852.22 ± 206.53) et (196.16 ± 260.32) UI/ml avec un P-value <0.0001 et pour l'IL-4 étaient de (807.62 ± 152.71) et (201.69 ± 266.91) pmol/ml avec un P-value <0.0001 chez les enfants et leurs pères respectivement. Ainsi que pour le génotype TT dont les valeurs étaient comme suit : (1552.72 ± 281.87) et (544.62 ± 491.16) UI/ml avec un P-value = 0.0001 pour les IgE et (1510.95 ± 323.25) et (517.82 ± 569.25) pmol/ml avec un P-value = 0.0003 pour l'IL4 chez les enfants et leurs pères respectivement. Pour le génotype CC les valeurs étaient comme suit : (786.46 ± 565.95) chez les enfants et (43.46 ± 73.15) UI/ml chez les pères avec un P-value <0.0001 pour les IgE et (833.48 ± 572.86) chez les enfants et (43.66 ± 96.36) pmol/ml les pères avec un P-value <0.0001 pour l'IL4 (Figure.12) (Figure.14). La même signification statistique a été remarquée pour les mères vs enfants pour le génotype CT dont la concentration des IgE étaient de (852.22 ± 206.53) et (514.21 ± 390.25) UI/ml avec un P-value = 0.0001 et pour l'IL-4 étaient de (807.62 ± 152.71) et (580.87 ± 471.73) pmol/ml avec un P-value = 0.0157 chez les enfants et leurs mères respectivement. Ainsi que pour le génotype CC dont les valeurs étaient comme suit : (786.46 ± 565.95) et (107.90 ± 166.91) UI/ml avec un P-value = 0.0018 pour les IgE et (833.48 ± 572.86) et (135.45 ± 222.76) pmol/ml avec un P-value = 0.0024 pour l'IL4 chez les enfants et leurs mères respectivement. Alors que pour le génotype TT nous avons remarqué qu'il y a une association entre les IgE, l'IL-4 des enfants et des mamans (P = 0.9863 pour les IgE et P = 0.2496 pour l'IL-4) dont les concentrations des IgE sont très élevées et il sont comme suit pour les enfants et de leurs mères respectivement (1552.72 ± 281.87) et (1554.45 ± 215.10) UI/ml et pour l'IL-4 étaient (1510.95 ± 323.25) et (1654.05 ± 289.64) pmol/ml (Figure.13) (Figure.15) (Tableau.14). Par conséquent nous avons pu montrer que le génotype CT, malgré la signification, et le

génotype TT du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 induit l'augmentation des taux des IgE sériques totales et de l'IL-4 chez les enfants et leurs mères dont les valeurs étaient supérieures à 500 UI/ml pour les IgE et >500 pmol/ml pour l'IL-4. Cette association entre les IgE, l'IL-4 des enfants et des mamans avec les génotypes CT et TT révèle que c'est l'expression de l'allèle muté T chez les enfants hérité de leurs mères, situé en amont des cinq sites de liaison (appelé P0 à P4 respectivement) du facteur nucléaire des lymphocytes T activé (NFAT) du promoteur de l'IL-4 et plus précisément à l'intérieur d'une séquence palindromique allant de -603 à -588, qui entraîne la sélection positive de ce gène codant. Comme il a été déjà expliqué précédemment l'apparition du polymorphisme -590C/T au niveau du promoteur provoque une modification de l'expression du gène codant pour l'IL-4 en améliorant l'accessibilité du dimère du facteur de transcription NFAT-1 au promoteur visant à augmenter la production d'IL-4. Cette cytokine induit la différenciation des lymphocytes T auxiliaires naïfs (lymphocytes Th0) en lymphocytes Th2. Après l'activation des lymphocytes Th2, elles se mettent elles-mêmes à le produire l'IL-4 ce qu'on appelle le plus souvent une boucle de rétroaction positive. IL-4 avec l'environnement cytokinique produit par les lymphocytes T CD4+ induit la commutation isotypique des lymphocytes B vers les IgE [103].

À la fin, nous allons nous approfondir dans notre étude dans le but d'évaluer l'effet du génotype maternel sur l'environnement intra-utérin de l'enfant et donc sur la susceptibilité de développer l'asthme chez l'enfant à cause d'un génotype maternel particulier. La comparaison des IgE (Figure.16) et d'IL-4 (Figure.17) des enfants selon les génotypes de leurs mères révèlent une variation importante entre ces concentrations ($P = 0.009$ pour les IgE et $P = 0.003$ pour l'IL-4) et une association significative du taux élevé d'IgE et d'IL-4 des enfants avec le génotype CT des mères dont les concentrations étaient de (1189.53 ± 494.16) UI/ml pour les IgE et de (1163.67 ± 482.46) pmol/ml pour l'IL-4 et avec le génotype maternel TT dont les valeurs étaient de (977.50 ± 273.47) UI/ml pour les IgE et de (954.32 ± 223.50) pmol/ml pour l'IL-4 (Tableau.15). Nos résultats concordent avec ceux de Child et al. en 2003 [104] qui suggèrent qu'il y a une relation de cause à effet : du génotype maternel sur l'environnement intra-utérin aboutissant à l'expression de l'atopie chez l'enfant. Et avec une autre étude réalisée dans ce concept par Zhang et al en 2014 [105] qui a pu montrer que le génotype maternel a une influence sur la régulation du taux des IgE des enfants à la hausse. Ainsi qu'aux travaux de Nabavi et al. menés en 2013[88] et de Bonnelykke et al. en 2010 [87] et de Nazari et al. en 2018 [106] qui indique que la présence des IgE spécifique

d'un allergène dans le sang maternel favorise son passage au fœtus par le cordon ombilical (transfert maternofoetal) ce qui pourrait être un facteur prédictif de troubles allergiques chez l'enfant dans sa vie future. En s'appuyant sur toute ces constatations et avec les résultats que nous avons pu abstenir à partir des données récoltés nous pouvons dire que la substitution de C par T en position -590 induit l'apparition du polymorphisme -590 chez la mère ce qui provoque la surexpression de l'IL-4 et par conséquent l'augmentation du taux des IgE chez la maman. Ces dernières se transfèrent par le biais du cordon ombilical aux fœtus dans le milieu intra-utérin ce qui va induire l'expression de l'atopie et de l'asthme allergique chez l'enfant ultérieurement durant sa vie. Ceci pourrait expliquer la présence des taux élevé des IgE et d'Il-4 chez les enfants dont leurs mères ayant les génotypes CT et TT. Nos constatations restent à être démontrées sur un échantillon plus important.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le premier volet de notre étude familiale, nous avons pu montrer l'association entre l'histoire familiale de l'asthme, l'allergie et la susceptibilité à développer l'asthme allergique. Cela nous a conduits à confirmer que l'histoire familiale est un facteur de prédisposition au développement de l'asthme et que ce risque augmente si l'un des parents est atteint.

Ces constatations ont été confirmés par des tests biologiques et cela par l'exploitation des facteurs environnementaux auxquels ils étaient exposés de la vie intra-utérine jusqu'au jour où l'étude a été menée. Parmi les facteurs environnementaux étudiés nous avons le type d'habitat, l'exposition intra-utérine au tabagisme passif maternel ainsi que la sensibilisation aux Dermatophagoïdes et à l'*Alternaria*. Nos résultats suggèrent que ces derniers pourront être des facteurs de risque pour la survenue de l'asthme allergique.

Dans le deuxième volet de notre étude, nous avons mis l'accent sur l'association de l'allèle muté T du polymorphisme -590 C/T du promoteur du gène de l'IL-4 à la triade atopique (asthma allergique, eczéma, rhinite allergique), dont nous avons exploité le statut parental de l'asthme et nous avons démontré que l'allèle T est associé à la maladie et qu'il est hérité préférentiellement de la maman. Ces constatations ont été confirmées par un test génétique spécifique le TDT général et le TDT pour chacun des parents séparément. Ce qui a montré de preuve la sur-transmission de l'allèle muté T des mères aux enfants.

Concernant le sexe, nous avons pu montrer que les femmes sont plus susceptibles a développé de l'asthme que les hommes et cela revient aux hormones sexuelles féminines et que l'allèle T est plus transmissible au sexe féminin que masculin ce qui pourrait être une source d'affirmation que l'allèle T est d'origine maternelle.

Par ailleurs, nous avons pu montrer que l'allèle T est associé aux taux élevé des IgE et d'IL-4 chez les enfants et les mères. Dans ce contexte nous avons pu trouver le taux élevé des IgE totales de la maman peut avoir un effet sur le fœtus pendant la grossesse (l'environnement intra-utérin) et par conséquent l'expression de l'asthme allergique chez l'enfant ultérieurement et particulièrement chez les mères ayant les génotypes CT, TT. De plus, nous avons trouvé que le risque de la survenue de l'asthme s'accroît par le mariage consanguin. De cet fait il est a souligné que si notre travail sera réalisé sur un large spectre

dans le futur, cela va améliorer non seulement notre connaissance des mécanismes moléculaires responsables de la régulation précoce des IgE chez les individus normaux et atopiques, mais nous aideront également à développer de nouvelles stratégies de prévention précoce des enfants à risque élevé de développer des maladies atopiques comme l'asthme allergique.

Ce travail pourrait être utile dans l'avancement des travaux sur la génétique de l'asthme et ouvrir la voie à une meilleure caractérisation de son histoire naturelle. Même si beaucoup de travaux sont encore nécessaires en ce sens afin de comprendre les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent la maladie, l'objectif ultime visé est toujours de préciser sa définition et d'améliorer les conditions de vie des individus asthmatiques. La découverte d'autres gènes de susceptibilité à l'asthme permettra certainement une meilleure prévention, un meilleur diagnostic et un meilleur traitement, lesquels seront éventuellement axés sur les prédispositions génétiques de chacun à développer de l'asthme.

Notre étude pourra avoir plusieurs intérêts. D'une part, elle permettra de mieux comprendre l'étiologie de l'asthme incluant les facteurs génétiques et environnementaux, d'autre part, en déchiffrant quelle protéine est liée à ce gène, de nouvelles voies thérapeutiques pourront être mises à jour, incluant la thérapie génique.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] B. Pigearias, “L’asthme dans ses mots, ... d’Homère au GINA,” *Rev. Mal. Respir.*, vol. 31, no. 1, pp. 8–12, 2014.
- [2] G. A. Network, *The Global Asthma Report Asthma affects*. 2018.
- [3] D.I. Dahmani, “Le profil génétique de l’asthme atopique,” pp. 1–255, 2017.
- [4] A. M. Madore, C. Laprise, “Immunological and genetic aspects of asthma and allergy,” *J. Asthma Allergy*, vol. 3, pp. 107–121, 2010.
- [5] I. A. Hussein, S.H. Jaber, “Genotyping of IL-4 –590 (C>T) Gene in Iraqi Asthma Patients,” *Dis. Markers*, vol. 2017, no. 5806236, pp. 1–5, 2017.
- [6] J. Quirt, k J. Hildebrand, J. Mazza, F. Noya, and H. Kim, “Asthma,” *Med. Radiol.*, vol. 14, no. 50, pp. 223–253, 2018.
- [7] A. L. Moncayo *et al.*, “Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador,” *Thorax*, vol. 65, no. 5, pp. 409–416, 2010.
- [8] N. V. Kukhtinova, E. G. Kondyurina, and M. J. Lentze, “Problems of Pediatrics Atopic and Nonatopic Asthma in Children : Two Di erent Diseases ?,” *Int. J. Biomed.*, vol. 2, no. 3, pp. 214–221, 2012.
- [9] J. Bousquet, P. Demoly, A. M. Vignola, P. Godard, and F. B. Michel, “Comprendre la maladie asthmatique,” *m/s*, vol. 15, no. 6–7, pp. 823–832, 1999.
- [10] D. I. Dahmani *et al.*, “The C-589t IL-4 single nucleotide polymorphism as a genetic factor for atopic asthma, eczema and allergic rhinitis in an eastern algerian population,” *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 37, no. 1, pp. 213–223, 2016.
- [11] E. Bouzigon, F. Demenais, and F. Kauffmann, “génétique de l’asthme et de l’atopie: combien de gènes identifiés.,” *Académie Natl. médecine*, vol. 189, pp. 1435–1448, 2005.
- [12] A. Magnan and D. Vervloet, “[Natural history of atopy],” *Rev. Mal. Respir.*, vol. 17, pp. 235–244, 2000.
- [13] P. Toure, C. Bruneton, and M. Chosseler, “L’asthme : une épidémie silencieuse,” *RESEAU Medicam. Dev.*, no. 35, pp. 1–20, 2007.

- [14] M. El Yamani, "Asthme , allergies et maladies respiratoires," *Afsset*, pp. 1–6, 2006.
- [15] S. E. Wenzel, "Asthma phenotypes : the evolution from clinical to molecular approaches," *Nat. Med.*, vol. 18, no. 5, pp. 716–725, 2012.
- [16] L. Pembrey *et al.*, "Understanding asthma phenotypes : the World Asthma Phenotypes (WASP) international collaboration," *ERJ Open Res*, vol. 4, pp. 1–11, 2018.
- [17] GINA, "Global Strategy for Asthma Management and Prevention," pp. 1–160, 2018.
- [18] S. Nafti *et al.*, "Prevalence of asthma in North Africa: the Asthma Insights and Reality in the Maghreb (AIRMAG) study," *Respir. Med.*, vol. 103, no. SUPPL. 2, pp. S2–S11, 2009.
- [19] W. Lenney, "The burden of pediatric asthma," *Front. Pediatr.*, vol. 6, no. 186, pp. 1–7, 2018.
- [20] Global Initiative for Asthma, "Global strategy for asthma management and prevention," *Glob. Strateg. Asthma Manag. Prevotion*, pp. 1–132, 2018.
- [21] TAHINA, "Transition épidémiologique et système de santé.," *Inst. Natl. Santé Publique*, 2007.
- [22] M. Sanchez, "Évolution De L'Asthme Au Long Cours : Aspects Méthodologiques Et Lien Avec La Pollution Atmosphérique," pp. 1–155, 2015.
- [23] P. Subbarao, J. Piush, and R. Malcolm, "Asthma : epidemiology , etiology and risk factors," *CMAJ*, vol. 181, no. 9, 2009.
- [24] C. Raherison, A. Taytard, and I. Annesi-Maesano, "tabagisme, asthme et phénotypes associés. Approche épidémiologique," *Rev Mal Respir*, vol. 20, pp. 233–247, 2003.
- [25] E. Bosdure and J. C. Dubus, "Les effets du tabac chez l'enfant," *Rev. Mal. Respir.*, vol. 23, no. 6, pp. 694–704, 2008.
- [26] C. Rahérison, "Retentissement du tabagisme actif chez les asthmatiques adultes et adolescents - Impact of active smoking in asthmatic adults and adolescents," vol. VII, no. 6, pp. 157–160, 2004.
- [27] M. Brauer *et al.*, "Air pollution and development of asthma, allergy and infections in a birth cohort," vol. 29, no. 5, pp. 879–888, 2007.
- [28] D. K. Singh, S. Kumar, and G. V. Singh, "Study on impact of air pollution on asthma

- among school going children residing in urban Agra,” pp. 65–69, 2018.
- [29] J. I. Darveaux and R. F. Lemanske, “Infection Related Asthma,” *J Allergy Clin Immunol Pr.*, vol. 2, no. 6, pp. 658–663, 2014.
- [30] M. Iikura *et al.*, “The importance of bacterial and viral infections associated with adult asthma exacerbations in clinical practice,” *PLoS One*, vol. 10, no. 4, pp. 1–10, 2015.
- [31] M. Eijkemans, M. Mommers, J. M. T. Draaisma, C. Thijs, and M. H. Prins, “Physical Activity and Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *PLoS One*, vol. 7, no. 12, pp. 15–48, 2012.
- [32] C. Dupont and J. Waguët, “Reflux gastro-œsophagien et manifestations respiratoires de l’enfant.,” *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, vol. 45, pp. 127 – 133, 2005.
- [33] C. Sanfiorenzo and A. Pipet, “Facteurs déclenchants : médicaments,” *Rev. Mal. Respir.*, vol. 28, no. 8, pp. 1059–1070, 2011.
- [34] T. V. Rajan, “The Gell – Coombs classification of hypersensitivity reactions : a re-interpretation,” *TRENDS Immunol.*, vol. 24, no. 7, pp. 376–379, 2003.
- [35] A. Elshemy and M. Abobakr, “Allergic Reaction: Symptoms, Diagnosis, Treatment and Management.,” *J. Sci. Innov. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 123–144, 2013.
- [36] F. Rance, M. Abbal, and A. Didier, “Allergies et hypersensibilités chez l ’ enfant et chez l ’ adulte : aspects épidémiologiques , diagnostiques et principes de traitement,” *Allergol Immunol Clin*, vol. 42, pp. 378–401, 2002.
- [37] A. Salzard, “LES ALLERGIES RESPIRATOIRES A TRAVERS LA PRESSE ECRITE, ENQUETE AUPRES DE LECTEURS,” pp. 1–193, 2009.
- [38] Mission associations recherche & société, “Maladies allergiques et inflammatoires pulmonaires,” pp. 1–15, 2018.
- [39] D. Marc and K. Olsen, “Hypersensitivity Reactions and Methods of Detection,” *NeuroScience.*, pp. 1–4, 2009.
- [40] S. Basu and B. K. Banik, “Hypersensitivity : An Overview,” *Immunol. Curr. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–2, 2018.
- [41] W. Picher, J. Adam, B. Daubner, T. Gentinetta, M. Keller, and D. Yerly, “Drug Hypersensitivity Reactions: Pathomechanism and Clinical Symptoms,” *Res. Gate*,

- vol. 94, pp. 645–64, 2010.
- [42] S. Létuvé and C. Taillé, “Physiopathologie de la réponse inflammatoire dans l’asthme de l’adulte,” *EMC - Pneumol.*, vol. 10, no. 2, pp. 1–8, 2013.
- [43] C. Céline, “Prise en charge odontologique de l’enfant asthmatique,” pp. 1–114, 2006.
- [44] S. T. Holgate, “Pathogenesis of Asthma,” *Allergy Allerg. Dis. Second Ed.*, vol. 2, pp. 1608–1631, 2008.
- [45] A. Ozier, “Étude Physiopathologique De L’Inflammation Et Du Remodelage Bronchique Dans L’Asthme,” pp. 1–226, 2011.
- [46] L. Benayoun and M. Pretolani, “Le remodelage bronchique dans l’asthme : mécanismes et enjeux thérapeutiques.,” *MEDECINE/SCIENCES*, vol. 19, pp. 319–26, 2003.
- [47] M. Brutsche and U. Frey, “Asthme Pathogénèse et Diagnostic,” *Med Suisse*, pp. 455–463, 2002.
- [48] S. F. Thomsen, “Genetics of asthma: an introduction for the clinician,” vol. 1, pp. 1–5, 2015.
- [49] C. Ober and T. Yao, “The Genetic of Asthma and Allergic Disease: a 21 century Perspective,” *Immunol Rev.*, vol. 242, no. 1, pp. 10–30, 2011.
- [50] P. Demoly, D. Juffuel, J. Bousquet, P. Godard, and F. Michel, “Épidémiologie et génétique de l’asthme: II. aspects génétiques de l’épidémiologie de l’asthme et de l’atopie,” *Rev. Mal. Resp.*, vol. 13, pp. 547–553, 1996.
- [51] K. Attab, “Étude d’association entre des polymorphismes des gènes des cytokines et l’asthme dans une population de l’ouest algérien (région d’Oran) .,” pp. 1–177, 2018.
- [52] N. Risch and K. Merikangas, “The future of genetic studies of complex human diseases,” *Science (80-.)*, vol. 273, pp. 1516–1517, 1996.
- [53] L. J. Palmer and W. O. C. M. Cookson, “Using single nucleotide polymorphisms as a means to understanding the pathophysiology of asthma,” *Respir. Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 102–112, 2001.
- [54] A. Puliti, G. Caridi, R. Ravazzolo, and G. M. Ghiggeri, “Teaching molecular genetics: Chapter 4 - Positional cloning of genetic disorders,” *Pediatr. Nephrol.*, vol. 22, no. 12, pp. 2023–2029, 2007.

- [55] M. I. McCarthy, D. Smedley, and W. Hide, “New methods for finding disease-susceptibility genes: Impact and potential,” *Genome Biol.*, vol. 4, no. 10, 2003.
- [56] I. Gray, D. Campbell, and N. Spurr, “Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics,” *Hum Mol Genet*, vol. 9, pp. 2403–2408, 2000.
- [57] S. Hoffjans, D. Nicolaed, and C. Ober, “Association studies for asthma and atopic diseases: a comprehensive review of the literature,” *Respir.Res*, vol. 4, 2003.
- [58] M. . Blumenthal, “The role of genetics in the development of asthma and atopy.,” *Curr. opin.Allergy clin. Immunol*, vol. 5, pp. 141–145, 2005.
- [59] M. Willis-Karp and S. Ewart, “Time to draw breath: asthma-susceptibility genes are identified,” *NAT.Rev.Genet*, vol. 5, pp. 376–387, 2004.
- [60] M. Oda and S. Ono, “Genomics and proteomics of allergic disease,” *Immunology*, vol. 106, pp. 1–10, 2002.
- [61] D. Vercelli, “Learning from discrepancies: CD14 polymorphisms, atopy and the endotoxin switch,” *Clin. Exp. Allergy*, vol. 33, no. 153–155, 2003.
- [62] P. Gao, H. Kawada, T. Kasamatsu, X. Mao, M. Roberts *et al.*, “Variants of NOS1, NOS2, NOS3 genes in asthmatics,” *Biochem. Biophys.Res.Commun*, vol. 267, pp. 761–763, 2000.
- [63] W. Eder, W. Klimecki, L. Yu, E. Vonmutius, and J. Riedler *et al.*, “Toll-Like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers,” *Allergy Clin.Immunol*, vol. 113, pp. 482–488, 2004.
- [64] H. Lyon, C. Lange, S. Lake, E. Silverman *et al.*, “IL-10 gene polymorphisms are associated with asthma phenotypes in children,” *Genet. Epidemiol*, vol. 26, pp. 155–165, 2004.
- [65] J. H. Zhang, M. Zhang, Y.-N. Wang, and X.-Y. Zhang, “Correlation between IL-4 and IL-13 gene polymorphisms and asthma in Uygur children in Xinjiang,” *Exp. Ther. Med.*, vol. 17, pp. 1374–1382, 2018.
- [66] T. Maes, G. F. Joos, and G. G. Brusselle, “Targeting interleukin-4 in asthma: Lost in translation?,” *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 47, no. 3, pp. 261–270, 2012.
- [67] A. J. Walley and W. O. Cookson, “Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy.,” *J. Med. Genet.*, vol. 33, no.

- 8, pp. 689–692, 2008.
- [68] W. Li-Weber and P. Krammer, “Regulation of IL4 gene expression by T cells and therapeutic perspectives.,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 3, pp. 534–543, 2003.
- [69] R. De Guia and J. Ramos, “The -590C/TIL4 single-nucleotide polymorphism as a genetic factor of atopic allergy.,” *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.*, vol. 1, pp. 67–73, 2010.
- [70] L. Rosenwasser, D. Klemm, J. Dresback *et al.*, “Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy.,” *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 25 Suppl 2, p. 74–78; discussion 95–96., 1995.
- [71] T. Kawashima, E. Noguchi, T. Arinami *et al.*, “Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families.,” *J. Med. Genet.*, vol. 35, pp. 502–504, 1998.
- [72] E. Noguchi, M. Shibasaki, T. Arinami *et al.*, “Association of asthma and the interleukin4 promoter gene in Japanese.,” *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 28, pp. 449–453, 1998.
- [73] M. Dizier, A. Sandford, A. Walley, A. Philippi, W. Cookson, and F. Demenais, “Indication of linkage of serum IgE levels to the interleukin-4 gene and exclusion of the contribution of the (-590 C to T) interleukin-4 promoter polymorphism to IgE variation.,” *Genet. Epidemiol.*, vol. 16, pp. 84–94, 1999.
- [74] A. Walley and W. Cookson, “Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy.,” *J. Med. Genet.*, vol. 33, pp. 689–692, 1996.
- [75] M. Miller, J. Hankinson, V. Brusasco, F. Burgos *et al.*, “Standardisation of spirometry,” vol. 26, pp. 320–336, 2005.
- [76] N. Hizawa, E. Yamaguchi, K. Furuya *et al.*, “Association between high serum total IgE levels and D11S97 on chromosome 11q13 in Japanese subjects,” *J. Med. Genet.*, vol. 32, pp. 363–369, 1995.
- [77] J. Bousquet, N. Khaltaev, A. Cruz *et al.*, “Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen),” *Allergy*, vol. 63 Suppl 8, pp. 8–160, 2008.

- [78] M. Hilete-work, "Evaluation of Hanifin and Rajka atopic eczema diagnostic guidelines for reduced minor criteria," *Ethiop. Med. J.*, vol. 47, pp. 39–47, 2009.
- [79] M. Böhme, A. Svensson, I. Kull, S. Nordvall, and C. Wahlgren, "Clinical features of atopic dermatitis at two years of age: a prospective, population-based case-control study.," *Acta Derm. Venereol.*, vol. 81, pp. 193–197, 2001.
- [80] A. Taïeb and F. Boralevi, "Atopic Eczema in Infants. In: Ring PDDJ,, In: Przybilla PDB,, In: Ruzicka PDT, eds.," *Handb. Atopic Eczema. Springer Berlin Heidelb.*, pp. 45–60, 2006.
- [81] S. Miller, D. Dykes, and H. Polesky, "A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 16, pp. 12–15, 1988.
- [82] R. Spielman, R. McGinnis, and W. Ewens, "Transmission test for linkage disequilibrium: the inslin gene region and inslin- dependent diabetes mellitus (IDDM)," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 3, pp. 506–16, 1993.
- [83] S. Siegel, "Nonparametric statistics for the behavioral," p. 102, 1956.
- [84] S. J. London, W. J. Gauderman, E. Avol, E. B. Rappaport, and J. M. Peters, "Family history and risk of early onset persistent, early onset transient and late onset asthma," vol. 12, no. 5, pp. 577–583, 2001.
- [85] E. Paaso, M. Jaakkola, A. Rantala, T. Hugg, and J. Jaakkola, "Allergic diseases and asthma in the family predict the persistence and onset-age of asthma: A prospective cohort study," *Respir. Res.*, vol. 15, no. 152, pp. 1–9, 2014.
- [86] R. H. Lim, L. Kobzik, and M. Dahl, "Risk for asthma in offspring of asthmatic mothers versus fathers: A meta-analysis," *PLoS One*, vol. 5, no. 4, 2010.
- [87] K. Bønnelykke, C. B. Phipper, and H. Bisgaard, "Transfer of maternal IgE can be a common cause of increased IgE levels in cord blood," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 126, no. 3, pp. 657–663, 2010.
- [88] M. Nabavi, R. Ghorbani, A. Massod Asadi, and M. Faranoush, "Factors associated with cord blood IgE levels," *Asian Pacific J. Allergy Immunol.*, vol. 31, no. 2, pp. 157–162, 2013.
- [89] M. Schwartz, "Heredity in bronchial asthma; a clinical and genetic study of 191 asthma probands and 50 probands with Baker's asthma.," *Acta Allergol. Suppl.*, vol.

- 2, pp. 1–288, 1952.
- [90] B. Mahdi, P. A. Mahesh, R. Savitha Mysore, P. Kumar, B. S. Jayaraj, and N. B. Ramachandra, “Inheritance patterns, consanguinity & risk for asthma,” *Indian J. Med. Res.*, vol. 132, no. 7, pp. 48–55, 2010.
- [91] J. Krieger and D. Higgins, “Housing and Health: Time Again for Public Health Action.,” *Am. J. Public Health*, vol. 92, pp. 758–768, 2002.
- [92] D. B. Peden, “Development of atopy and asthma: Candidate environmental influences and important periods of exposure,” *Environ. Health Perspect.*, vol. 108, no. SUPPL. 3, pp. 475–482, 2000.
- [93] E. Milián and A. Díaz, “Allergy to house dust mites and asthma.,” *P. R. Health Sci. J.*, vol. 23, pp. 47–57, 2004.
- [94] R. Bush and J. Prochnau, “*Alternaria*-induced asthma.,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 113, pp. 227–234, 2004.
- [95] S. L. Lee *et al.*, “The scientific WorldJOURNAL Foetal Exposure to Maternal Passive Smoking Is Associated with Childhood Asthma , Allergic Rhinitis , and Eczema,” vol. 2012, 2012.
- [96] S. Micheal, K. Minhas, M. Ishaque, F. Ahmed, and A. Ahmed, “IL-4 gene polymorphisms and their association with atopic asthma and allergic rhinitis in Pakistani patients,” *J Investig Allergol Clin Immunol*, vol. 23, no. 2, pp. 107–111, 2013.
- [97] Y. Li, B. Guo, L. Zhang, J. Han, B. Wu, and H. Xiong, “Association between C-589T polymorphisms of interleukin-4 gene promoter and asthma: A meta-analysis,” *Respir. Med.*, vol. 102, no. 7, pp. 984–992, 2008.
- [98] S. Hosseini-Farahabadi, J. Tavakkol-Afshari, H. Rafatpanah, M. Khaje Daluei, and R. Farid-Hosseini, “Association of the Polymorphisms of IL-4 Gene Promoter (–590C>T), IL-13 Coding Region (r130q) and IL-16 Gene Promoter (–295T>C) with Allergic,” *Clin. Immunol.*, vol. 123, no. March, pp. S76–S77, 2007.
- [99] Y. Miyake, K. Tanaka, and M. Arakawa, “Relationship between polymorphisms in IL4 and asthma in Japanese women: the Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study,” *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, vol. 23, pp. 242–247, 2013.

- [100] I. Choi, "Gender-Specific Asthma Treatment," *Allergy. Asthma Immunol. Res.*, vol. 3, pp. 74–80, 2011.
- [101] J. Kynyk, J. Mastronarde, and J. McCallister, "Asthma, the sex difference.," *Curr. Opin. Pulm. Med.*, vol. 17, pp. 6–11, 2011.
- [102] M. Vasiadi, D. Kempuraj, W. Boucher, D. Kalogeromitros, and T. Theoharides, "Progesterone inhibits mast cell secretion.," *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 19, pp. 787–794, 2006.
- [103] G. Pons, J. Blic, and A. Clement, "Springer Science & Business Media," *Les médicaments l'asthme chez l'enfant comptes rendus la Onzième Journée Cochin - Saint-Vincent Paul Pharmacol. Clin. l'Université René Descartes, Paris, 17 novembre 2000.*, 2000.
- [104] F. Child *et al.*, "The association of maternal but not paternal genetic variation in GSTP1 with asthma phenotypes in children," *Respir. Med.*, vol. 97, no. 12, pp. 1247–1256, 2003.
- [105] G. Zhang *et al.*, "Maternal genetic variants of IL4/IL13 pathway genes on IgE with 'Western or eastern environments/lifestyles,'" *Allergy, Asthma Immunol. Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 350–356, 2014.
- [106] Z. Narazi, A. Dabbaghzadeh, and N. Ghaffari, "Maternal Serum IgE, Cord Blood IgE and Children Allergy: A narrative review," *J. Pediatr. Rev.*, pp. 1–10, 2018.

ANNEXES

ANNEXE A

FORMULAIRE DE RECUEIL DE CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ

Participation à une recherche biomédicale

(Fait en 2 exemplaires : un exemplaire est remis à la personne, l'autre est conservé par l'investigateur)

(Une autre copie sera conservée par le service d'hormonologie en cas de constitution d'une collection d'échantillons biologiques)

De : M., Mme, Mlle

Nom :

Prénom :

Adresse :

.....

Dr MALKI Sara et **Mademoiselle RIGHI Halima**, m'ont proposé de participer à une étude intitulée :

L'association du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 avec l'asthme allergique chez 50 familles constantinoises.

J'ai reçu **oralement et par écrit** toutes les informations nécessaires pour comprendre l'intérêt et le déroulement de l'étude, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles.

J'ai pu poser toutes les questions nécessaires à la bonne compréhension de ces informations et j'ai reçu des réponses claires et précises.

J'ai disposé d'un délai de réflexion suffisant entre les informations reçues et ce consentement avant de prendre ma décision.

Interruption de la participation :

Sans justification et sans compromettre la qualité des soins qui me sont dispensés :

- Je suis libre de refuser de participer à cette étude,

- Je peux interrompre ma participation à tout moment, auquel cas j'en informerai le médecin qui me suit au cours de cette étude, pour qu'il me propose, le cas échéant, une prise en charge adaptée.

-En foi de quoi, **j'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche.**

-Par ailleurs, je pourrai éventuellement être sorti(e) de l'étude par le médecin s'il l'estime nécessaire.

-Ma participation pourra également être interrompue en cas d'arrêt prématuré de l'étude.

Législation :

- Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités à mon égard et je conserve tous mes droits garantis par la loi algérienne.
- le Médecin Chef du service de Physiologie et d'exploration cardio respiratoire a donné son accord pour cette étude en date du **10 décembre 2010.**

Examen médical préalable :

J'ai été informé(e) que je bénéficierai d'un examen médical préalable à l'étude. Les résultats éventuels me seront communiqués directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

Docteur :.....

Téléphone:.....

Adresse :.....

Recueil des données :

Les données ayant trait à mon état de santé, à mes habitudes de vie, à ma situation administrative. [ma santé respiratoire, actuelle et passée, standardisé selon les critères de l'American Thoracic Society (ATS) modifié pour inclure le mariages consanguins dans les trois générations précédentes, l'histoire de réactions allergiques ou des symptômes d'asthme, suite à l'exposition à des allergènes spécifiques la sévérité de l'asthme et de l'atopie ainsi que l'histoire familiale de l'asthme et des autres maladies respiratoires ce questionnaire inclus ainsi le profil de mes crises et leur gravité, le nombre de visites à l'urgence et les facteurs furent une admission à l'hôpital au cours des 12 mois, médicaments pris, le tabac, les expositions professionnelles. Avec la précision des manifestations associées : laryngite, rhinite, conjonctivite, urticaire, eczéma] demeurent strictement confidentielles et ne peuvent être consultées que par le médecin qui me suit et ses collaborateurs, par des personnes mandatées par le promoteur et astreintes au secret professionnel et par des autorités mandatées par les autorités sanitaires et judiciaires.

Informatisation des données :

Je pourrais exercer, à tout moment, un droit d'accès et de rectification de mes données personnelles, en m'adressant auprès de **Mademoiselle RIGHI Halima**.

J'ai bien été informé(e) que mes données personnelles seront rendues anonymes, avant d'être intégrées dans un rapport ou une publication scientifique.

Information :

À ma demande, je peux obtenir toute information complémentaire auprès du Pr....

Je serai informé(e) de toute nouvelle information durant l'étude, susceptible de modifier ma décision quant à ma participation à celle-ci.

Je serai informé(e) des résultats globaux de l'étude, à l'issue de celle-ci.

Obligations :

J'atteste que je suis affilié(e) à un régime de sécurité sociale.

Je certifie ne pas être sous sauvegarde de justice.

Je conserve un exemplaire de la note d'information et du présent formulaire de consentement.

<i>Partie à remplir par le patient</i>	<i>Partie à remplir par le médecin investigateur</i>
Nom et Prénom du patient	Nom et Prénom du médecin
Signature	Signature
Date et Lieu	Date et Lieu

Si la personne est inapte à lire et à écrire le français :

Le cas échéant, En l'absence d'autonomie de lecture et d'écriture de Mme, Melle, Mr....., la tierce personne ci-dessous identifiée, atteste avoir personnellement et fidèlement lu au sujet la notice d'information et le présent formulaire de consentement, et recueilli son accord pour signer ici en son nom.

Tierce personne :

Mme, Mlle, M.....

Signature.....

(FACULTATIF)

FORMULAIRE DE NON - OPPOSITION

Pour Collection d'échantillons biologiques

(Fait en 3 exemplaires : un exemplaire est remis à la personne, l'autre est conservé par l'investigateur, une copie sera conservée par Laboratoire de Biochimie CHU Constantine)

Identification du patient	
NOM :	N° du prélèvement :
Prénom :	Adresse :
Date de naissance :	Tél :

CONSENTEMENT

Je soussigné(e), sus nommé, reconnais avoir été informé(e) par **Mademoiselle RIGHI Halima** sur les examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisées, dans un but diagnostic et/ou de recherche, à partir :

Du prélèvement qui m'a été effectué

À visée diagnostique

À visée de recherche

Pour :

Pour sa mémoire de Master intitulée : **L'association du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 avec l'asthme allergique chez 50 familles constantinoises.**

Je donne mon consentement pour ce prélèvement et je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations, permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité

Fait à :, Le :.....Signature :.....

Attestation

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient (e).	Signature et cachet :
---	-----------------------

Un document de ce type doit accompagner la prescription - et les documents cliniques indispensables - pour chacune des analyses demandées. Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles se la prescription et de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés.

ANNEXE B

Questionnaire d'Évaluation des conditions respiratoires

Ce questionnaire est distribué à toute personne participant à cette étude et a pour but de mettre en relation la perception que vous avez face à votre condition respiratoire aux résultats que nous obtiendrons lors des analyses de celle-ci. Nous vous demandons donc de répondre au questionnaire, donné par la personne responsable de cette étude, suivant le meilleur de vos connaissances. En ce sens, la personne ressource pourra, dans la plupart des cas, répondre à vos questions. Si vous estimez qu'une ou plusieurs questions ne décrivent pas votre condition de façon adéquate, sentez-vous libre d'ajouter vos commentaires afin de clarifier la réponse que vous donnerez.

RENSEIGNEMENTS GÉNÉRAUX:

Date: / /

Numéro :

Nom :

Prénom :

Sexe : Âge :

Date de naissance :

Acte de mariage : Lieu

Date du mariage :

Adresse :

No. De téléphone à la maison : ()

Autre no. Où l'on peut vous joindre : ()

CARACTERSTIQUE DE VOTRE CONDITION RESPIRATOIRE PASSEE ET ACTUELLE :

1- À votre connaissance avez-vous déjà eu des problèmes ou des maladies respiratoires?

Si oui, lesquels :

À quel âge (environ) :

Sont-ils encore présents :

2-Avez-vous déjà fait de l'asthme? OUI NON

Oui : Début (âge) :

Fin (âge) :

3- Un médecin vous-a-t-il dit que vous étiez asthmatique? Oui Non

Votre asthme était :

Très léger Léger Modéré Sévère Très sévère

4- De quelle manière caractériseriez-vous votre asthme aujourd'hui?

Très léger Léger Modéré Sévère Très sévère

5- Quel traitement avez-vous déjà pris ou, prenez-vous encore pour votre asthme?

.....

6- Lesquels des facteurs suivants pouvaient (inscrire P pour passer), peuvent (inscrire A pour actuel) déclencher votre asthme?

	Oui	Non	
Animaux	Lesquels :
Poussière	
Odeurs fortes	
Air froid	
Infections	
Exercice	
Aspirine	
Autres	Lesquels :

Est-ce que votre asthme était ou est pire lors d'une saison particulière?

Si oui, laquelle :

7- Avez-vous des allergies? Oui No (Si non, passez à la question 8)

Si oui, à quoi êtes-vous allergique?

	Oui	non	
Animaux	Lesquels :
Poussier	

Air froid
 Aspirine
 Pollens des : arbres, graminées_..., herbe à poux..
 Autres Lesquels :

8-Parmi les symptômes énumérés ci-dessous, lesquels avez-vous déjà eu?

	Oui	Non
Yeux qui piquent ou qui coulent
Essoufflement
Toux
Nez qui coule
Éternuements
Sillement ou sifflements
Oppression à la poitrine
Autres :

9-Est-ce que votre allergie était ou est pire lors d'une saison particulière?

Si oui, laquelle :

10-Quels traitements avez-vous pris pour vos allergies?

	Oui	Non
Antihistaminique (Seldane, Claritin, etc.)
Lesquels :		
Vaccins désensibilisants	Quand :

11- Prenez-vous d'autres médicaments régulièrement à part ceux précédemment mentionnés? Lesquels : Pour quelle(s) raison(s) :.....

.....
 .

12- Y a-t-il des asthmatiques dans votre famille (Père, mère, frères, sœurs, enfants)?

Oui : Non :

Qui :

13- Y a-t-il des personnes allergiques dans votre famille (Père, mère, frères, sœurs, enfants)?

Oui : Non :

Qui :

14-La consanguinité dans les 3 dernières générations :

.....

15-L'apparition de la rhinite et/ou l'eczéma dans les 10 premières années de la vie :

.....

DESCRIPTION DES SYMPTÔMES ACTUELS

TOUX

Toussez-vous habituellement :	oui	non
Le matin en hiver?
En été?
Pendant d'autres périodes de la journée en hiver?
En été?
La plupart des jours et/ou des nuits
Au moins trois mois par année?
Depuis combien de temps avez-vous cette toux?	ans mois

EXPECTORATIONS

Ramenez-vous habituellement des sécrétions (crachats) qui viennent de la poitrine:

	Oui	Non
En vous levant le matin?
D'autres périodes de la journée ou de la nuit?
Au moins trois mois par année?
Depuis combien de temps produisez-vous ces sécrétions?	Ans Mois.

ESSOUFFLEMENT

Devez-vous diminuer vos activités, par rapport à des gens de votre âge, à cause d'un manque de souffle? Oui Non

Si oui, depuis combien de temps? Ans Mois.

SILLEMENT

Vous arrive-t-il parfois d'entendre des sifflements ou des sillement dans la poitrine en respirant? Oui Non

Si oui, depuis combien de temps? Ans Mois.

INFECTIONS

Quand vous avez un rhume ou une grippe ou une infection respiratoire, est-ce qu'habituellement ?

	Oui	Non
--	-----	-----

Vous tousez plus que la plupart des gens?

Vous avez des sifflements (ou sillement)?

Vous ressentez une oppression dans la poitrine?

Vous commencez à être essoufflé?

Combien de "grippes" ou rhumes faites-vous par année?

Ont-elles surtout lieu : l'hiver L'été N'importe quand

À quand remonte votre dernier rhumeAns Mois

À quand remonte votre dernière grippe Ans Mois

ENVIRONNEMENT

QUAND VOUS ÊTES DANS UNE PIÈCE OU UN ENDROIT

Où il y a beaucoup de fumée (la fumée de cigarette par exemple), est-ce que vous :

	Oui	Non
--	-----	-----

Toussez?

Avez des sifflements (sillement)?

Ressentez une oppression dans la poitrine?

Êtes essoufflé?

Où il y a de la poussière, des animaux ou près des plumes, ou encore quand vous êtes près des arbres, sur la pelouse, ou, lorsqu'il y a beaucoup de pollen dans l'air, est-ce que vous :

Oui	Non
-----	-----

Toussez?
Avez des sifflements (sillement)?
Ressentez une oppression dans la poitrine?
Êtes essoufflé?
Avez le nez qui coule ou des éternuements?
Avez les yeux qui piquent ou qui coulent?
Avez des irritations ou devenez plaqué?

EXERCICE ET AIR FROID

Quand vous faites de l'exercice, un travail difficile ou que vous respirez de l'air froid et sec l'hiver, est-ce que vous :

	Oui	Non
Toussez?
Avez des sifflements (sillement)?
Ressentez une oppression dans la poitrine?
Êtes essoufflé?

EXPOSITION À LA MAISON

Avez-vous des animaux domestiques Oui Non
Si oui, lesquels?		
Depuis combien de temps?	Ans	Mois.
Avez-vous du tapis à la maison? Oui Non
Dans votre chambre à coucher? Oui Non
Avez-vous des draps santé? Oui Non

TABAGISME

Avez-vous déjà fumé? Oui Non

Si oui, combien de cigarette par jour combien de temps

 Cigare par jour combien de temps

 Marijuana par jour combien de temps

Si vous avez arrêté, depuis combien de temps ?

Êtes-vous exposé(e) à la fumée de tabac d'autres personnes autour de vous?

À la maison oui non

Au travail oui non

Ailleurs (fréquent) oui non

précisez où?..... .

Université Frères MENTOURI - Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

MÉMOIRE en vue de l'obtention

Du diplôme de Master académique Option Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

**THÈME : L'association du polymorphisme -590 C/T du gène de l'IL-4 avec l'asthme allergique chez
50 familles Constantinoises.**

Présenté par : Halima RIGHI

RÉSUMÉ

Introduction : l'asthme est une maladie multifactorielle hétérogène résultant des effets et des interactions de nombreux facteurs génétiques et environnementaux. Les objectifs de cette étude sont multiples incluant : la recherche de l'origine de l'allèle muté T du polymorphisme -590C/T au niveau du promoteur du gène codant pour IL-4, l'étude de la composante génétique de l'asthme et l'effet d'un environnement commun à des sujets partageant le même habitat. **Méthodes :** Notre étude incluait 50 familles sélectionnées de la ville de Constantine. Au total, 150 sujets constituent notre cohorte dont le père, la mère et de l'enfant souffrant d'asthme allergique depuis plus de 2 ans, pour chaque famille et 50 personnes saines. Le statut atopique de l'asthme a été confirmé par les tests cutanés, le dosage turbidimétrique des IgE et l'évaluation de la concentration d'IL-4 par la technique ELISA. Le polymorphisme -590C/T a été déterminé par PCR/RFLP en utilisant les enzymes BamF1. **Résultats :** Nos données montrent que 90% des enfants asthmatiques sélectionnés ont des antécédents familiaux de l'asthme ($p < 0.0001$) que 92% des enfants asthmatiques sélectionnés ont des antécédents familiaux de l'allergie ($p < 0.0001$). De plus, 50 % des enfants asthmatiques habitent dans des logements insalubres. Les résultats de la comparaison des taux des IgE totales des enfants avec ceux de leurs parents asthmatiques ont montré que le taux des IgE des enfants est significativement associé aux taux des IgE de leurs mères asthmatiques ($P = 0.4254$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0006$). De même pour l'IL-4, nous avons trouvé que le taux sérique de l'IL-4 des enfants est significativement associé aux taux d'IL-4 de leurs mères asthmatiques ($P = 0.7996$) et non pas à leurs pères ($P = 0.0003$). L'analyse génétique révèle que l'allèle T du polymorphisme -590C/T est d'origine maternelle ($p = 0.001$) et il est plus transmis au sexe féminin que masculin ($P = 0.009$) et que les taux les plus élevés d'IgE totale et d'IL-4 sérique est associé aux génotypes maternel CT et TT ($P = 0.009$ pour les IgE et $P = 0.003$ pour l'IL-4). **Conclusion :** Le caractère familial de la maladie asthmatique peut s'expliquer à la fois par la composante génétique et l'effet d'un environnement commun.

Mots clés : Asthme, Allergie, Atopie, IgE, IL-4, SNP, -590 C/T.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de recherche en maladies métaboliques/ Université Constantine 3
Laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire/ Université de Constantine3 Centre de
recherche, Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie de Québec/ Université Laval Groupe de
Recherche en Ecologie Buccale, Faculté de Médecine Dentaire/ Université Laval Laboratoire de biologie
cellulaire et moléculaire/ Université Constantine1

EHS El Khroub

Année Universitaire 2018/2019

